



Universitat de Girona

**INFLUENCIA DE LA SUPLEMENTACIÓN DE
ANTIOXIDANTES Y DE LA ADMINISTRACIÓN DE
ENROFLOXACINA EN LA CALIDAD Y SEGURIDAD
DE LA CARNE DE AVE**

Irene CARRERAS FERRER

ISBN: 84-689-3090-3

Dipòsit legal: GI-766-2005

**INFLUENCIA DE LA SUPLEMENTACIÓN
DE ANTIOXIDANTES Y DE LA
ADMINISTRACIÓN DE ENROFLOXACINA
EN LA CALIDAD Y SEGURIDAD
DE LA CARNE DE AVE**

**Irene Carreras Ferrer
2004**



"Pollo para desayunar, pollo para comer,
pollo para cenar ... ¿Qué esperaba?"

Un destino trágico

Uno de los destinos más aterradores que nos pueden tocar en este mundo es el de nacer pollo. Naces pollo y lo más probable es que termines nadando en salsa y después devorado, porque los pollos tienen poca salida laboral a parte de esta. Por más que cloqueen para fingir que son pájaros cantadores, la realidad es que los pollos son carne de fogón y resultan comestibles de formas muy diferentes y en todas las culturas, hecho que aumenta su vulnerabilidad. Tal como están las cosas, en fin, es extraño que un pollo muera de viejo...

Este último año supimos que los pollos tenían gripe. La gripe del pollo (...). Como consecuencia de esto se han sacrificado 25 millones de pollos, tarea en la que ha tenido que participar el ejército Tailandés, porque la verdad es que nunca se sabe de donde puede surgir el enemigo: te entrenan para una posible guerra mundial y quizá acabas exterminando pollos.

Siete muertos y 25 millones de pollos asesinados de un revuelo. La ley del tali3n a la tailandesa, como aquel que dice: un poco m3s de tres millones y medio de pollos por cada tailand3s muerto. Es una proporci3n razonable, supongo, por m3s que algunos pollos la puedan considerar injusta, ya que conocemos de sobra la rebeld3a innata de los pollos respecto a cualquier decisi3n humana que afecte al colectivo de pollos, aunque s3lo se trate de rebozarlos y fre3rlos (no es para ser gafe, pero el d3a en que los pollos se hartan de nosotros, que a menudo nos hartamos de ellos, nos partiremos de risa, aunque sea una risa helada: el ataque de los pollos asesinos, cansados de ser v3ctimas pasivas de nuestra condici3n omn3vora).

Lo que ha pasado en Tailandia suma dramatismo al dramatismo intr3nico de ser pollo en un planeta donde la gente come pollo. Cualquiera de nosotros coge la gripe y se queda en la cama, pero un pollo engripado desencadena un holocausto (...).

Yo no s3 ustedes, pero con sus pros y sus contras, me alegro mucho de no haber nacido pollo. Ni tan s3lo Hamlet hubiera cambiado su destino sombr3o por el de un pollo (...). Ni tan s3lo los mismos pollos quieren ser pollos, porque saben lo que eso significa, el destino horrible que se esconde tras el plumaje: morir en manos de un matadero o en manos del ej3rcito tailand3s, porque estas aves desdichadas lo tienen todo en contra.

Cada vez que como pollo, me siento un miserable, porque s3 que estoy contribuyendo a perpetuar el atroz destino hist3rico de los pollos. Cada vez que veo un pollo en vida, me vienen ganas de tararearle el R3quiem de Mozart. Cada vez que veo el cad3ver de un pollo colgando en una carnicer3a, pienso en lo que fue la vida privada de aquel pollo y me saltan las l3grimas. L3grimas de alegr3a por no haber nacido pollo.

Felipe Ben3tez Reyes
15/02/04

Agraïments

A través d' aquestes línies voldria expressar el meu agraïment a totes aquelles persones que al llarg d'aquests quatre anys m'han donat suport (i també, tot s'ha de dir, m'han suportat...), permetent-me dur a terme aquest treball.

En primer lloc, la realització de la tesi ha estat possible gràcies a una beca per a la formació de personal investigador CeRTA-CIRIT concedida per la Generalitat de Catalunya. A la vegada voldria agrair al Dr. Josep Ma Monfort, director del Centre de Tecnologia de la Carn de l'IRTA, el fet d'obrir-me les portes del centre on he estat realitzant el treball.

Un paper fonamental ha estat el dels directors de tesi, el Dr. José Antonio García Regueiro i la Dra. Carmen Sárraga. Els vull agrair la confiança dipositada en mi des del principi, el suport que m'han ofert en tot moment i sobretot la paciència!

Tampoc puc oblidar-me de tots aquells sense l'ajuda dels quals tot això hagués estat una *missió impossible*!

En Lluís Llauredó, del centre Mas Bové de l'IRTA, per la organització de la cria dels animals i les anades a l'escorxador. També el Dr. Enric Esteve García, per l'interès en l'evolució del treball i en els dubtes que m'anaven sorgint.

Ja del centre, en Narcís, sempre disposat a donar-me un cop de mà (això sí, a canvi d'unes gambes que tenim pendents...). A la resta de la Unitat 042, per l'ajuda i els consells: la Dra. Isabel Díaz, la Dra. Maria Hortós, l' Eugeni, l'Angel, la Dra. Ma Àngels Rius i, d'una manera especial, el Dr. Massimo Castellari, pel treball plegats. També la Carmen de la cuina, per facilitar-me la feina amb el material i les estones compartides. No puc oblidar-me tampoc de la Irene Cordón, per les bones estones que vam passar, sobretot als inicis quan formàvem aquell fantàstic "equipo I".

També haig de donar les gràcies a en Lluís Guerrero i a la Dra. Dolors Guàrdia, per la immersió en el món de l'anàlisi sensorial (del que encara no he escapat del tot...) i als membres del panel, pel fart de pollastre i gall d'indi ranci i suculent que ens vam arribar a cruspir...mmmhhh, exquisit!!!

A les *secres*, la Carmen i l' Elena, per les petites estones que han perdut amb mi, sempre entre bromes i rialles i a la Montse per ajudar-me amb la paperassa.

Als de la poli (forever...), per les hores i hores compartides, les teràpies de grup, les anades a voleï, sopars i les demés estones que hem compartit! Entre ells, els col·legues becaris: la Belén, la Mònica, la Begonya, els dos Jorges i la Marta i els no becaris: la Maria Font, en Josep Composada, en Xavi Serra, la Sònia, en Pere Gou, en Kim, la Ma José Bautista, la Núria, l'Anna Jofré, en David, l' Anna Claret i la Mireia. A aquests s'han d'afegir tota la resta de companys, a qui no citaré perquè la llista seria inacabable, amb els qui he compartit i espero seguir compartint estones genials!

Ja fora de la feina, els amics de BCN, perquè sempre hi han estat, animant-me i confiant en que seria la primera... així que no els he defraudat!

Tampoc puc oblidar-me de la meva família, per l'interès, la paciència i el recolzament que m'han donat en tot moment!

Finalment, a en Lluís, per totes les estones compartides, per l'ajuda en els moments difícils, per tot plegat...!

A tots vosaltres, moltes gràcies.

*Als meus pares,
a la Judit
i als meus avis.*

A en Lluís.

Dr. JOSÉ ANTONIO GARCÍA REGUEIRO, jefe de la Unidad de Química Alimentaria del Centro de Tecnología de la Carne del Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA):

CERTIFICA: Que el presente trabajo titulado "*Influencia de la suplementación de antioxidantes y de la administración de enrofloxacin en la calidad y seguridad de la carne de ave*", ha sido realizado por la licenciada en bioquímica IRENE CARRERAS FERRER, en la Unidad de Química Alimentaria.

Y para que así conste, firma la presente

Dr. José Antonio García Regueiro

Monells, Diciembre de 2004.

**INFLUENCIA DE LA SUPLEMENTACIÓN
DE ANTIOXIDANTES Y DE LA
ADMINISTRACIÓN DE ENROFLOXACINA
EN LA CALIDAD Y SEGURIDAD
DE LA CARNE DE AVE**

**Irene Carreras Ferrer
2004**

**Directora de tesis:
Dra. Carmen Sárraga Escolano**

**Director y tutor de tesis:
Dr. José Antonio García Regueiro**

INFLUENCIA DE LA SUPLEMENTACIÓN DE ANTIOXIDANTES Y DE LA ADMINISTRACIÓN DE ENROFLOXACINA EN LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LA CARNE DE AVE

Irene Carreras Ferrer
2004

Los fenómenos oxidativos y en particular la oxidación lipídica son uno de los principales responsables de la pérdida de calidad en la carne y en los productos cárnicos. Como consecuencia de estos procesos se generan compuestos que pueden afectar el *flavor*, color y textura de la carne disminuyendo la aceptabilidad por parte del consumidor y reduciendo su valor nutritivo. Por otro lado, el estrés oxidativo está relacionado con la etiología de diversas enfermedades comunes en nuestra sociedad. Las carnes de pollo y de pavo son particularmente sensibles a los procesos oxidativos debido a su elevada proporción de ácidos grasos poliinsaturados en comparación con otros tipos de carne. La suplementación de antioxidantes en la dieta de determinados animales es una de las estrategias más eficaces para proteger la carne de la oxidación. Otro aspecto que afecta a la calidad y seguridad de la carne es la presencia de residuos en los tejidos animales destinados al consumo humano, una parte de los cuáles puede proceder de la administración de antibióticos.

En este trabajo se estudió la eficacia de tres compuestos antioxidantes, α -tocoferol, β -caroteno y licopeno, adicionados en distintas concentraciones y combinaciones a la dieta de pollos y pavos. Para ello se determinó la estabilidad oxidativa de los tejidos musculares de pechuga y muslo mediante el análisis de los valores de TBARS, de las actividades de los enzimas antioxidantes GSHPx, CAT y SOD y desde un punto de vista sensorial. Asimismo, se analizaron las concentraciones de vitamina E presentes en ambos músculos. Por otro lado, se investigó la presencia de residuos del antibiótico enrofloxacin y de su metabolito en los tejidos muscular y hepático de ambas especies después de la administración del fármaco con o sin periodo de retirada. Finalmente, y dada la aparente relación existente entre el metabolismo de determinados antibióticos y los fenómenos oxidativos, se valoró la posible interacción entre el fármaco y la vitamina E suplementada a la dieta.

La vitamina E, a dosis de 100 ppm y 200 ppm en pollos y pavos respectivamente, se comportó como un antioxidante eficaz disminuyendo la rancidez de la carne tanto en pechuga como en muslo. La dosis de vitamina E necesaria para conseguir un incremento significativo de la estabilidad oxidativa de la carne varió en función de la especie y de las características bioquímicas del tejido analizado. El β -caroteno,

suplementado en la dieta de pollos y pavos conjuntamente con la vitamina E, no sólo no manifestó propiedades antioxidantes sino que enmascaró la efectividad de la vitamina E. El licopeno, de cuya utilización en nutrición animal no existían estudios publicados anteriormente, no mostró eficacia antioxidante en la carne de pollo a una dosis de 10 ppm.

Respecto al análisis de residuos de antibiótico se observó que tras el periodo de retirada del fármaco los niveles residuales de enrofloxacin y su metabolito disminuyeron notablemente. Debe tenerse en cuenta que se apreciaron diferencias en función de la especie y del tejido considerados, estando los residuos en algunos casos por encima de los límites máximos permitidos. Por otro lado, se observó una relación entre la enrofloxacin y la vitamina E suplementada en la dieta que, parecía depender tanto de la dosis de antioxidante como del metabolismo del fármaco. Esta interacción afectó tanto a los niveles de vitamina E como a la presencia de residuos de enrofloxacin en el tejido muscular, resaltando la importancia de no subestimar posibles interacciones entre distintos compuestos presentes en la dieta animal.

1. INTRODUCCIÓN	
1.1 CONSIDERACIONES GENERALES	3
1.2 PROCESOS OXIDATIVOS EN CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS	8
1.2.1 Estrés oxidativo. Origen y consecuencias	8
1.2.2 Oxidación proteica	10
1.2.3 Oxidación lipídica	13
1.2.3.1 Mecanismo	14
1.2.3.1.1 Formación de especies reactivas derivadas del oxígeno	14
1.2.3.1.2 Etapas de la peroxidación lipídica	15
1.2.3.2 Factores que afectan la oxidación lipídica	22
1.2.3.3 Estrategias de control de la oxidación lipídica	25
1.2.3.3.1 Alteración de los sustratos de oxidación	26
1.2.3.3.2 Control de prooxidantes	27
1.2.3.3.3 Control de antioxidantes	28
1.2.3.3.3.1 Protección de antioxidantes	28
1.2.3.3.3.2 Adición de antioxidantes	32
1.3 UTILIZACIÓN DE ANTIOXIDANTES PARA EL CONTROL DE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE	34
1.3.1 Antioxidantes sintéticos	35
1.3.2 Antioxidantes naturales	38
1.3.2.1 Ácido ascórbico	43
1.3.2.2 Vitamina E	44
1.3.2.2.1 Estructura y propiedades químicas	44
1.3.2.2.2 Absorción, transporte y almacenaje	46
1.3.2.2.3 Propiedades antioxidantes	48
1.3.2.3 Carotenoides	51
1.3.2.3.1 Estructura y propiedades químicas	51
1.3.2.3.2 β -caroteno	52
1.3.2.3.3 Licopeno	54
1.4 INFLUENCIA DE LA OXIDACIÓN LIPÍDICA Y LA UTILIZACIÓN DE ANTIOXIDANTES EN LA CALIDAD DE LA CARNE	56
1.4.1 Influencia sobre el <i>flavor</i>	57
1.4.2 Influencia sobre la textura	60
1.4.3 Influencia sobre el color	61
1.4.4 Evaluación sensorial de carne y productos cárnicos	62
1.5 ADMINISTRACIÓN DE ANTIBIÓTICOS EN PRODUCCIÓN ANIMAL	65
1.5.1 Problemática	66
1.5.2 Administración de fluoroquinolonas	69
1.5.3 Enrofloxacin	70
1.5.3.1 Funciones y aplicaciones	70
1.5.3.2 Estructura química	71

1.5.3.3 Administración	72
1.5.3.4 Metabolismo e interacciones	73
1.5.3.5 Determinación	74
2. OBJETIVOS	79
3. MATERIAL Y MÉTODOS	
3.1 OBTENCIÓN DE MUESTRAS	83
3.1.1 Animales	83
3.1.2 Dietas	84
3.1.3 Tratamientos experimentales	86
3.1.4 Sacrificio	88
3.2 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEL SISTEMA DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES	91
3.2.1 Reactivos	91
3.2.2 Obtención del extracto enzimático	91
3.2.3 Determinación de la actividad glutatión peroxidasa (GSHPx)	91
3.2.4 Determinación de la actividad catalasa (CAT)	93
3.2.5 Determinación de la actividad superóxido dismutasa (SOD)	93
3.2.6 Determinación del contenido de proteína	94
3.3 DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE VITAMINA E EN MÚSCULO	95
3.3.1 Reactivos	95
3.3.2 Extracción	95
3.3.3 Preparación de patrones	95
3.3.4 Condiciones cromatográficas	95
3.4 DETERMINACIÓN DEL GRADO DE OXIDACIÓN LIPÍDICA MEDIANTE EL TEST DEL ÁCIDO TIOBARBITÚRICO INDUCIDO (TBA)	96
3.4.1 Reactivos	96
3.4.2 Fundamento	96
3.4.3 Procedimiento	97
3.5 ANÁLISIS SENSORIAL	98
3.5.1 Panel de catadores	98
3.5.2 Programa de entrenamiento	98
3.5.3 Selección de descriptores	99
3.5.4 Diseño experimental y preparación de las muestras de pollo	99
3.5.5 Diseño experimental y preparación de las muestras de pavo	103
3.5.6 Evaluación sensorial de las muestras	106

3.6 DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE ANTIBIÓTICO EN MÚSCULO E HÍGADO	110
3.6.1 Reactivos	110
3.6.2 Extracción	110
3.6.3 Purificación del extracto (clean-up)	110
3.6.4 Preparación de patrones	111
3.6.5 Condiciones cromatográficas	111
3.6.6 Validación del método	111
3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	112
<i>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DEL ESTUDIO REALIZADO EN POLLOS</i>	
4.1 ACTIVIDAD DEL SISTEMA DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES	117
4.1.1 Actividad glutatión peroxidasa (GSHPx)	117
4.1.2 Actividad catalasa (CAT)	125
4.1.3 Actividad superóxido dismutasa (SOD)	129
4.2 NIVELES DE VITAMINA E EN MÚSCULO	134
4.3 GRADO DE OXIDACIÓN LIPÍDICA	145
4.4 ANÁLISIS SENSORIAL	161
4.4.1 Pechuga de pollo cruda	161
4.4.2 Pechuga de pollo cocida	164
4.4.3 Muslo de pollo crudo	170
4.4.4 Muslo de pollo cocido	174
4.5 NIVELES DE ANTIBIÓTICO EN MÚSCULO E HÍGADO	179
<i>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DEL ESTUDIO REALIZADO EN PAVOS</i>	
5.1 ACTIVIDAD DEL SISTEMA DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES	193
5.1.1 Actividad glutatión peroxidasa (GSHPx)	193
5.1.2 Actividad catalasa (CAT)	196
5.1.3 Actividad superóxido dismutasa (SOD)	199
5.2 NIVELES DE VITAMINA E EN MÚSCULO	202
5.3 GRADO DE OXIDACIÓN LIPÍDICA	208

5.4 ANÁLISIS SENSORIAL	217
5.4.1 Pechuga de pavo cruda	217
5.4.2 Pechuga de pavo cocida	219
5.4.3 Muslo de pavo crudo	222
5.4.4 Muslo de pavo cocido	224
5.5 NIVELES DE ANTIBIÓTICO EN MÚSCULO E HÍGADO	228
6. CONCLUSIONES	239
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	245
8. ANEXOS	271
9. PUBLICACIONES	303

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DEL ESTUDIO REALIZADO EN POLLOS

<i>Gráfica 4.1</i>	TBARS del tratamiento T1	148
<i>Gráfica 4.2</i>	TBARS del tratamiento T2	148
<i>Gráfica 4.3</i>	TBARS del tratamiento T3	149
<i>Gráfica 4.4</i>	TBARS del tratamiento T4	149
<i>Gráfica 4.5</i>	TBARS del tratamiento T5	149
<i>Gráfica 4.6</i>	TBARS del tratamiento T6	149
<i>Gráfica 4.7</i>	TBARS del tratamiento T7	149
<i>Gráfica 4.8</i>	TBARS del tratamiento T8	149
<i>Gráfica 4.9</i>	Valores de <i>WOF</i> y rancidez de las muestras de pechuga de pollo cocidas	167
<i>Gráfica 4.10</i>	Representación gráfica de los atributos de <i>flavor</i> y de textura valorados en pechuga de pollo cocida	169
<i>Gráfica 4.11</i>	Valores de <i>WOF</i> y rancidez de las muestras de muslo de pollo cocidas	176
<i>Gráfica 4.12</i>	Representación gráfica de los atributos de <i>flavor</i> y de textura valorados en muslo de pollo cocido	177
<i>Gráfica 4.13</i>	Porcentaje de ciprofloxacina respecto al antibiótico total detectado en pechuga de pollo	182
<i>Gráfica 4.14</i>	Porcentaje de ciprofloxacina respecto al antibiótico total detectado en muslo de pollo	182
<i>Gráfica 4.15</i>	Porcentaje de ciprofloxacina respecto al antibiótico total detectado en hígado de pollo	183

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DEL ESTUDIO REALIZADO EN PAVOS

<i>Gráfica 5.1</i>	TBARS del tratamiento P1	209
<i>Gráfica 5.2</i>	TBARS del tratamiento P2	209
<i>Gráfica 5.3</i>	TBARS del tratamiento P3	210
<i>Gráfica 5.4</i>	TBARS del tratamiento P4	210
<i>Gráfica 5.5</i>	TBARS del tratamiento P5	210
<i>Gráfica 5.6</i>	TBARS del tratamiento P6	210
<i>Gráfica 5.7</i>	TBARS del tratamiento P7	210

Gráfica 5.8	Valores de <i>WOF</i> y rancidez de las muestras de pechuga de pavo cocidas	221
Gráfica 5.9	Representación gráfica de los atributos de <i>flavor</i> y de textura valorados en pechuga de pavo cocida	222
Gráfica 5.10	Valores de <i>WOF</i> y rancidez de las muestras de muslo de pavo cocidas	225
Gráfica 5.11	Representación gráfica de los atributos de <i>flavor</i> y de textura valorados en muslo de pavo cocido	226
Gráfica 5.12	Porcentaje de ciprofloxacina respecto al antibiótico total detectado en pechuga de pavo	231
Gráfica 5.13	Porcentaje de ciprofloxacina respecto al antibiótico total detectado en hígado de pavo	232

1. INTRODUCCIÓN

<i>Figura 1.1</i>	Alteración oxidativa de lípidos y proteínas en las membranas celulares	11
<i>Figura 1.2</i>	Pigmentos hemo del músculo	12
<i>Figura 1.3</i>	Reacción de Fenton	17
<i>Figura 1.4</i>	Reacción de Haber-Weiss	18
<i>Figura 1.5</i>	Reacción entre metales y peróxidos orgánicos	18
<i>Figura 1.6</i>	Iniciación de la peroxidación lipídica	19
<i>Figura 1.7</i>	Propagación de la peroxidación lipídica	19
<i>Figura 1.8</i>	Amplificación de la peroxidación lipídica	20
<i>Figura 1.9</i>	Reciclaje iones metálicos	20
<i>Figura 1.10</i>	Terminación de la peroxidación lipídica	21
<i>Figura 1.11</i>	Estrategias de control de la oxidación lipídica	26
<i>Figura 1.12</i>	Cooperación entre los enzimas antioxidantes GSHPx, CAT y SOD	29
<i>Figura 1.13</i>	Eliminación de radicales libres por parte de antioxidantes primarios	32
<i>Figura 1.14</i>	Estructura química del propil galato	36
<i>Figura 1.15</i>	Estructura química del BHA	36
<i>Figura 1.16</i>	Estructura química del BHT	37
<i>Figura 1.17</i>	Estructura química de la TBHQ	37
<i>Figura 1.18</i>	Estructura tocoles	45
<i>Figura 1.19</i>	Estructura tocotrienoles	45
<i>Figura 1.20</i>	Esquema del transporte y distribución de la vitamina E en el organismo	47
<i>Figura 1.21</i>	Mecanismo antioxidante de la vitamina E	48
<i>Figura 1.22</i>	Reciclaje de la vitamina E por parte del ácido ascórbico	49
<i>Figura 1.23</i>	Estructura del β -caroteno	52
<i>Figura 1.24</i>	Mecanismo de acción del β -caroteno	53
<i>Figura 1.25</i>	Estructura del licopeno	54
<i>Figura 1.26</i>	Principales atributos de calidad para un producto alimentario	57
<i>Figura 1.27</i>	Estructura de la enrofloxacin y la ciprofloxacina	71

3. MATERIAL Y MÉTODOS

<i>Figura 3.1</i>	Cría de los animales	84
<i>Figura 3.2</i>	Esquema de trabajo muestras de pollo	89
<i>Figura 3.3</i>	Esquema de trabajo muestras de pavo	90
<i>Figura 3.4</i>	Base del método de determinación de la actividad GSHPx	92
<i>Figura 3.5</i>	Reacción catalizada por la catalasa	93
<i>Figura 3.6</i>	Reacción catalizada por la superóxido dismutasa	94
<i>Figura 3.7</i>	Reacción entre el malondialdehído y el ácido tiobarbitúrico	96
<i>Figura 3.8</i>	Zonas en que se dividieron las muestras de pechuga	100
<i>Figura 3.9</i>	Imágenes de la preparación de las muestras de pollo cocidas	100
<i>Figura 3.10</i>	Cabina de cata normalizada	107

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DEL ESTUDIO REALIZADO EN POLLOS

<i>Figura 4.1</i>	Cromatogramas de la vitamina E en muestras de pechuga del tratamiento control (a) y del tratamiento T4 (b).	139
<i>Figura 4.2</i>	Cromatograma de la enrofloxacina en muestras de pechuga de un tratamiento con (a) o sin (b) período de retirada.	185

1. INTRODUCCIÓN

<i>Tabla 1.1</i>	Composición aproximada de la carne fresca de pollo y pavo	7
<i>Tabla 1.2</i>	Especies reactivas derivadas del oxígeno (ROS)	14
<i>Tabla 1.3</i>	Ventajas e inconvenientes de los antioxidantes naturales y sintéticos	39
<i>Tabla 1.4</i>	Posiciones de los grupos metilo en el anillo aromático de tocoferoles y tocotrienoles	45
<i>Tabla 1.5</i>	Consideraciones legales relacionadas con el uso de antibióticos en alimentación animal	68

3. MATERIAL Y MÉTODOS

<i>Tabla 3.1</i>	Programa de iluminación recomendado para aves	83
<i>Tabla 3.2</i>	Temperaturas recomendadas para aves	83
<i>Tabla 3.3</i>	Composición de la dieta basal suministrada a los pollos	84
<i>Tabla 3.4</i>	Fases de cría de los pavos	85
<i>Tabla 3.5</i>	Composición de la dieta basal suministrada a los pavos	85
<i>Tabla 3.6</i>	Descripción de los tratamientos experimentales en pollo	86
<i>Tabla 3.7</i>	Descripción de los tratamientos experimentales en pavo	87
<i>Tabla 3.8</i>	Órdenes de presentación de los tratamientos experimentales en pollo	101
<i>Tabla 3.9</i>	Esquema general del diseño experimental de las pechugas cocidas de pollo	102
<i>Tabla 3.10</i>	Esquema general del diseño experimental del muslo crudo y cocido de pollo	102
<i>Tabla 3.11</i>	Órdenes de degustación de los tratamientos en pavo	104
<i>Tabla 3.12</i>	Esquema general del diseño experimental de las pechugas cocidas de pavo	105
<i>Tabla 3.13</i>	Esquema general del diseño experimental del muslo crudo y cocido de pavo	105
<i>Tabla 3.14</i>	Atributos sensoriales valorados en pechuga fresca de pollo y pavo	107
<i>Tabla 3.15</i>	Atributos sensoriales valorados en muslo fresco de pollo y pavo	108
<i>Tabla 3.16</i>	Atributos sensoriales valorados en pechuga y muslo cocidos de pollo y pavo	109

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DEL ESTUDIO REALIZADO EN POLLOS

Tabla 4.1	Significación de los factores incluidos en el modelo para la actividad GSHPx en pechuga, muslo e hígado de pollo	117
Tabla 4.2	Valores de actividad GSHPx en pechuga, muslo e hígado de pollo	118
Tabla 4.3	Significación de los factores incluidos en el modelo para la actividad CAT en pechuga, muslo e hígado de pollo	125
Tabla 4.4	Valores de actividad CAT en pechuga, muslo e hígado de pollo	126
Tabla 4.5	Significación de los factores incluidos en el modelo para la actividad SOD en pechuga, muslo e hígado de pollo	129
Tabla 4.6	Valores de actividad SOD en pechuga, muslo e hígado de pollo	130
Tabla 4.7	Significación de los factores incluidos en el modelo para la vitamina E en pechuga y muslo de pollo	134
Tabla 4.8	Niveles de vitamina E en pechuga y muslo de pollo	135
Tabla 4.9	Significación de los factores incluidos en el modelo para los TBARS en pechuga y muslo de pollo a 0 min. de incubación	147
Tabla 4.10	Significación de los factores incluidos en el modelo para los TBARS en pechuga y muslo de pollo a 50 min. de incubación	147
Tabla 4.11	Significación de los factores incluidos en el modelo para los TBARS en pechuga y muslo de pollo a 100 min. de incubación	147
Tabla 4.12	Significación de los factores incluidos en el modelo para los TBARS en pechuga y muslo de pollo a 150 min. de incubación	148
Tabla 4.13	Valores de TBARS en pechuga y muslo de pollo a 0 minutos de incubación	152
Tabla 4.14	Valores de TBARS en pechuga y muslo de pollo a 50 minutos de incubación	152
Tabla 4.15	Valores de TBARS en pechuga y muslo de pollo a 100 minutos de incubación	153
Tabla 4.16	Valores de TBARS en pechuga y muslo de pollo a 150 minutos de incubación	153
Tabla 4.17	Atributos visuales y atributos de olor sobre muestras de pechuga de pollo crudas	161
Tabla 4.18	Atributos de <i>flavor</i> y de textura sobre muestras de pechuga de pollo cocidas	164

<i>Tabla 4.19</i>	Atributos visuales y atributos de olor sobre muestras de muslo de pollo crudo	171
<i>Tabla 4.20</i>	Atributos de <i>flavor</i> y de textura sobre muestras de muslo de pollo cocidas	174
<i>Tabla 4.21</i>	Significación de los factores incluidos en el modelo para la enrofloxacin en pechuga, muslo e hígado de pollo	179
<i>Tabla 4.22</i>	Significación de los factores incluidos en el modelo para la ciprofloxacina en pechuga, muslo e hígado de pollo	179
<i>Tabla 4.23</i>	Niveles de enrofloxacin en pechuga, muslo e hígado de pollo	180
<i>Tabla 4.24</i>	Niveles de ciprofloxacina en pechuga, muslo e hígado de pollo	181

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DEL ESTUDIO REALIZADO EN PAVOS

<i>Tabla 5.1</i>	Significación de los factores incluidos en el modelo para la actividad GSHPx en pechuga, muslo e hígado de pavo	193
<i>Tabla 5.2</i>	Valores de actividad GSHPx en pechuga, muslo e hígado de pavo	194
<i>Tabla 5.3</i>	Significación de los factores incluidos en el modelo para la actividad CAT en pechuga, muslo e hígado de pavo	196
<i>Tabla 5.4</i>	Valores de actividad CAT en pechuga, muslo e hígado de pavo	197
<i>Tabla 5.5</i>	Significación de los factores incluidos en el modelo para la actividad SOD en pechuga, muslo e hígado de pavo	200
<i>Tabla 5.6</i>	Valores de actividad SOD en pechuga, muslo e hígado de pavo	200
<i>Tabla 5.7</i>	Significación de los factores incluidos en el modelo para la vitamina E en pechuga y muslo de pavo	202
<i>Tabla 5.8</i>	Niveles de vitamina E en pechuga y muslo de pavo	203
<i>Tabla 5.9</i>	Significación de los factores incluidos en el modelo para los TBARS en pechuga y muslo de pavo a 0 min. de incubación	208
<i>Tabla 5.10</i>	Significación de los factores incluidos en el modelo para los TBARS en pechuga y muslo de pavo a 50 min. de incubación	208
<i>Tabla 5.11</i>	Significación de los factores incluidos en el modelo para los TBARS en pechuga y muslo de pavo a 100 min. de incubación	208

<i>Tabla 5.12</i> Significación de los factores incluidos en el modelo para los TBARS en pechuga y muslo de pavo a 150 min. de incubación	209
<i>Tabla 5.13</i> Valores de TBARS en pechuga y muslo de pavo a 0 minutos de incubación	211
<i>Tabla 5.14</i> Valores de TBARS en pechuga y muslo de pavo a 50 minutos de incubación	212
<i>Tabla 5.15</i> Valores de TBARS en pechuga y muslo de pavo a 100 minutos de incubación	213
<i>Tabla 5.16</i> Valores de TBARS en pechuga y muslo de pavo a 150 minutos de incubación	213
<i>Tabla 5.17</i> Atributos visuales y atributos de olor sobre muestras de pechuga de pavo crudas	217
<i>Tabla 5.18</i> Atributos de <i>flavor</i> y de textura sobre muestras de pechuga de pavo cocidas	219
<i>Tabla 5.19</i> Atributos visuales y atributos de olor sobre muestras de muslo de pavo crudo	223
<i>Tabla 5.20</i> Atributos de <i>flavor</i> y de textura sobre muestras de muslo de pavo cocidas	224
<i>Tabla 5.21</i> Significación de los factores incluidos en el modelo para la enrofloxacin en pechuga, muslo e hígado de pavo	228
<i>Tabla 5.22</i> Significación de los factores incluidos en el modelo para la ciprofloxacina en pechuga, muslo e hígado de pavo	228
<i>Tabla 5.23</i> Niveles de enrofloxacin en pechuga, muslo e hígado de pavo	229
<i>Tabla 5.24</i> Niveles de ciprofloxacina en pechuga, muslo e hígado de pavo	230

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADP	Difosfato de Adenosina
AGPI	Ácido graso polinsaturado
ANOVA	Análisis de la varianza
Asc	Ácido ascórbico
Asc·	Radical ascorbilo
ASTM	American Society for Testing Materials
ATP	Trifosfato de Adenosina
β-car	β-caroteno
β-car·	Radical β-caroteno
BHA	Butilato hidroxianisol
BHT	Butilato hidroxitolueno
BSA	Seroalbúmina bovina
CAT	Catalasa
CoQH ₂	Hidroquinona
DHLA	Ácido dihidrolipoico
DTPA	Ácido dietilenotriaminopentacético
e ⁻	Electrón
EDTA	Tetra-acetato de etilendiamina
g	Gramos
G-6-P	Glucosa-6-fosfato
G-6-P-DH	Glucosa-6-P-deshidrogenasa
GLM	General Linear Model
GR	Glutación reductasa
GSH	Glutación reducido
GSHPx	Glutación peroxidasa
GSSG	Glutación oxidado
HDL	Lipoproteína de elevada densidad
HO·	Radical hidroxilo
HOO·	Radical perhidroxilo
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogeno
HPLC	Cromatografía líquida de alta presión
ISO	Internacional Organization for Standardization

Abreviaciones

Kg	Quilogramos
L·	Radical lipídico
LDL	Lipoproteína de baja densidad
LH	Ácido graso
LMR	Límite máximo residual
LO·	Radical alcoxilo lipídico
LOO·	Radical peroxilo lipídico
LOOH	Hidroperóxido lipídico
M	Molar
Mⁿ⁺	Metal en estado reducido (Fe ²⁺ , Cu ⁺)
M⁽ⁿ⁺¹⁾⁺	Metal en estado oxidado (Fe ³⁺ , Cu ²⁺)
MDA	Malondialdehído
MFD	<i>Meat flavor deterioration</i>
mg	Miligramos
min	Minuto
ml	Mililitro
mM	Milimolar
NaCl	Cloruro sódico
NAD⁺	Dinucleótido de nicotinamida y adenina (Forma oxidada)
NADP⁺	Dinucleótido fosfato de nicotinamida y adenina (Forma oxidada)
NADH	Dinucleótido de nicotinamida y adenina (Forma reducida)
NADPH	Dinucleótido fosfato de nicotinamida y adenina (Forma reducida)
NaN₃	Azida sódica
nm	Nanometro
nmol	Nanomol
NO·	Óxido nítrico
NS	No significativo
¹O₂	Oxígeno singlete
³O₂	Oxígeno triplete
O₂	Oxígeno
O₂^{-·}	Radical anión superóxido
⁻OCl	Hipoclorito
ONOO⁻	Peroxinitrito

ppm	Partes por millón
PTFE	Politetrafluoroetileno
Q10	Coenzima Q10
QDA	Análisis cuantitativo descriptivo
QM	Quilomicrón
QMr	Quilomicrón remanente
R·	Radical libre
RD	Real Decreto
RO·	Radical alcoxilo
ROO·	Radical peroxilo
ROOH	Hidroperóxido
ROS	Especies reactivas derivadas del oxígeno
SAS	Statistical Analysis System
SOD	Superóxido dismutasa
α -TTP	Proteína de transferencia del α -tocoferol
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico
TBHQ	Tertbutilhidroxiquinona
TCA	Ácido tricloroacético
Toc	α -tocoferol
Toc·	Radical α -tocoferil
UNE	Una Norma Española
VLDL	Lipoproteína de muy baja densidad
WOF	<i>Warmed over flavor</i>
WPSA	World's Poultry Science Association
μ g	Microgramo
μ l	Microlitro
μ mol	Micromol

1. INTRODUCCIÓN

1.1 CONSIDERACIONES GENERALES

La carne y los productos cárnicos son componentes importantes de la dieta de los países desarrollados, pues concentran y proporcionan un gran número de nutrientes. Constituyen una fuente fundamental de proteínas de alto valor biológico y aportan una gran cantidad de aminoácidos esenciales. Los lípidos que contienen son precursores de compuestos que regulan funciones fisiológicas, suministran ácidos grasos esenciales y transportan vitaminas liposolubles. En general, los lípidos de la carne contienen niveles de ácidos grasos saturados, considerados los de mayor riesgo por su efecto hipercolesterolémico, inferiores al 50%; este nivel es menor en cerdo y disminuye aún más en pollo y pavo (Jiménez-Colmenero, 2001a). El porcentaje de colesterol depende de numerosos factores, pero en general es inferior a 75mg/100g (Chizzolini *et al.*, 1999).

La carne y sus derivados presentan además importantes aportes de otros nutrientes como vitaminas y minerales. Son una fuente excelente de vitaminas del grupo B, de fósforo y zinc, este último indispensable ya que interviene en la composición y actividad de más de 200 enzimas celulares. Proporcionan también cantidades significativas de otros elementos traza esenciales como el selenio, magnesio y cobalto. Alrededor de dos tercios del hierro de la carne se encuentra en forma hemo que es mejor absorbida que el hierro no hemínico presente en los alimentos de origen vegetal. Aunque en valor absoluto el nivel de hierro pueda parecer bajo en ciertos tipos de carne, como por ejemplo la de pollo, comparado con algunos productos vegetales, su elevada biodisponibilidad hace que su contribución relativa en la dieta sea muy notable (Jiménez-Colmenero, 2001a).

Consumo de carne y productos cárnicos

El consumo de carne y productos cárnicos puede verse afectado por distintos factores; los más destacables son los relacionados con el consumidor y su entorno (psicológicos, familiares, educativos, religiosos, económicos...) y las características

del producto (propiedades sensoriales y nutricionales, seguridad, precio...) (Jiménez-Colmenero *et al.*, 2001b).

En los últimos años se han producido cambios importantes en lo que respecta al consumidor y a su entorno. Factores como la incorporación de la mujer al mercado laboral o el aumento del valor del tiempo dedicado al ocio han contribuido a la reducción del periodo destinado a la preparación de la comida. Al mismo tiempo, la compra diaria ha desaparecido de muchos hogares y tiende a sustituirse por períodos más largos, una o dos veces por semana o por mes y habitualmente en grandes superficies. (Barreiro, 2001). Como consecuencia de esto se ha producido un incremento del consumo de productos de elevada elaboración industrial, congelados y precocinados (Castillo Sánchez y León Espinosa de los Monteros, 2000; Cruz y Barreiro, 2001).

En cuanto a las características del producto, tradicionalmente la elección de productos cárnicos venía determinada por aspectos básicamente sensoriales. Esta situación está cambiando en los últimos años ya que la influencia sobre la salud constituye uno de los principales criterios de selección (Jiménez-Colmenero, 2001c). Por un lado, el consumidor es consciente de la implicación de algunos constituyentes de la carne en determinadas patologías extendidas en nuestra sociedad (enfermedades cardiovasculares, cáncer, hipertensión, obesidad...). Por otro lado, algunos acontecimientos recientes como la Encefalopatía Espongiforme Bovina, la detección de *Salmonella* en pollos, los escándalos a raíz de la utilización de clenbuterol para el engorde de animales de abasto, la utilización de piensos contaminados con dioxinas o el reciente brote de "gripe aviar", han contribuido a deteriorar la imagen de la carne y los productos cárnicos y han creado una cierta alarma social (Jiménez-Colmenero *et al.*, 2001b).

Así pues, si nos fijamos en la actitud actual de la población española frente los productos de origen animal, las prioridades son, en primer lugar, la seguridad del alimento, seguida de su valor nutritivo y de sus características sensoriales (Hernández, 2002).

Como cualquier otro alimento, la carne y los productos cárnicos contienen elementos que en ciertas circunstancias y en proporciones inadecuadas pueden tener un efecto negativo en la salud humana. Algunos son constituyentes del propio alimento como determinadas grasas o el colesterol. A estos hay que añadir la posible presencia de residuos, debidos habitualmente a la acción del hombre, y que constituyen una de las principales fuentes de preocupación acerca de la seguridad de los alimentos (Nardone y Valfrè, 1999). Estos residuos proceden fundamentalmente de la contaminación ambiental, consecuencia de usos industriales y agrícolas (pesticidas, metales pesados, hidrocarburos organoclorados, dioxinas...), de la contaminación producida por el contacto del producto con materiales empleados en su elaboración, distribución o conservación (desinfectantes, detergentes, envases...) pero también de fármacos empleados en producción animal como antimicrobianos, sustancias promotoras del crecimiento o tranquilizantes (Casademont y García-Regueiro, 1999; Jiménez-Colmenero, 2001a).

Mediante la nutrición animal pueden controlarse distintos aspectos de la calidad de la carne con el objetivo de conseguir una mejora; disminuir el contenido de grasa, aumentar el nivel de ácidos grasos poliinsaturados, disminuir los niveles de colesterol o aumentar el contenido en vitaminas y minerales, son sólo algunos ejemplos (Barroeta y Cortinas, 2002a). En general, incidiendo en la nutrición animal se pretende influir de forma positiva sobre la calidad y seguridad de la carne, pero esto en ocasiones puede conllevar efectos negativos como, por ejemplo, el incremento de procesos de oxidación lipídica en carnes o derivados con niveles elevados de ácidos grasos insaturados.

Carne de pollo y pavo

La carne de pollo es una de las más aceptadas en el ámbito mundial. Contiene todos los aminoácidos esenciales, es fácilmente digerible y una buena fuente de hierro y vitaminas del grupo B. Es una de las carnes con un contenido más bajo en purinas por lo que limitando la cantidad puede formar parte de la dieta de personas con hiperuricemia (Stadelman *et al.*, 1988). Es también una carne muy destacable en cuanto a su contenido en ácidos grasos poliinsaturados y vitamina E (Barroeta y Cortinas, 2002b). Debido a su gran versatilidad y su precio económico, la carne de pollo es un alimento común en todos los hogares, pero las principales cualidades que el consumidor destaca de este tipo de carne están relacionadas directamente con la salud: tiene poca grasa, es una carne ligera, apta para dietas y baja en colesterol (Eurocarne, 2002). Además de su consumo directo, se utiliza en la industria alimentaria para la elaboración de productos elaborados frescos (salchichas, hamburguesas, pinchos...), precocinados (san jacobos, empanados, pollos asados...) y congelados preparados.

La carne de pavo es un producto de alto rendimiento tanto para los productores como para los consumidores; por cada kilo de carne se obtienen 600g comestibles. Hasta hace unos pocos años era conocido exclusivamente como un plato típico reservado para fechas especiales, pero hoy en día su consumo se ha extendido y forma parte de la alimentación diaria. Esta creciente incorporación de la carne de pavo a la dieta tiene sus razones: se trata de un alimento magro, fácil de digerir y de bajo contenido en grasa. Es una carne muy proteica y su bajo contenido en colágeno facilita la digestibilidad. En una sociedad en que el cuidado del cuerpo está a la orden del día, el pavo es un alimento adecuado a los nuevos estilos de vida.

En la Tabla 1.1 se muestra comparativamente la composición nutricional aproximada de la carne fresca de pollo y pavo.

Tabla 1.1 Composición aproximada de la carne fresca de pollo y pavo¹

NUTRIENTE	Carne POLLO	Carne PAVO
H ₂ O ²	65.99	70.40
Calorías ²	215	160
Proteínas ²	18.60	20.42
Lípidos totales ²	15.06	8.02
Ácidos grasos saturados ³	29.9	29.5
Ácidos grasos monoinsaturados ³	44.7	42.9
Ácidos grasos poliinsaturados ³	21.0	23.2
Colesterol ⁴	75	68
Carbohidratos ²	<1.0	<1.0
Fibra ²	0.0	0.0

¹(Stadelman *et al.*, 1988)

² valores por 100g de carne

³ valores por 100g lípidos totales (estos valores varían en función de la dieta)

⁴ mg/100g carne

El sector avícola español generó en 2002 un volumen aproximado de 1.100.000tm. (incluidas carnes y elaborados), de las que alrededor del 89% correspondieron a carne de pollo, un 9% a pavo y el 2% restante a otras especialidades, cifras que se han mantenido prácticamente estables en los últimos años. La producción española de carne de pollo sufrió un ligero descenso motivado principalmente por la recuperación del consumo de otro tipo de carnes, como el vacuno, que había disminuido con motivo de diversas crisis alimentarias. Por otro lado, el mercado de carne de pavo experimentó una bajada de venta en fresco, pero actualmente se está orientando hacia la industria transformadora y más concretamente hacia los elaborados cocidos (Castro y Fernández, 2003).

1.2 PROCESOS OXIDATIVOS EN CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS

1.2.1 ESTRÉS OXIDATIVO. ORIGEN Y CONSECUENCIAS

Una de las paradojas de la vida en este planeta es que una molécula que sustenta la vida aeróbica, el oxígeno, esencial para el metabolismo energético y la respiración, pueda constituir el punto de partida para un tipo de daño celular conocido como "estrés oxidativo", producido como consecuencia de un desequilibrio entre la producción de especies reactivas y los mecanismos de defensa antioxidante (Marx, 1985).

Las especies reactivas ejercen una importante función en diversos procesos esenciales para la vida como la destrucción de microorganismos por fagocitosis, la síntesis de mediadores inflamatorios o la destoxificación de muchos xenobióticos. En concentraciones bajas son beneficiosas e incluso indispensables, pero en cantidades excesivas son tóxicas por el daño que provocan en las moléculas biológicas. Se generan tanto a nivel intracelular como extracelular y son capaces de difundir por el citosol y a través de las membranas y deteriorar los distintos componentes celulares (Chihuaílaf *et al.*, 2002). Los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos constituyen su principal blanco de actuación.

Acción sobre los lípidos

Es precisamente sobre estas biomoléculas donde recae el mayor daño derivado del estrés oxidativo, en un proceso conocido como peroxidación lipídica. Afecta a los ácidos grasos poliinsaturados y las consecuencias son evidentes cuando estos forman parte de los lípidos de las membranas celulares ya que se ve alterada su adhesión, fluidez, permeabilidad y función metabólica (Yu, 1994).

Acción sobre las proteínas

Aunque también constituyen un blanco para las especies reactivas, el efecto sobre ellas es menos intenso que en el caso de los lípidos a causa de la lenta progresión de las reacciones. El ataque oxidativo a las proteínas puede provocar

modificaciones en aminoácidos específicos, fragmentación de la cadena peptídica, agregaciones o entrecruzamientos, alteraciones de la carga eléctrica o incremento de la susceptibilidad a la proteólisis. También pueden producirse cambios irreversibles que inhiban la función enzimática (Dean *et al.*, 1997; Shacter, 2000).

Acción sobre los ácidos nucleicos

El ADN mitocondrial constituye el principal blanco de ataque ya que por su localización se encuentra expuesto a un flujo constante y elevado de especies reactivas provenientes de la cadena respiratoria (Machlin y Bendich, 1987). Dentro del espectro de alteraciones que puede sufrir el ADN se describe la oxidación de desoxirribosas, ruptura y entrecruzamientos de cadenas y la modificación de bases nitrogenadas, principalmente. También puede producirse la pérdida de expresión de proteínas por alteración de genes específicos (Chihuailaf *et al.*, 2002).

Además del daño directo sobre estas biomoléculas, se ha observado que algunos productos de oxidación pueden producir una gran variedad de efectos biológicos adversos como la cooxidación de vitaminas y carotenoides, la inhibición de la biosíntesis del colesterol, aterogénesis, citotoxicidad o carcinogénesis (Kubow, 1990; Kanner, 1994).

Finalmente, cabe destacar que en el desarrollo de algunas enfermedades crónicas prevalentes en nuestra sociedad la nutrición tiene un efecto destacable, ya sea como causante específico de la enfermedad, aumentando el riesgo a padecerla o ejerciendo un efecto beneficioso en su prevención (Weisburger, 2000). Las enfermedades crónicas degenerativas, especialmente las cardiovasculares, algunos tipos de cáncer y las complicaciones de la *diabetes mellitus*, responsables de cerca del 75% de la mortalidad total en los países desarrollados (Mata, 2002), se han relacionado con el estrés oxidativo (Pearson *et al.*, 1983). El envejecimiento y enfermedades ligadas a él se han relacionado con la disminución de la capacidad de eliminar radicales libres (Spiteller, 2001; Barja, 2002a; Barja 2002b). Otras

condiciones patológicas en las que hay evidencia de que se produce un perjuicio mediado por radicales libres son el fallo renal crónico, la artritis reumatoide y enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson o el Alzheimer (Abuja y Albertini, 2001).

1.2.2 OXIDACION PROTEICA

El término oxidación proteica hace referencia a la modificación de una proteína inducida de forma directa por especies reactivas derivadas del oxígeno o bien indirectamente mediante reacción con productos secundarios del estrés oxidativo.

Los agentes responsables de la oxidación proteica son tan diversos como el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso, xenobióticos, metales de transición como el Fe^{2+} y el Cu^+ , neutrófilos activados, luz ultravioleta, ozono, enzimas oxidoreductasas o productos de la oxidación lipídica (Shacter, 2000).

Existen diversos mecanismos de oxidación proteica: a través de radicales inducidos por radiación, mediante sistemas catalizados por iones metálicos, a partir del oxígeno singlete y reacciones fotoquímicas, mediante radicales endógenos o bien radicales procedentes de otros procesos biológicos (Dean *et al*, 1997).

El entorno físico-químico de las proteínas influye en la naturaleza y extensión de las reacciones con radicales. Los factores claves son la concentración de la proteína y la localización del flujo de radicales. Se debe tener en cuenta que los radicales lipídicos pueden dañar a las proteínas y que en las membranas se producen interacciones e intercambios entre la oxidación proteica y la lipídica (Figura 1.1).

Como consecuencia del daño oxidativo las proteínas pueden sufrir modificaciones en aminoácidos específicos, cambios conformacionales, fragmentación de la cadena peptídica o alteración de la carga eléctrica. Además, los cambios oxidativos pueden provocar diversas consecuencias funcionales tales como la

inhibición de actividades enzimáticas o el incremento de la susceptibilidad a la agregación y proteólisis (Shacter, 2000).

Se han identificado algunos mecanismos que permiten la reparación de proteínas oxidadas, al igual que los sistemas de reparación existentes para el ADN. Por otro lado, las proteínas oxidadas pueden ser eliminadas de la célula o tejido mediante proteólisis (Grune *et al.*, 2001).

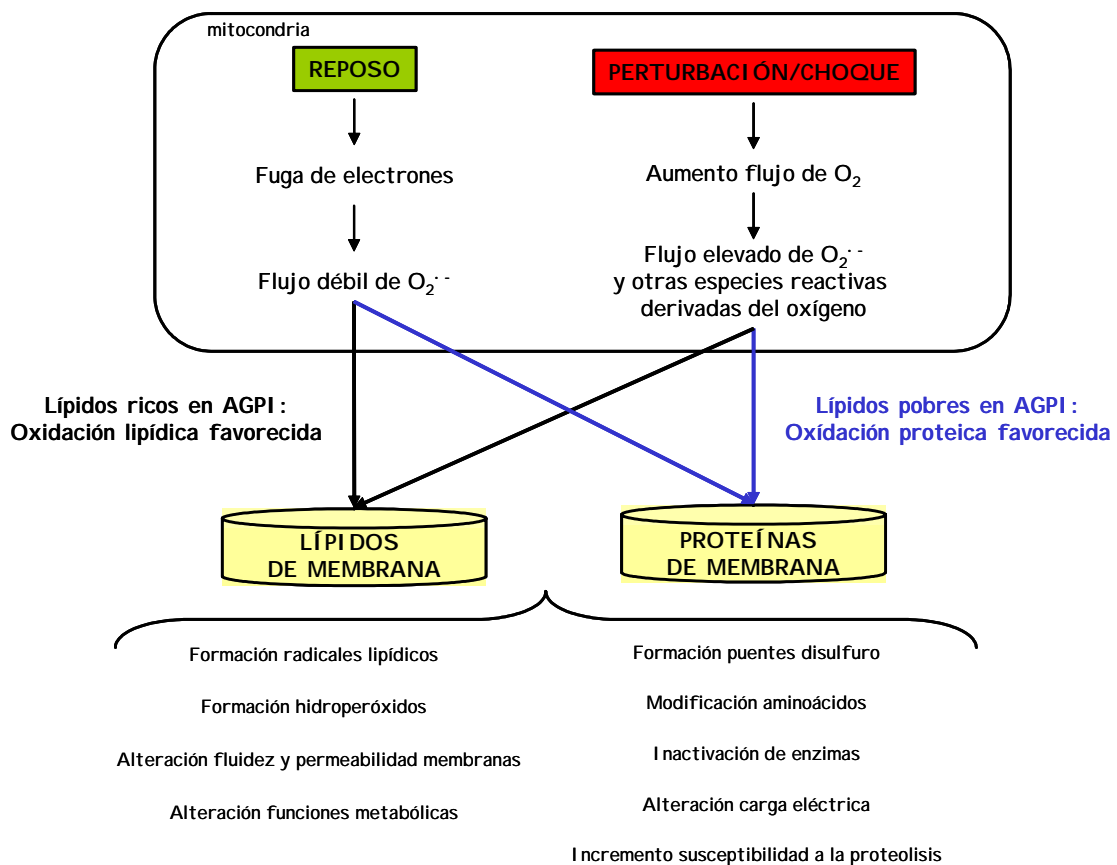


Figura 1.1 Alteración oxidativa de lípidos y proteínas en las membranas celulares (Adaptado de Aourousseau, 2002)

Las principales consecuencias de la oxidación proteica sobre la calidad de la carne y productos cárnicos se aprecian sobretodo a nivel del color de la carne.

La química del color de la carne se debe fundamentalmente al estado de la proteína muscular mioglobina, por lo tanto aquellos músculos con un contenido elevado de este pigmento sufrirán las consecuencias de la oxidación proteica en mayor medida.

La mioglobina es la principal responsable del color rojo del músculo y tiene como función el almacenamiento del oxígeno necesario para el metabolismo aeróbico. Es una proteína conjugada constituida por una parte proteica (globina) y un grupo prostético de naturaleza no peptídica (grupo hemo). La molécula de mioglobina da a la carne fresca un color rojo púrpura. En contacto con el aire la molécula se oxigena dando lugar a la oximioglobina de color rojo brillante. Cuando la mioglobina se oxida se genera la forma férrica (Fe^{3+}), denominada metamioglobina, responsable de la coloración marrón de la carne. Por lo tanto, en presencia de oxígeno, la mioglobina se convierte en dos pigmentos diferentes, oximioglobina y metamioglobina, formas oxigenada (rojo brillante) y oxidada (marrón), respectivamente. Las proporciones relativas de estas dos formas en la carne dependen de la presión parcial de oxígeno, siendo favorecida la formación de metamioglobina por presiones de oxígeno bajas (Bodwell y McClain, 1971).

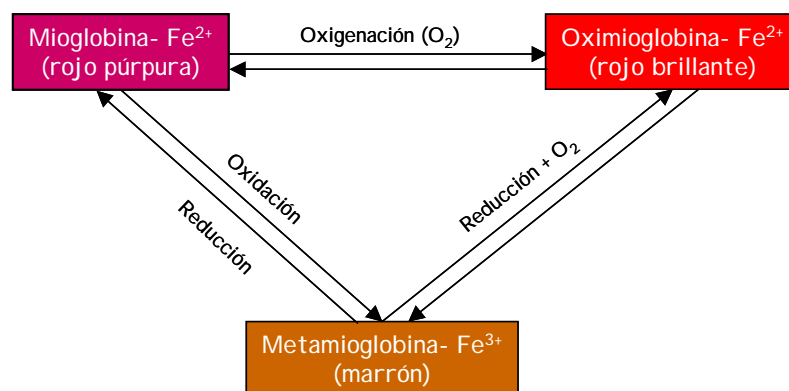


Figura 1.2 Pigmentos hemo del músculo (Bodwell y McClain, 1971)

1.2.3 OXIDACIÓN LIPÍDICA

La oxidación lipídica y los cambios asociados a ella constituyen la principal causa de deterioro de la calidad de la carne y los productos cárnicos (Sevanian y Hochstein, 1985).

La carne de pollo y pavo en particular, se caracterizan por tener una concentración relativamente elevada de ácidos grasos insaturados que las hace más susceptibles al deterioro oxidativo en comparación a otros tipos de carne (Allen y Foegeding, 1981). La susceptibilidad de los ácidos grasos a los procesos oxidativos depende del número de insaturaciones de éstos y parece ser que aumenta de forma exponencial con la presencia de dobles enlaces en la molécula (Labuza, 1971).

A través de la manipulación de la composición de los ácidos grasos suministrados en la dieta animal es posible modificar el perfil de los depósitos lipídicos de animales monogástricos como el pollo o el pavo. Esto permite ajustar la composición de estos lípidos a las necesidades humanas: reducir el nivel de saturación, aumentar el contenido en ácidos mono y poliinsaturados o disminuir la relación n-6/n-3, que si es elevada supone un mayor riesgo arteriosclerótico y cardiovascular. Pero uno de los principales problemas que aparecen al aumentar el grado de insaturación de la carne es el incremento de la susceptibilidad de esta a la oxidación lipídica, especialmente durante los procesos de almacenaje y cocción (Jiménez-Colmenero, 2001c; Barroeta y Cortinas, 2002a).

La oxidación lipídica provoca la aparición de olores y *flavores* extraños, la alteración del color y en general una reducción de la calidad organoléptica de la carne. Por otro lado, provoca una disminución del valor nutritivo de la carne y la generación de compuestos potencialmente nocivos para la salud que se han relacionado con el riesgo de padecer diversas patologías (enfermedades cardiovasculares, cáncer, envejecimiento...). Todos estos factores contribuyen a disminuir la aceptación del producto por parte del consumidor (Barroeta y Cortinas, 2002b). Por lo tanto, si se desea aumentar el grado de insaturación de la carne es necesario encontrar un

equilibrio que permita un aumento razonable en ácidos grasos poliinsaturados con el mínimo perjuicio organoléptico y oxidativo (Barroeta y Cortinas, 2002a).

1.2.3.1 MECANISMO

1.2.3.1.1 FORMACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DERIVADAS DEL OXÍGENO

En condiciones fisiológicas normales, las células se ven afectadas de forma continua por agentes que provienen de fuentes tanto externas como internas y que provocan alteraciones en el metabolismo celular. Los más destacables son las especies reactivas derivadas del oxígeno, también conocidas como ROS (*Reactive Oxygen Species*). Dentro de estas se incluyen los radicales libres, especies con uno o más electrones desaparejados capaces de existir independientemente, como el radical hidroxilo ($\text{HO}\cdot$), el anión superóxido ($\text{O}_2\cdot^-$) o radicales de compuestos orgánicos que contienen oxígeno como el radical peroxilo ($\text{ROO}\cdot$) o alcoxilo ($\text{RO}\cdot$). Otras ROS como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) o el ácido hipocloroso (HOCl) no son radicales pero contienen grupos funcionales con oxígeno reactivos (Halliwell y Gutteridge, 1984; Halliwell, 1987; Halliwell *et al.*, 1995) (Tabla 1.2).

Tabla 1.2 Especies reactivas derivadas del oxígeno (ROS)

Radicales	No radicales
Hidroxilo $\text{HO}\cdot$	Peroxinitrito ONOO^-
Alcoxilo $\text{RO}\cdot$	Hipoclorito $\cdot\text{OCl}$
Perhidroxilo $\text{HOO}\cdot$	Hidroperóxido ROOH
Peroxilo $\text{ROO}\cdot$	Oxígeno singlete $^1\text{O}_2$
Óxido nítrico $\text{NO}\cdot$	Peróxido de hidrógeno H_2O_2
Superóxido $\text{O}_2\cdot^-$	

Las ROS pueden generarse accidentalmente o deliberadamente (Halliwell *et al.*, 1995; Morrissey *et al.*, 1998).

- *Generación accidental*; durante el metabolismo aeróbico normal las mitocondrias consumen O_2 y lo reducen de forma secuencial hasta producir agua. Durante este proceso una pequeña fracción del oxígeno genera $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 y $HO\cdot$. Asimismo, los enzimas peroxisomales y el citocromo P450 también generan ROS de forma accidental. También pueden formarse a partir de reacciones de autooxidación de compuestos como las catecolaminas, el ácido ascórbico o flavinas reducidas.
- *Biosíntesis deliberada*; los fagocitos activados generan $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 y $HOCl$ para inactivar bacterias o virus. También distintas oxidasas generan H_2O_2 .

1.2.3.1.2 ETAPAS DE LA PEROXIDACIÓN LIPÍDICA

Desde un punto de vista químico, la oxidación lipídica es una reacción en cadena de radicales libres que se da en tres etapas: iniciación, propagación y terminación. Mediante esta reacción en cadena, un radical puede inducir la oxidación de un número elevado de moléculas de sustrato (Simic, 1981; Halliwell y Gutteridge, 1989).

Iniciación

El oxígeno atmosférico (3O_2) en su estado basal se distingue por ser un birradical, es decir posee dos electrones desaparejados con spins paralelos. De acuerdo con el Principio de Exclusión de Pauli, no puede reaccionar con una molécula a no ser que esta tenga dos electrones desapareados con spins paralelos opuestos a los suyos, y esto no es probable. Debido a esta restricción de spin, es necesaria la activación del oxígeno en estado triplete para que éste pueda participar en reacciones con moléculas orgánicas en estado singlete, en este caso ácidos grasos insaturados (Hsieh y Kinsella, 1989).

Para la formación de los primeros peróxidos es necesaria la participación de un radical suficientemente reactivo ($R\cdot$) capaz de sustraer un átomo de hidrogeno de un grupo metileno de un ácido graso (Abuja y Albertini, 2001). Esta reacción está

favorecida por la deslocalización del electrón a través del doble enlace adyacente al grupo metileno.

Las diversas formas resultantes de la activación del oxígeno triplete, así como compuestos metálicos y su posible implicación en la iniciación de la peroxidación lipídica pueden describirse del modo siguiente (Kanner, 1994):

- Oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$). Si el oxígeno triplete ($^3\text{O}_2$) adquiere suficiente energía para revertir el spin de uno de sus electrones desapareados da lugar al oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), en el que los dos electrones poseen spins opuestos. Este fenómeno puede ocurrir mediante descargas de microondas o mediante reacciones fotoquímicas en presencia de un sensibilizador (molécula capaz de absorber energía de la luz). El oxígeno singlete se caracteriza por su elevada reactividad en comparación con el oxígeno triplete y a diferencia de este puede reaccionar con ácidos grasos insaturados (Foote, 1984; Halliwell y Gutteridge, 1989). Algunos trabajos proponen que podría estar implicado en la iniciación de la peroxidación lipídica (Kanner *et al.*, 1987; Hamilton *et al.*, 1997).

- Radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$). La reducción, por adición de un electrón, del oxígeno molecular genera el radical superóxido. En el tejido muscular este radical puede provenir de los sistemas de transferencia de electrones de membrana, de la autooxidación de la oximioglobina a metamioglobina, de la activación de leucocitos o de la oxidación de compuestos reductores como el ácido ascórbico (Fridovich, 1984; Halliwell y Gutteridge, 1989; Kanner, 1994; Chan *et al.*, 1997; Aourousseau, 2002). Este radical no tiene un potencial redox suficiente para iniciar la oxidación lipídica (Gebicki y Bielski, 1981), pero puede ser transformado a otras especies (Spiteller, 2001):
 - puede reaccionar con H^+ en solución acuosa y generar radicales $\text{HOO}\cdot$. Dos radicales $\text{HOO}\cdot$ pueden dismutar dando lugar a H_2O_2 y O_2 . El H_2O_2 mediante la reacción de Fenton (Figura 1.3) puede

generar radicales HO· altamente reactivos o puede ser sustrato del enzima mieloperoxidasa y dar lugar a OCl⁻.

- mediante una reacción de dismutación espontánea o catalizada por la superóxido dismutasa (SOD) genera H₂O₂ y O₂.
- puede reaccionar con NO· generado en las mitocondrias y dar lugar a peroxinitrito que es un fuerte oxidante.

- Radical perhidroxilo (HOO·). Se trata de un oxidante más fuerte que el radical superóxido, capaz de atravesar las membranas celulares e iniciar la peroxidación de los ácidos grasos de los fosfolípidos (Halliwell y Gutteridge, 1989).
- Peróxido de hidrogeno (H₂O₂). La reducción de un electrón del radical superóxido genera el peróxido de hidrógeno. En condiciones normales este se encuentra presente a bajas concentraciones en las células aeróbicas (Kanner, 1994). Se genera a nivel mitocondrial, microsomal, peroxisomal y citosólico. Tiene una reactividad limitada y no se ha observado que reaccione directamente con ácidos grasos a pesar de su capacidad de atravesar membranas biológicas (Halliwell y Gutteridge, 1986). Aún así, puede originar radicales libres muy reactivos cuando reacciona con metales de transición.
- Radical hidroxilo (HO·). Es producido cuando el agua se expone a radiación ionizante de alta energía, pero la mayor parte proviene de la rotura del H₂O₂ catalizada por metales, denominada reacción de Fenton (Fenton y Jackson, 1899) (Figura 1.3). Hemoproteínas y hierro quelado (ADP-Fe²⁺, EDTA-Fe²⁺) son eficientes catalizadores de esta reacción.



Figura 1.3 Reacción de Fenton

También puede generarse a partir de la reacción entre el peróxido de hidrógeno y el radical superóxido, conocida como reacción de Haber-Weiss (Haber y Weiss, 1934) (Figura 1.4), o por la reacción entre metales y peróxidos orgánicos, lipídicos o proteicos (Figura 1.5). La reacción de Haber-Weiss es muy lenta y puede considerarse irrelevante, pero se ve potenciada en presencia de metales de transición como el hierro o cobre (Halliwell y Gutteridge, 1989).



Figura 1.4 Reacción de Haber-Weiss



Figura 1.5 Reacción entre metales y peróxidos orgánicos

El radical hidroxilo es altamente reactivo, capaz de iniciar la oxidación de lípidos y otras moléculas biológicas.

- Hemoproteínas. A parte de ser eficientes catalizadores de la reacción de Fenton y de la reacción de Haber-Weiss catalizada por metales, la mioglobina y la hemoglobina pueden ser activadas por H_2O_2 y generar un radical oxoferril intermediario de vida corta capaz de iniciar la peroxidación (Kanner, 1994; Gatellier *et al.*, 1995; Chan *et al.*, 1997).
- Hierro libre. En los tejidos hay un pequeña cantidad de hierro no hemo quelado a moléculas como esteres fosfatos (ATP, ADP...) o ácidos orgánicos, entre otros. Este hierro puede contribuir a la generación de radicales $\text{HO}\cdot$ a partir

de H_2O_2 , o de radicales $\text{RO}\cdot$ a partir de la rotura de peróxidos lipídicos preexistentes (Graf *et al.*, 1984).

La primera etapa de la oxidación consiste en la sustracción de un átomo de H de un carbono metileno de un ácido graso (LH) (Figura 1.6). Esta es más sencilla cuanto más elevado es el número de dobles enlaces del ácido graso, por este motivo los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) son más susceptibles a la oxidación (Labuza, 1971; Hamilton *et al.*, 1997; Morrissey *et al.*, 1998).

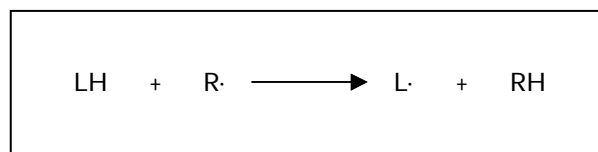


Figura 1.6 Iniciación de la peroxidación lipídica

Propagación

El radical lipídico ($\text{L}\cdot$) formado durante la etapa de iniciación reacciona rápidamente con el oxígeno molecular generando un radical peroxilo ($\text{LOO}\cdot$). Este radical puede oxidar otros ácidos grasos (LH), dando lugar a hidroperóxidos (LOOH) y propagando así la reacción en cadena (Figura 1.7). Una vez se han formado los primeros hidroperóxidos la reacción procede rápidamente ya que requiere menor energía. Cuando el número de hidroperóxidos es suficientemente elevado estos pueden asociarse (Labuza, 1971).

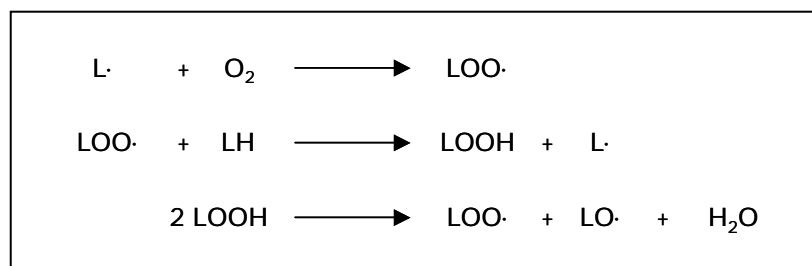


Figura 1.7 Propagación de la peroxidación lipídica

Los hidroperóxidos generados pueden reaccionar con Fe^{2+} o Cu^+ y formar radicales peroxilo ($\text{LOO}\cdot$) y alcoxilo ($\text{LO}\cdot$) que a su vez son capaces de iniciar nuevas reacciones (Kanner, 1994; Morrissey *et al.*, 1998). Por lo tanto, en presencia de estos metales la reacción en cadena no solo se propaga sino que también se amplifica (Figura 1.8).

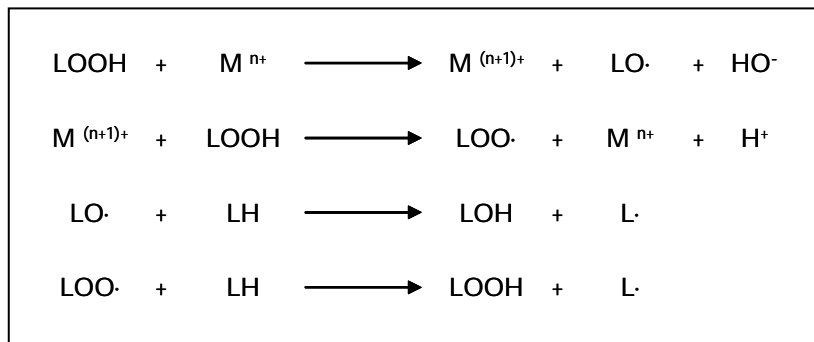


Figura 1.8 Amplificación de la peroxidación lipídica

Paralelamente, el Fe^{3+} y el Cu^{2+} pueden ser reducidos mediante reacción con el radical anión superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) u otros reductores fuertes, permitiendo un ciclo redox en el que el metal de transición puede ser utilizado varias veces (Kanner, 1994; Morrissey *et al.*, 1998) (Figura 1.9).

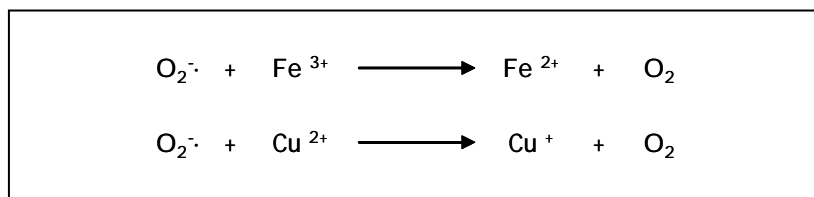


Figura 1.9 Reciclaje iones metálicos

Terminación

La terminación de la reacción en cadena de la peroxidación se da normalmente por la combinación de radicales peroxilo ($\text{LOO}\cdot$) dando lugar a productos no radicalarios (Monahan, 1992; Abuja y Albertini, 2001) (Figura 1.10).

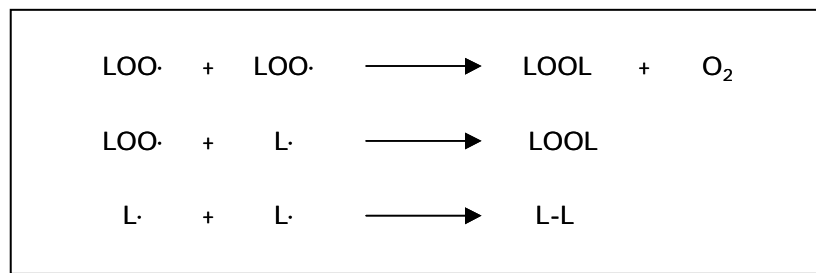


Figura 1.10 Terminación de la peroxidación lipídica

En condiciones en las que el oxígeno no es limitante, la primera reacción de la fase de propagación es tan rápida que la mayor parte de radicales libres se encuentran como radicales peroxilo (LOO·). Por este motivo la terminación se da habitualmente por la combinación de radicales peroxilo, mientras que las otras reacciones de terminación son prácticamente insignificantes (Labuza, 1971).

De forma general, cabe destacar que los productos de oxidación más estudiados son los volátiles por sus efectos a nivel sensorial y la mayor facilidad de análisis; sin embargo, los productos no volátiles pueden ser más importantes cuantitativamente y con efectos, en general, desconocidos sobre la seguridad alimentaria y la calidad sensorial de la carne.

Oxidación enzimática

Los hidroperóxidos lipídicos no son generados únicamente por el ataque de los radicales a los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) sino que también pueden ser generados por los enzimas lipooxigenasas y ciclooxigenasas (Hsieh y Kinsella, 1989; Kanner *et al.*, 1987; Hamilton *et al.*, 1997). La fosfolipasa A2 libera ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos. El centro activo de la lipooxigenasa activada contiene Fe³⁺ que puede ser reducido por reacción con un AGPI (LH), quedando este en forma de radical (L·). Este radical lipídico, al reaccionar con el oxígeno da lugar a un radical peroxilo (LOO·) (Spiteller, 2001).

Otras especies reactivas derivadas del oxígeno pueden originarse mediante un sistema compuesto por NADPH/NADH, oxígeno molecular, la citocromo P450 reductasa y ADP-Fe³⁺. El enzima transfiere un electrón a una molécula de O₂ generando O₂⁻ que puede reducir el Fe³⁺ a Fe²⁺, que a su vez descompone el H₂O₂ generando HO· o compuestos oxoferriles (Kanner *et al.*, 1987; Kanner, 1994).

La peroxidación lipídica no enzimática, que progresa mediante reacción en cadena, es mas rápida que la enzimática ya que esta última depende de la concentración de sustrato presente y de la activación de los enzimas (Spiteller, 2001). En músculo cocido y durante el almacenaje la peroxidación lipídica es totalmente dependiente de reacciones no enzimáticas (Kanner, 1994).

1.2.3.2 FACTORES QUE AFECTAN LA OXIDACIÓN LIPÍDICA

Animal

Factores relacionados con el animal como la especie, el sexo o la edad influyen en la susceptibilidad de la carne a la oxidación lipídica (Gray y Pearson, 1987; Kim *et al.*, 2002).

El potencial oxidativo lipídico de muestras de carne crudas se ve muy influido por el contenido en pigmentos hemo; así, la carne cruda de ternera tiene más tendencia a oxidarse que la de cerdo, pollo o pavo. Pero en la carne cocida, esta situación cambia y la carne de pollo y pavo pasan a ocupar el primer lugar en cuanto a susceptibilidad a la oxidación. Esto se explicaría, en parte, por el mayor contenido de AGPI de estas carnes. Durante la cocción se produce la desnaturalización de las hemoproteínas que participan en la catálisis de la oxidación, a la vez que se produce la liberación de los AGPI de los fosfolípidos de membrana, principales sustratos de oxidación (Rhee *et al.*, 1996).

Por otro lado, también se han descrito diferencias en la actividad del sistema endógeno de enzimas antioxidantes en función de la especie animal (Yamauchi *et al.*, 1984; Mei *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 1996a).

Músculo

La composición de las fibras musculares, las áreas fibrilares y la densidad capilar del músculo son factores importantes que afectan a los procesos bioquímicos *ante y postmortem* y por lo tanto a la calidad de la carne (Klont *et al.*, 1998).

Dentro de una misma especie animal, el contenido lipídico varía en función del músculo (Barbut, 2002a). La actividad de los enzimas antioxidantes endógenos también difiere según el músculo (DeVore *et al.*, 1983; Lee *et al.*, 1996a; Renerre *et al.*, 1996; Renerre *et al.*, 1999), al igual que los niveles de antioxidantes endógenos no enzimáticos como la vitamina E (Jensen *et al.*, 1998; Renerre *et al.*, 1999). Los músculos esqueléticos varían en concentración de vitamina E según la proporción de las distintas fibras musculares. Las fibras rojas contienen un mayor número de mitocondrias que proporcionan una mayor superficie de membrana lo cual facilita la acumulación del antioxidante. Además, reciben un mayor aporte sanguíneo, lo que supone un mayor aporte de vitamina E (Liu *et al.*, 1995; Renerre *et al.*, 1999).

Composición lipídica de la carne

La composición de la grasa de la dieta y la tendencia de las especies a acumular ácidos grasos en los fosfolípidos de membrana, afectan a la composición lipídica de la membrana muscular y a su susceptibilidad a la oxidación (Kanner, 1994). Esta susceptibilidad dependerá de la proporción de ácidos grasos insaturados ya que el grupo metilo entre dos dobles enlaces incrementa la sensibilidad a la oxidación (Morrissey *et al.*, 1998; Barroeta y Cortinas, 2002b).

De las dos fracciones lipídicas principales de la carne, fosfolípidos y triglicéridos, la primera contiene una mayor proporción de ácidos grasos insaturados y eso establece que los fosfolípidos, a diferencia de los triglicéridos, sean generalmente los principales responsables de la iniciación de la oxidación lipídica. Así, incluso productos cárnicos con bajo contenido en grasa son susceptibles a la oxidación

lipídica porque la reducción de grasa es reflejo principalmente de un descenso del contenido de triglicéridos, mientras que la fracción fosfolipídica se ve menos afectada (Monahan, 2002).

Manipulación, procesamiento, almacenaje y cocción

Muchos productos cárnicos, durante su proceso de fabricación, experimentan un cierto grado de modificación de la estructura muscular. En emulsiones, carne picada, troceada o productos cárnicos reestructurados, los diferentes grados de manipulación física producen roturas en la estructura y exponen a los lípidos del músculo a un ambiente prooxidante favoreciéndose el contacto entre los sustratos de oxidación y los catalizadores de esta. Incluso en algunos casos puede detectarse un cierto olor a "sobrecalentamiento" en carnes crudas picadas, lo que apoya la teoría de que la rotura de la estructura muscular durante el procesamiento contribuye de forma importante a la oxidación lipídica (Decker y Xu, 1998; Monahan, 2002).

Otras operaciones, como la cocción, provocan una rotura de la estructura del tejido muscular causando la desnaturalización de proteínas y la consiguiente pérdida de actividad enzimática de algunas de ellas, además de liberar hierro que actúa como catalizador de la oxidación (Rhee *et al.*, 1987; Decker y Xu, 1998). El tratamiento térmico afecta a la actividad de enzimas antioxidantes (Mei *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 1996b), se libera oxígeno de la oximioglobina que genera peróxido de hidrógeno (Harel y Kanner, 1985) y se produce la rotura de hidroperóxidos generando radicales libres que propagan la peroxidación (Kanner, 1994).

Por otro lado, ciertos ingredientes usados en la fabricación de los productos cárnicos afectan a su susceptibilidad a la oxidación (Monahan, 2002). El cloruro sódico puede promover la oxidación lipídica posiblemente por el desplazamiento de hierro unido a macromoléculas (Kanner *et al.*, 1991), a la vez que puede afectar a la actividad de los enzimas antioxidantes (Lee *et al.*, 1996b; Hernández *et al.*, 2002; Sárraga *et al.*, 2002). El nitrito, usado en la fabricación de carnes curadas, juega un

papel importante en el desarrollo del color y en la preservación de la carne curada de la aparición de *Clostridium spp.* Su efecto antioxidante se ha atribuido a la generación de óxido nítrico que interacciona con el hierro evitando que este actúe como catalizador, a su capacidad para capturar radicales libres y a su capacidad para estabilizar ácidos grasos insaturados de las membranas celulares (Kanner, 1994; Monahan, 2002). Los fosfatos, ampliamente utilizados en los productos cárnicos para aumentar los enlaces con moléculas de agua, también funcionan como antioxidantes a través de la quelación de metales. Finalmente, los ascorbatos pueden tener efectos antioxidantes en productos cárnicos dependiendo de la cantidad en que sean añadidos (Monahan, 2002).

1.2.3.3 ESTRATEGIAS DE CONTROL DE LA OXIDACIÓN LIPÍDICA

El término estrés oxidativo hace referencia a un desequilibrio entre la producción de oxidantes y los respectivos sistemas de defensa del organismo (Halliwell, 1987; Halliwell y Gutteridge, 1989; Chihuilaf *et al.*, 2002).

El tejido muscular *postmortem* difiere del tejido vivo en que no puede autorepararse y por lo tanto la estabilidad oxidativa del músculo esquelético dependerá de la composición, concentración y reactividad de los sustratos de oxidación, de los catalizadores de esta y de los antioxidantes. Existen diversos mecanismos para mantener el balance entre los factores prooxidantes y antioxidantes del tejido muscular. Cuando este equilibrio se pierde, desaparece el control de los procesos oxidativos y los componentes celulares, entre ellos los lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, se ven afectados (Decker y Xu, 1998).

Con el objetivo de mantener la estabilidad oxidativa de la carne y productos cárnicos se puede actuar sobre los sustratos de oxidación, sobre los prooxidantes o bien sobre los mecanismos antioxidantes (Figura 1.11).

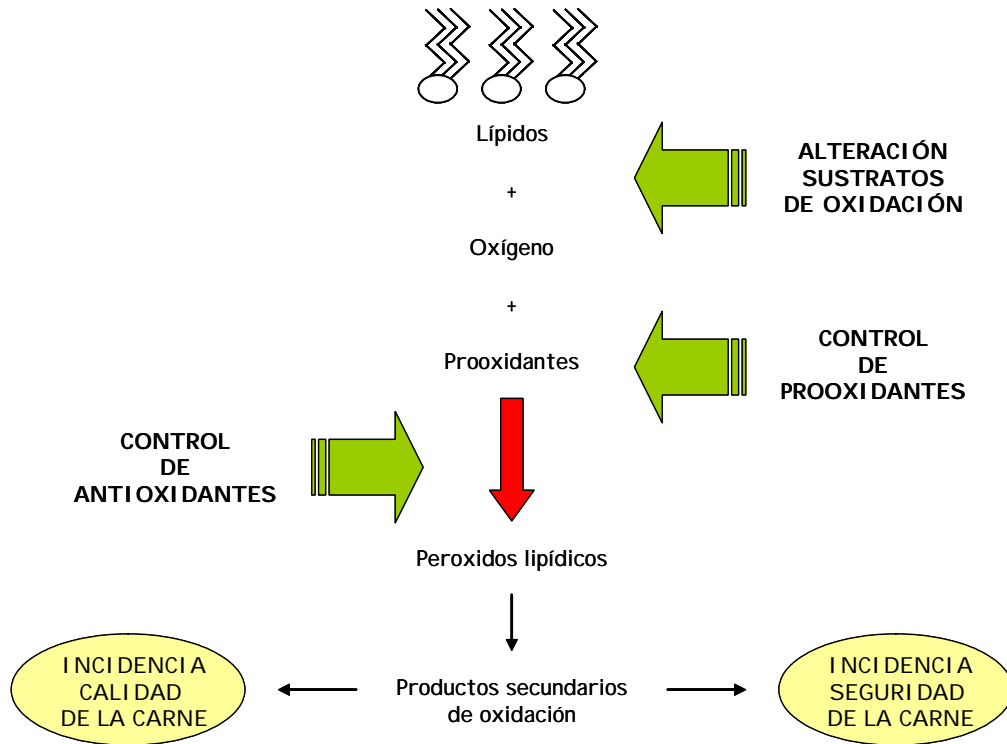


Figura 1.11 Estrategias de control de la oxidación lipídica

1.2.3.3.1 ALTERACIÓN DE LOS SUSTRATOS DE OXIDACIÓN

Manipulando la composición lipídica de las membranas de las células musculares podemos conseguir un incremento de la estabilidad oxidativa. En animales monogástricos como el pollo o el pavo, que depositan en los tejidos la grasa suministrada en la dieta sin modificarla, podemos aumentar la estabilidad oxidativa de la carne aumentando la proporción de ácidos grasos saturados en la dieta, pero esto no es del todo deseable desde un punto de vista nutricional (Barroeta y Cortinas, 2002b).

También es posible incrementar la estabilidad oxidativa de la carne minimizando el contacto de esta con el oxígeno a través de técnicas de manipulación o envasado al vacío o mediante atmósferas modificadas (Kingston *et al.*, 1998; Brunton *et al.*, 2002; Monahan, 2002).

1.2.3.3.2 CONTROL DE PROOXIDANTES

Control de los radicales libres

La inactivación de radicales libres es un método efectivo para controlar la oxidación debido a que estos actúan como intermediarios de reacción. Las especies capaces de inactivar radicales libres a menudo interaccionan con los radicales peroxilo (LOO·), predominantes, ya que la propagación es la más lenta de las etapas de la oxidación (Decker, 1998). Los "scavengers" (moléculas capaces de eliminar radicales libres) más efectivos suelen ser grupos hidroxilo asociados a compuestos fenólicos que, una vez han actuado, generan radicales estabilizados por resonancia que no reaccionan rápidamente con el O₂ para formar peróxidos. Es necesario que tengan un potencial de reducción inferior al del radical libre para poder cederle un H (Decker, 1998; Cubero *et al.*, 2002).

Control de los catalizadores

La tasa de oxidación lipídica depende a menudo de la concentración y la actividad de los catalizadores (Decker, 1998).

La actividad catalítica de los metales de transición en el músculo esquelético se mantiene controlada mediante la quelación de estos metales a proteínas como la transferrina (Fe), la ferritina (Fe) o la seroalbúmina (Cu) (Chihuailaf *et al.*, 2002). Con un incremento de la temperatura, estas proteínas pueden desnaturalizarse y liberar los metales, por lo tanto el control de la temperatura durante el procesamiento de la carne es clave para disminuir el potencial oxidativo. El NaCl acelera la oxidación lipídica debido a su habilidad para alterar la distribución y reactividad del hierro (Kanner *et al.*, 1991; Decker y Xu, 1998).

Debe considerarse que muchos compuestos pueden quelar metales pero no todos protegen de la oxidación lipídica, incluso algunos pueden incrementar las reacciones oxidativas aumentando la solubilidad o alterando el potencial redox de los metales (Mahoney y Graf, 1986). Los quelantes con propiedades antioxidantes actúan

evitando los ciclos redox del metal, ocupando todos los lugares de coordinación o formando complejos insolubles con este (Decker, 1998).

Inactivación de los intermediarios de reacción

Es importante la inactivación de intermediarios de reacción, principalmente especies reactivas derivadas del oxígeno como el anión superóxido o los peróxidos. En este sentido, es importante la actividad del sistema de enzimas antioxidantes celular (Decker, 1998).

1.2.3.3.3 CONTROL DE ANTIOXIDANTES

1.2.3.3.3.1 PROTECCIÓN DE ANTIOXIDANTES

La estabilidad oxidativa puede incrementarse mediante la protección de los antioxidantes endógenos, evitando su pérdida o inactivación (Decker, 1998).

Los organismos aeróbicos se protegen del ataque de radicales libres mediante sistemas de defensa que pueden clasificarse en dos tipos (Niki, 1987):

- Antioxidantes preventivos
- Antioxidantes que rompen la cadena de propagación de la peroxidación

Un antioxidante puede inhibir la oxidación lipídica por más de uno de estos mecanismos y la utilización conjunta de dos antioxidantes puede dar lugar a efectos aditivos o sinérgicos.

➤ ***ANTIOXIDANTES PREVENTIVOS (secundarios o que reducen la tasa de iniciación)***

Los antioxidantes preventivos actúan inactivando especies activas y posibles precursores de radicales libres, evitando así la generación de estos y, por lo tanto, reduciendo la tasa de iniciación de la peroxidación (Niki, 1987).

Dentro de este grupo se incluyen dos subgrupos:

- proteínas de transporte y almacenaje como la transferrina, lactoferrina, haptoglobina, ceruloplasmina, carnosina o la albúmina, que secuestran iones metálicos evitando que estos actúen como catalizadores de la peroxidación (Papas, 1999). También pertenecen a este grupo agentes quelantes como el EDTA o el ácido cítrico (Giese, 1996).
- enzimas antioxidantes como la glutatión peroxidasa (GSHPx), la catalasa (CAT) y la superóxido dismutasa (SOD) que trabajan conjuntamente para convertir los radicales superóxido en agua (Figura 1.12).

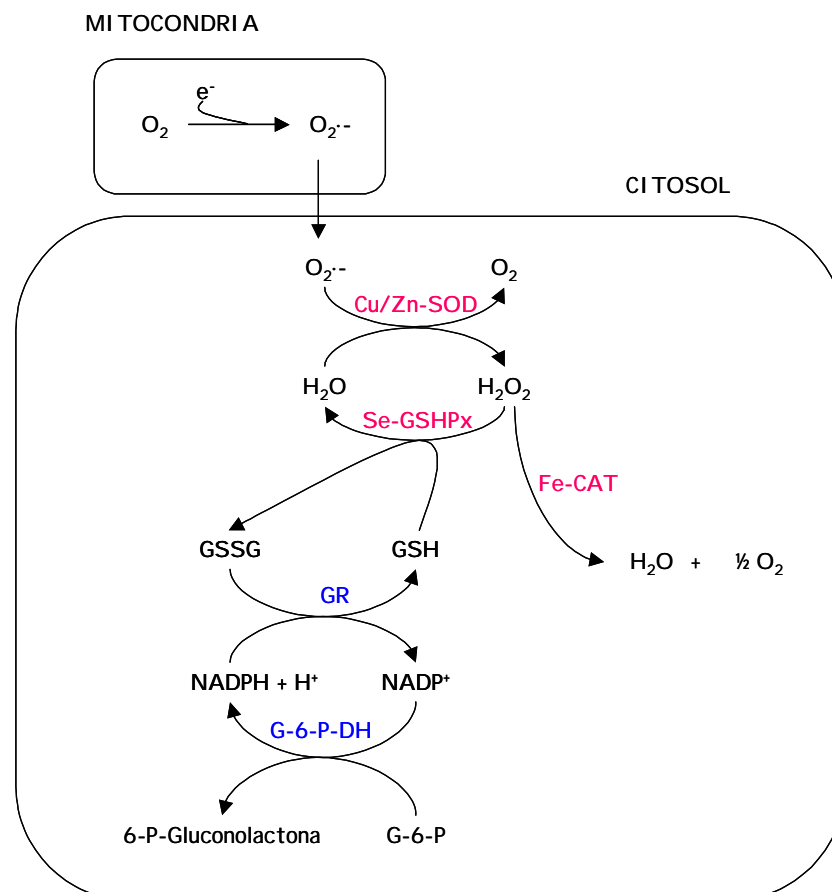


Figura 1.12 Cooperación entre los enzimas antioxidantes GSHPx, CAT y SOD
(Adaptado de Aurousseau, 2002)

Glutación peroxidasa (GSHPx)

Es una selenoproteína que se encuentra en la matriz mitocondrial y en el citosol de las células. Se considera el enzima con mayor capacidad para eliminar peróxidos. Actúa sobre el peróxido de hidrógeno y peróxidos lipídicos. En la reacción interviene el péptido GSH (Glu-Cys-Gly) (Meyer y I saksen, 1995). Una vez oxidado, el glutati6n (GSSG) es reducido de nuevo por acci6n de la glutati6n reductasa (GR) (ver Figura 1.12), utilizando NADPH como reductor (Little *et al.*, 1970; Halliwell *et al.*, 1995).

La GSHPx necesita selenio (Se) en forma de selenocisteina, en el centro activo, aunque se ha descrito otra glutati6n peroxidasa independiente de Se que es reactiva 6nicamente frente a per6xidos lip6dicos (Lawrence y Burk, 1976). Existe otra glutati6n peroxidasa dependiente de Se que actúa directamente sobre los hidroper6xidos lip6dicos localizados en las membranas (Ursini *et al.*, 1985).

Algunos estudios con animales han demostrado que la actividad GSHPx dependiente de Se est6 muy relacionada con la ingesti6n diet6tica de Se (DeVore *et al.*, 1983). En un buen n6mero de especies se ha observado una correlaci6n lineal positiva entre la GSHPx y el Se en sangre y se ha propuesto que la actividad de este enzima en sangre podr6 servir como 6ndice del estatus de Se del animal (Thompson *et al.*, 1976; DeVore y Greene, 1982).

Catalasa (CAT)

Es una hemoprote6na de amplia distribuci6n intracelular, pero se encuentra principalmente en los peroxisomas y en las mitocondrias. Descompone el per6xido de hidr6geno en H₂O y O₂ (Schwimmer, 1981a). Desde un punto de vista cin6tico, la GSHPx posee mucha m6s afinidad por el H₂O₂ que la CAT, pero esta 6ltima tiene la ventaja de que no depende del reciclaje del GSH ni de consumo de NADPH. En general, bajas concentraciones de H₂O₂ estimulan la actividad de peroxidasa como la GSHPx, mientras que la CAT actúa a concentraciones superiores de H₂O₂ (Yu, 1994).

Superóxido dismutasa (SOD)

Es una metaloproteína presente en las células (citósol, mitocondrias, lisosomas, núcleo) y fluidos extracelulares. La biosíntesis de este enzima se encuentra fuertemente regulada por la concentración del sustrato sobre el cual actúa (Yu, 1994).

Se encuentra una SOD con Mn en el centro activo en las mitocondrias y otra con Cu y Zn en el citósol. Actúa eliminando $O_2^{\cdot-}$, acelerando su conversión a H_2O_2 (Fridovich, 1989). La actividad de este enzima determina la proporción relativa de los dos constituyentes de la reacción de Haber-Weiss en la que se generan radicales hidroxilo. Al encontrarse presente en todos los organismos aeróbicos y en la mayoría de compartimientos subcelulares, además de inactivarse a temperaturas superiores al resto de enzimas antioxidantes (Mei *et al.*, 1994), podría tener un papel importante de defensa frente al daño oxidativo.

➤ ***ANTIOXIDANTES QUE ROMPEN LA CADENA DE PROPAGACIÓN (antioxidantes primarios)***

Los antioxidantes que rompen la cadena de propagación de la peroxidación actúan eliminando radicales libres y suprimiendo la reacción en cadena (Figura 1.13). Pueden ser hidrosolubles como el ácido ascórbico, el ácido úrico, la cisteína y el glutatión o liposolubles como la vitamina E y el β -caroteno (Niki, 1987).

La mayoría son compuestos de tipo fenólico que actúan cediendo un H al radical peroxilo convirtiéndolo en hidroperóxido. El antioxidante queda en forma radicalaria bastante estable ya que el electrón desaparejado puede deslocalizarse en el anillo aromático de la estructura (Labuza, 1971; Giese, 1996).

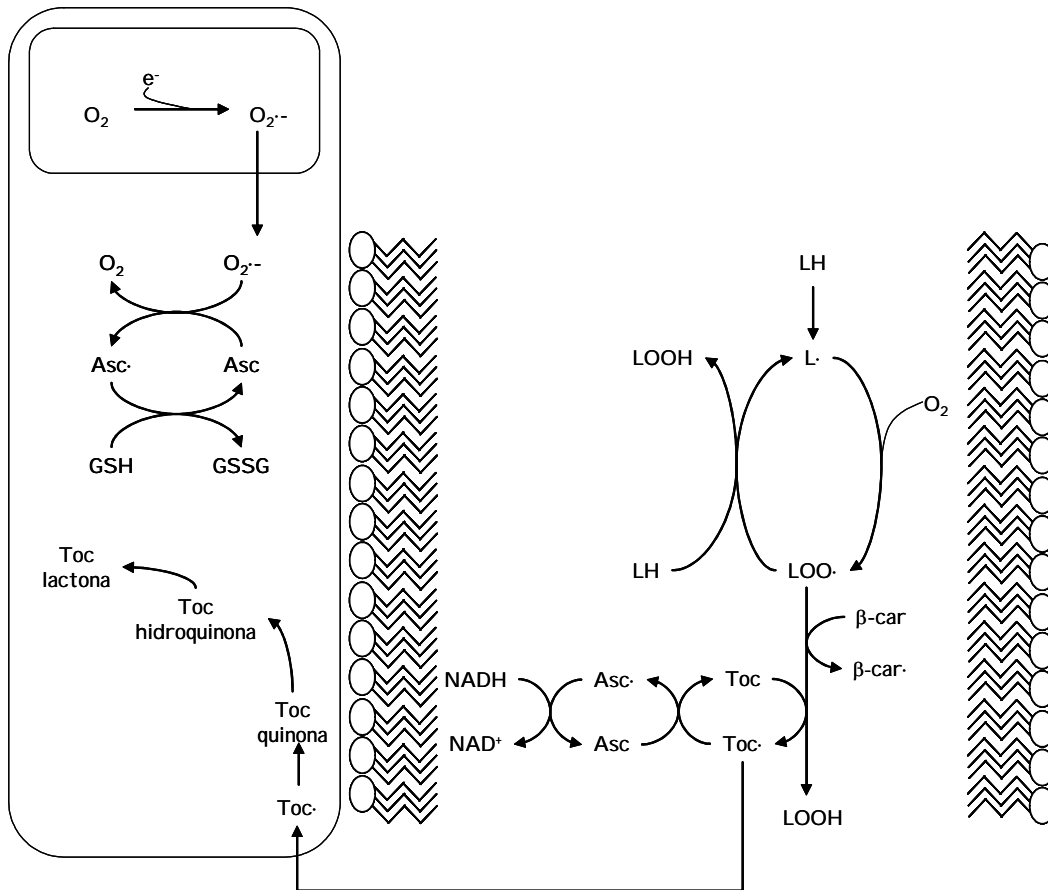


Figura 1.13 Eliminación de radicales libres por parte de antioxidantes primarios
(Adaptado de Aurosseau, 2002)

1.2.3.3.3.2 ADICIÓN DE ANTIOXIDANTES

Adición de antioxidantes en la carne o productos cárnicos

En muchos casos, la adición *postmortem* del antioxidante en la carne no resulta del todo efectiva ya que este no se incorpora en el lugar óptimo para bloquear la progresión de la oxidación (Mitsumoto *et al.*, 1993; Shaefer *et al.*, 1995; Higgins *et al.*, 1998). Además, para aumentar su eficacia, los antioxidantes deben adicionarse lo antes posible durante el proceso de manufactura del alimento.

Suplementación de antioxidantes en la dieta animal

La inclusión de antioxidantes en la dieta animal es un método efectivo para incrementar la estabilidad oxidativa del músculo, especialmente en aquellos productos en los que la adición del antioxidante en el producto final puede resultar dificultosa.

El efecto de la dieta administrada sobre el estatus antioxidante depende de distintos factores: de los nutrientes antioxidantes y prooxidantes aportados, de los aditivos y suplementos no nutricionales, de la absorción y biodisponibilidad de todos ellos y del procesamiento y almacenaje del alimento en cuestión. Así, algunos compuestos administrados no son propiamente antioxidantes, sin embargo, son nutrientes esenciales para el funcionamiento de sistemas antioxidantes endógenos. Un ejemplo son el Cu, Mn, Zn o Se, cofactores de sistemas enzimáticos antioxidantes (Papas, 1999).

Habitualmente, la suplementación de antioxidantes en la dieta de animales destinados a la producción cárnica tiene como finalidad garantizar la deposición de suficiente antioxidante en los músculos para una correcta protección frente a la degradación oxidativa. Por otra parte, la carne y productos cárnicos con antioxidantes incorporados podrían considerarse alimentos funcionales, es decir alimentos que además de su valor nutritivo pueden ser utilizados para prevenir o tratar ciertos desórdenes o enfermedades (Jiménez-Colmenero *et al.*, 2001b; Jiménez-Colmenero, 2001c).

En el caso de la vitamina E (α -tocoferol), uno de los antioxidantes más utilizados, la mejora de la estabilidad oxidativa de la carne de animales suplementados con este antioxidante se debe principalmente a la posición de las moléculas de vitamina E en el interior de las membranas celulares en una situación óptima para su actuación. En cambio, la adición *postmortem* exógena de vitamina E resulta en un contacto superficial extensivo y no intramembranoso (Arnold *et al.*, 1993). La suplementación dietética prolongada permite la incorporación del α -

tocoferol directamente en las membranas del tejido muscular y adiposo. En el caso de adicionar directamente la vitamina E en el producto cárnico hacen falta cantidades más elevadas para conseguir un efecto similar (Fernández-Ginés *et al.*, 2001).

1.3 UTILIZACIÓN DE ANTIOXIDANTES PARA EL CONTROL DE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE

Nuestra sociedad consume más de las dos terceras partes de los alimentos como productos procesados, lo que hace imprescindible el empleo de tecnologías, algunas altamente sofisticadas, para su producción, manipulación y posterior comercialización. Las mejoras conseguidas en las técnicas de procesamiento de los alimentos, en la refrigeración y en el envasado al vacío o en atmósferas modificadas han contribuido a retardar los procesos oxidativos, pero no siempre son aplicables de modo sencillo o suficientemente efectivas para controlarlos (Giese, 1996). La oxidación lipídica en carne y productos cárnicos puede controlarse o al menos minimizarse mediante el uso de antioxidantes (Gray *et al.*, 1996).

Los antioxidantes son moléculas orgánicas, de origen sintético o natural, capaces de evitar o retardar el desarrollo o progresión del deterioro oxidativo. Se les considera aditivos alimentarios por ser aportados a los alimentos intencionadamente, sin el propósito de cambiar su valor nutritivo sino con la finalidad de favorecer su conservación y mejorar su adaptación al uso al que se destinan (Fernández San Juan, 2002).

Teóricamente, una sustancia puede actuar como antioxidante de distintas formas: compitiendo por la unión al oxígeno, retardando la iniciación de la oxidación, bloqueando la propagación, inhibiendo catalizadores o estabilizando hidroperóxidos (Valenzuela y Nieto, 1996).

Según Coppen (1983), los requisitos que debería cumplir un antioxidante ideal son:

- Que su utilización sea segura
- Que no imparta olor, *flavor* ni color al alimento
- Que sea efectivo a bajas concentraciones
- Que sea fácil de incorporar al producto, que sea soluble en el mismo y que tenga una buena dispersión a través de él
- Que sea estable durante el procesamiento del alimento y capaz de estabilizar el producto final
- Que esté disponible a bajo coste

Debe tenerse en cuenta que una molécula que presenta propiedades antioxidantes *in vitro*, puede manifestar otros efectos en un sistema más complejo. La capacidad antioxidante de una sustancia será el resultado de sus propias características, así como de las interacciones con otros compuestos y de las condiciones en las que se utilice. En general, se asume que mediante la utilización de antioxidantes se obtendrá un beneficio, pero no siempre es así. Según las condiciones puede verse incrementado el daño oxidativo, por lo tanto los antioxidantes deberían de utilizarse sólo después de una completa apreciación de la situación (Azzi *et al.*, 2004). Además, las condiciones de aplicación, la reactividad química intrínseca de cada antioxidante, sus distintas localizaciones en el interior celular y sus múltiples interacciones hacen que el uso combinado de varios antioxidantes proporcione, en muchos casos, mayor eficacia frente a la oxidación (Hercberg *et al.*, 1998).

1.3.1 ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS

Los antioxidantes sintéticos se aplican a distintos productos manufacturados como fármacos, cosméticos y alimentos. La mayoría son derivados de estructuras fenólicas. Los más utilizados en alimentación son los siguientes (Giese, 1996; Valenzuela y Nieto, 1996; Cubero *et al.*, 2002):

Ésteres del ácido gálico

Se basan en la estructura trihidroxil del ácido gálico (ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico) (Figura 1.14). Tienen una potencia antioxidante relativamente alta, pero su uso no está muy extendido debido a su tendencia a unirse al hierro y por su sensibilidad al calor. Suelen aplicarse con sinérgicos, como el ácido cítrico, que actúan como quelantes del hierro.

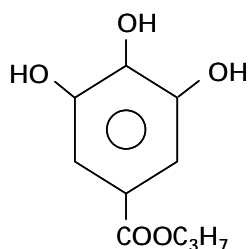
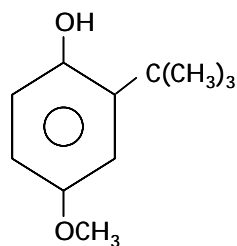


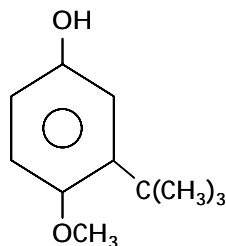
Figura 1.14 Estructura química del propil galato

Butilato hidroxianisol (BHA)

Es un sólido blanco, muy liposoluble y prácticamente insoluble en agua. Se trata de una mezcla de dos isómeros, 3-terbutil hidroxianisol y 2-terbutil hidroxianisol (Figura 1.15). En la composición predomina la forma con más capacidad antioxidante, llegando a ser un 90% del total. Es uno de los antioxidantes sintéticos más utilizados comercialmente debido a su alta eficacia, su estabilidad a las variaciones de pH y su acentuado sinergismo con otros antioxidantes.



3-terbutil-4-hidroxianisol



2-terbutil-4-hidroxianisol

Figura 1.15 Estructura química del BHA

Butilato hidroxitolueno (BHT)

Posee una estructura molecular (Figura 1.16) similar al BHA. Es un sólido blanco, cristalino, soluble en aceites e insoluble en agua. Es relativamente débil si no se combina con otros antioxidantes y se considera más efectivo para aplicaciones en grasas animales que en aceites vegetales.

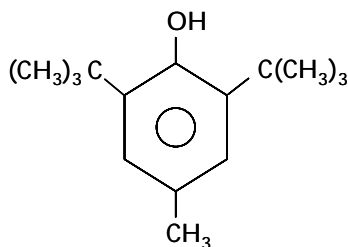


Figura 1.16 Estructura química del BHT

Tertbutilhidroxiquinona (TBHQ)

Es el antioxidante sintético más potente y efectivo para la mayoría de las grasas y aceites. Se utiliza para estabilizar aceites vegetales altamente insaturados. Se trata de un sólido blanco, cristalino, moderadamente soluble en aceite y prácticamente insoluble en agua (Figura 1.17).

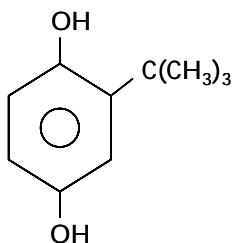


Figura 1.17 Estructura química de la TBHQ

El uso de estos antioxidantes está permitido a niveles que no excedan a los máximos permitidos respecto al contenido total de grasa o aceite.

Actualmente su uso se está cuestionando desde el punto de vista de su seguridad y se está investigando la potencial toxicidad de algunos de ellos en modelos biológicos (I to *et al.*, 1986; Thompson y Moldéus, 1988; Williams *et al.*, 1999).

1.3.2 ANTIOXIDANTES NATURALES

La aparición de trabajos sugiriendo los efectos potencialmente mutagénicos y carcinogénicos, aunque no suficientemente probados, de algunos antioxidantes sintéticos, en particular del BHA (E-320) y el BHT (E-321), junto con el aumento de la preocupación de los consumidores por la seguridad alimentaria, ha despertado un especial interés en la utilización de fuentes alternativas de compuestos naturales con propiedades antioxidantes (Moure *et al.*, 2001). Las sustancias antioxidantes naturales se consideran más seguras y deseables que las sintéticas, pues pueden poseer implícitamente efectos beneficiosos para la salud (Frankel, 1993).

El uso empírico de técnicas e ingredientes naturales como antioxidantes es muy antiguo. La tradición de los ahumados, las especias, la salazón... para preservar la carne, el pescado u otros alimentos ricos en grasas proviene de la observación del efecto que estos tratamientos tenían en retrasar la rancidez y la contaminación microbiológica. En la actualidad se conoce que un gran número de productos naturales, la mayoría de ellos compuestos fenólicos, manifiestan propiedades antioxidantes (Valenzuela y Nieto, 1996).

En la Tabla 1.3 se muestran las ventajas e inconvenientes de los antioxidantes naturales frente a los sintéticos.

Tabla 1.3 Ventajas e inconvenientes de los antioxidantes naturales y sintéticos¹

ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS	ANTIOXIDANTES NATURALES
Más económicos	Algunos de ellos caros
Amplia aplicación	Uso restringido
Actividad antioxidante media-alta	En algunos casos, amplio rango de actividad antioxidante
Seguridad cuestionada	Percibidos como inocuos
Prohibición de la utilización de algunos de ellos	Incremento del uso y expansión de las aplicaciones
Baja solubilidad en agua	En algunos casos, amplio rango de solubilidad
Bajo interés en alimentación	Alto interés en alimentación

¹Valenzuela y Nieto, 1996

A continuación se describen brevemente algunos de los antioxidantes naturales más comunes.

Flavonoides

Dentro de los polifenoles, los flavonoides constituyen un gran grupo de compuestos naturales derivados de la 2-fenilcromona o 2-fenilbenzopirona. Se encuentran en las células fotosintéticas, semillas, frutas y flores. Pueden ser tanto liposolubles como hidrosolubles y se localizan tanto dentro como fuera de la célula. Son potentes quelantes de metales. La posición y el nivel de sustitución de los grupos hidroxilo de su estructura son las claves de sus propiedades antioxidantes.

La estructura básica de los flavonoides es compartida por los tocoferoles (ver apartado 1.3.2.2.1). A diferencia de los tocoferoles que actúan en las últimas etapas de la peroxidación estabilizando radicales ya formados, los flavonoides capturan radicales implicados en las primeras etapas como el oxígeno singlete, el radical superóxido o el radical hidroxilo. Este distinto punto de actuación podría explicar los

efectos sinérgicos observados cuando se utilizan conjuntamente los dos antioxidantes (Fraga *et al.*, 1987; Robak y Gryglewski, 1988; Terao, 1999; Gutiérrez, 2002; Martínez-Flórez *et al.*, 2002).

Extracto de romero

El extracto de romero contiene cuatro compuestos con propiedades antioxidantes: carnosol, rosmanol, isorosmanol y rosmaridifenol. Se comercializa como aceite que contiene estos compuestos concentrados y que no presenta el olor ni el *flavor* característicos de la planta, los cuales modificarían las propiedades sensoriales de los productos a los que se aplicara. Se ha utilizado con éxito en diversos alimentos como salsas, mahonesas, carnes procesadas y pollo. En un estudio de Sánchez Escalante (2002) acerca de diversos sistemas antioxidantes para prolongar la vida útil de hamburguesas de vacuno envasadas en atmósfera modificada, el romero mostró una gran capacidad antioxidante además de cierto efecto antimicrobiano. A pesar de esto, algunos autores apuntan ciertos inconvenientes de su utilización como un elevado coste en comparación con otros antioxidantes y las cantidades que se requieren para que sea efectivo (Valenzuela y Nieto, 1996; Yu *et al.*, 2002).

Ácido dihidrolipoico (DHLA)

Recibe este nombre por su solubilidad en lípidos. Factor crítico en el metabolismo energético mitocondrial, es producido endógenamente aunque en condiciones de estrés fisiológico puede no generarse en proporciones adecuadas y por eso se clasifica como un nutriente esencial. El ácido dihidrolipoico es un fuerte reductor capaz de interaccionar con especies reactivas de oxígeno como los radicales hidroxilo, peroxilo y superóxido, el ácido hipocloroso y el oxígeno singlete. También es capaz de quelar iones metálicos y de regenerar el ascorbato que, a su vez, interviene en el reciclaje de la vitamina E (Kendler, 2002; Sen *et al.*, 1999).

Carnosina

Se trata de un dipéptido, formado por β -alanina e histidina, que se encuentra en el músculo esquelético. Sus propiedades antioxidantes se basan en su habilidad para actuar como quelante, como inactivador de radicales libres y como donador de H. Es hidrosoluble, por lo tanto puede actuar en la fase acuosa del músculo donde se encuentran muchos catalizadores de la oxidación lipídica. Además, protege el color de la carne inhibiendo la oxidación de la mioglobina. Mantiene su eficacia antioxidante en un rango de pH de 5.1 a 7.1, incluso después del tratamiento térmico, por lo que ofrece un buen potencial como antioxidante en carnes procesadas (Kendler, 2002; O'Neill *et al.*, 1998; Morrissey *et al.*, 1998; Gray *et al.*, 1996).

Glutación reducido (GSH)

Es un tripéptido (Glu-Cys-Gly) de distribución tisular variable. Puede actuar sobre el peróxido de hidrógeno y los radicales superóxido e hidroxilo. La función antioxidante se la facilita el grupo sulfidriilo de la cisteína. Interviene también en el reciclaje del ácido ascórbico y proporciona una fuente de electrones que permite a la glutación peroxidasa (GSHPx) descomponer peróxido de hidrógeno y peróxidos lipídicos (Decker y Xu, 1998; Chihuilaf *et al.*, 2002).

Ubiquinona 10 (Coenzima Q10)

Se sintetiza en la membrana mitocondrial interna donde actúa como transportador de electrones de la cadena respiratoria. También se localiza en los microsomas, aparato de Golgi y membranas plasmáticas, donde una parte se encuentra en forma reducida, como hidroquinona (CoQH₂). Esta forma puede actuar como donador de H por lo que se ha supuesto que podría funcionar como antioxidante. El inconveniente es que la ubiquinona 10 se oxida espontáneamente en contacto con el aire, generando la correspondiente quinona inactiva. Por este motivo podría ser un

potente antioxidante al utilizarla conjuntamente con una sustancia capaz de reducirla (Cadenas *et al.*, 1999; Kendler, 2002; Lambelet *et al.*, 1992).

Betalainas

No son flavonoides aunque contienen un grupo fenólico parcialmente glucosilado. Además contienen un grupo aminoacídico con una estructura similar a la etoxiquina que es un fuerte antioxidante utilizado para la estabilización de lípidos en alimentos animales. Se han observado efectos antioxidantes de las betalainas en sistemas modelo de peroxidación lipídica (Kanner *et al.*, 2001).

Estrógenos

El estradiol, el 17- β -estradiol y la 2-hidroxiestrone tienen capacidad antioxidante. También se ha observado que los estrógenos con un grupo hidroxilo en el anillo aromático tienen habilidad para regenerar el α -tocoferol a partir de su radical (Azzi y Stocker, 2000).

Ácido Úrico

Recientemente se ha demostrado su capacidad antioxidante tanto a nivel intra como extracelular. Según parece, actuaría previniendo la oxidación de la vitamina C y formando complejos con hierro y cobre (Chihuilaf *et al.*, 2002).

1.3.2.1 ÁCIDO ASCÓRBICO

El mecanismo antioxidante del ácido ascórbico (vitamina C) es complejo debido a sus múltiples funciones.

Por un lado, tiene capacidad de reducir Fe^{3+} a Fe^{2+} que, a su vez, puede descomponer hidroperóxidos lipídicos (LOOH) o peróxido de hidrógeno (H_2O_2), generando radicales libres alcoxilo ($\text{LO}\cdot$) o hidroxilo ($\text{HO}\cdot$), respectivamente. Por lo tanto, en presencia de hierro, peróxidos lipídicos y/o peróxido de hidrógeno, el ácido ascórbico puede actuar como prooxidante (Niki, 1987).

Por otro lado, el ácido ascórbico se considera el antioxidante hidrosoluble más importante en los fluidos extracelulares. Reacciona de forma directa con los radicales superóxido, hidroxilo y con hidroperóxidos lipídicos (Chihuilaf *et al.*, 2002). Además, participa en el reciclaje de la vitamina E, reduciendo el radical tocoferil y regenerando el α -tocoferol nativo (Niki, 1987; Kitts, 1997).

Cuando los radicales libres se generan en la fase acuosa, los antioxidantes hidrosolubles como la vitamina C actúan en primer lugar y cuando los radicales llegan a las membranas, actúa la vitamina E; en este caso, la vitamina E y la vitamina C tienen un efecto aditivo. En cambio, cuando los radicales libres se generan a nivel de la membrana, la vitamina E actúa sobre ellos en primer lugar y la función de la vitamina C consiste en regenerar el α -tocoferol, permitiendo así que este vuelva a actuar; en este caso, las dos vitaminas tienen un efecto sinérgico (Niki, 1987).

En general, el ácido ascórbico tiende a ser prooxidante a bajas concentraciones y antioxidante a concentraciones elevadas (Mahoney y Graf, 1986; Morrissey *et al.*, 1998).

1.3.2.2 VITAMINA E

El término vitamina E hace referencia a una familia de compuestos relacionados estructuralmente y que incluye todos los derivados tocol y tocotrienol que manifiestan la actividad biológica del α -tocoferol. Se han aislado ocho compuestos de fuentes naturales y tres se han sintetizado en el laboratorio (Jensen et al., 1998; Bramley *et al.*, 2000).

De forma general, el término vitamina E se utiliza para referirse al α -tocoferol. Es un compuesto minoritario, pero que está presente entre los constituyentes lipídicos de las membranas celulares y las lipoproteínas. A parte de sus múltiples efectos biológicos, tiene dos funciones importantes en las células (Wang y Quinn, 1999):

- Estabilizar la estructura de las membranas celulares
- Actuar como antioxidante evitando el daño causado por los radicales libres

1.3.2.2.1 ESTRUCTURA Y PROPIEDADES QUÍMICAS

En los trabajos de Wang y Quinn (1999), Bramley *et al.* (2000) y Azzi y Stocker (2000) se revisan detalladamente la estructura y propiedades químicas de la vitamina E.

Los tocoferoles son derivados del 2-metil-6-cromanol con una cadena isoprenoide saturada de 16 átomos de C unida al C2 la cual les facilita la incorporación y la retención en las membranas (Figura 1.18). Los tocotrienoles presentan tres dobles enlaces en esta cadena, en las posiciones C3', C7' y C11' (Figura 1.19).

Los tocoferoles presentan tres centros de asimetría en el C2, C4' y C8' de la cadena lateral. Los aislados de fuentes naturales presentan configuración R en los tres centros y se les da el prefijo 2-R, 4'-R, 8'-R o RRR-. Son más activos biológicamente que los sintéticos que son mezclas de los 8 posibles estereoisómeros y llevan el prefijo all-rac.

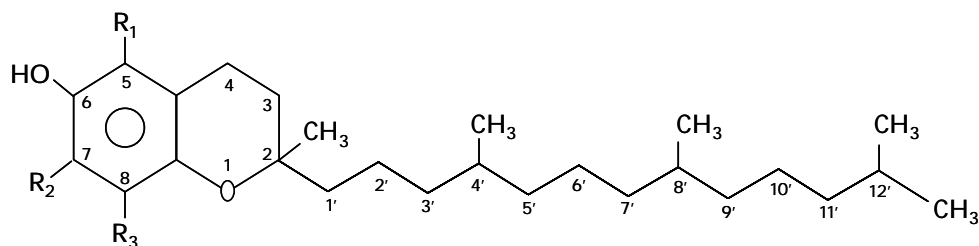


Figura 1.18 Estructura tocoles

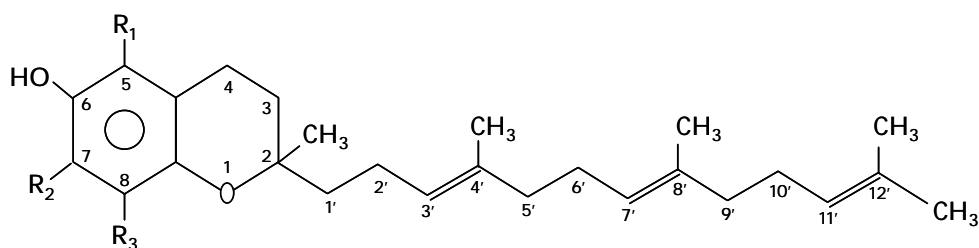


Figura 1.19 Estructura tocotrienoles

El grupo hidroxilo en posición 6 es esencial para la actividad antioxidante de la vitamina E, así como la presencia de como mínimo un grupo metilo en el anillo aromático. El α -tocoferol con tres grupos metilos (C5, C7 y C8) es el predominante en la mayoría de especies y el más activo biológicamente. El resto de homólogos (β , γ y δ) difieren en las posiciones de los grupos metilo en el anillo (Tabla 1.4).

Tabla 1.4 Posiciones de los grupos metilo en el anillo aromático de tocoferoles y tocotrienoles

	R1	R2	R3
α -tocoferol			
α -tocotrienol	CH ₃	CH ₃	CH ₃
β -tocoferol			
β -tocotrienol	CH ₃	H	CH ₃
γ -tocoferol			
γ -tocotrienol	H	CH ₃	CH ₃
δ -tocoferol			
δ -tocotrienol	H	H	CH ₃

En estado puro, la vitamina E es un líquido amarillo viscoso que se descompone fácilmente en presencia de luz, oxígeno, pH alcalino o trazas de iones metálicos. Es insoluble en agua y soluble en alcohol, disolventes orgánicos y aceites vegetales. Presenta intensidad de absorción UV relativamente baja aunque una moderada fluorescencia (Bramley *et al.*, 2000).

1.3.2.2 ABSORCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAJE

Bjorneboe *et al.* (1990), Azzi y Stocker (2000) y Bramley *et al.* (2000) describen la absorción y distribución de la vitamina E en el organismo de forma detallada.

La vitamina E es un nutriente esencial que no puede ser sintetizado por los animales por lo que su presencia en los tejidos de estos refleja la ingestión a través de la dieta. Debido a sus características liposolubles, la absorción de la vitamina E depende de la capacidad del animal para absorber y digerir la grasa de la dieta. La vitamina E se absorbe en la parte proximal del intestino, se emulsiona junto a los compuestos lipídicos de los alimentos y se incorpora a micelas que son absorbidas por difusión pasiva. Una vez absorbida, se incorpora a los quilomicrones (QM) que son almacenados y posteriormente secretados a la linfa desde donde alcanzan el torrente sanguíneo. Una vez en la sangre, la lipoproteína lipasa de las células endoteliales hidroliza los QM quedando como QM remanentes los cuales ceden la vitamina E a las células hepáticas. Por acción de la α -TTP (proteína de transferencia del α -tocoferol) la vitamina E se transfiere a las VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad) y se exporta desde el hígado. Una parte se transfiere a los tejidos periféricos, otra a las HDL (lipoproteínas de elevada densidad) y la mayoría, después del metabolismo de las VLDL, termina asociada a las LDL (lipoproteínas de baja densidad) que serán el principal vehículo de transporte hacia los tejidos periféricos (Figura 1.20). Recientemente se ha descubierto una proteína de unión a vitamina E de

amplia distribución tisular que podría ser la responsable de la regulación de los niveles de vitamina E en los tejidos.

En el hígado, el α -tocoferol puede oxidarse a α -tocoferil quinona, esta reducirse a hidroquinona que puede conjugarse con el ácido glucorónico y ser excretada por la bilis o bien degradada en los riñones a ácido tocoferónico que, una vez conjugado, será eliminado por la orina.

Debido a sus características hidrofóbicas, la vitamina E se localiza principalmente en los depósitos de grasa y las membranas celulares. Es esta localización preferencial la que hace que la vitamina E sea tan eficaz en su papel antioxidante y estabilizador de las membranas celulares (Wang y Quinn, 1999).

El hígado, músculo esquelético y tejido adiposo son los tejidos con más capacidad de acumulación de α -tocoferol (Bjorneboe *et al.*, 1990).

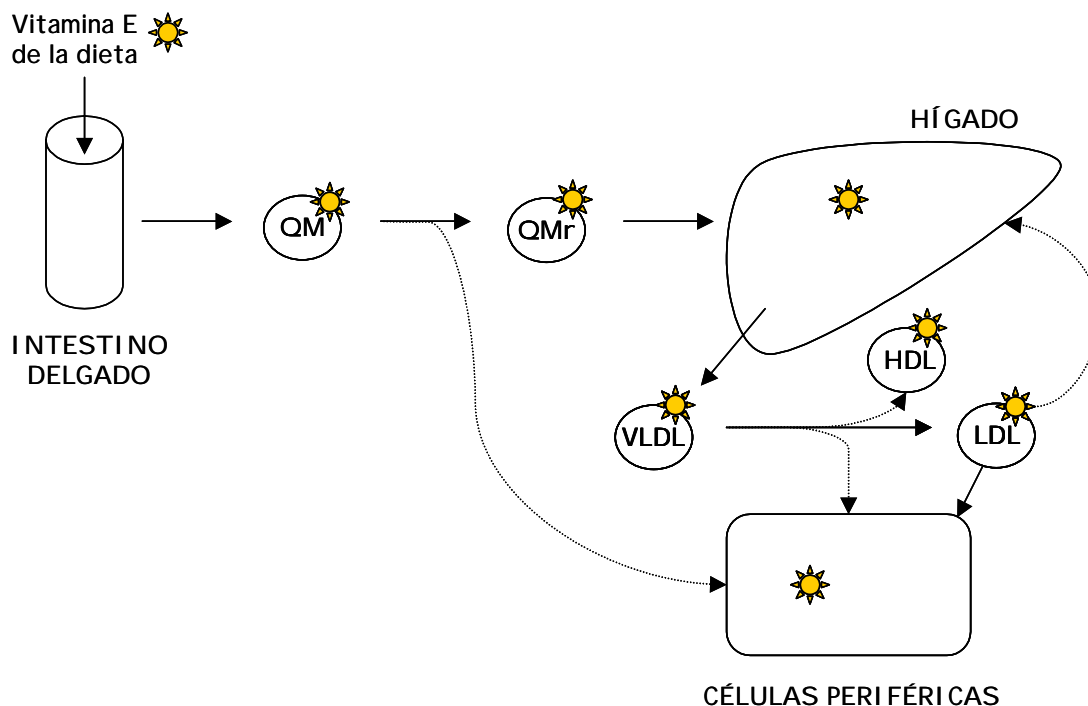


Figura 1.20 Esquema del transporte y distribución de la vitamina E en el organismo
(Adaptado de Bjorneboe *et al.*, 1990)

1.3.2.2.3 PROPIEDADES ANTIOXIDANTES

Las propiedades antioxidantes de la vitamina E han sido descritas por diversos autores (Wang y Quinn, 1999; Bramley *et al.*, 2000; Traber *et al.*, 1999).

La vitamina E es el principal antioxidante liposoluble capaz de romper la cadena de propagación de la oxidación lipídica. Protege principalmente los AGPI de los fosfolípidos de las membranas y de las lipoproteínas plasmáticas. A diferencia de muchos otros antioxidantes celulares que son enzimas o sistemas dependientes de enzimas, la reacción del α -tocoferol es no enzimática y rápida. Su principal papel consiste en capturar radicales peroxilo antes de que estos ataquen un sustrato lipídico diana y propaguen la peroxidación lipídica. Actúa cediendo el H del grupo hidroxilo del carbono 6 al radical peroxilo y se forma el radical α -tocoferoxil (Figura 1.21). Este radical es bastante estable ya que el electrón desaparejado puede deslocalizarse en el anillo aromático, evitando que reaccione con los AGPI de los fosfolípidos de membrana y bloqueando la reacción en cadena.

Las membranas contienen sólo alrededor de una molécula de α -tocoferol para cada 2000 fosfolípidos, pero a pesar de eso es extraordinariamente efectivo ya que los radicales peroxil reaccionan unas 10000 veces más rápido con la vitamina E que con los AGPI (Bramley *et al.*, 2000).

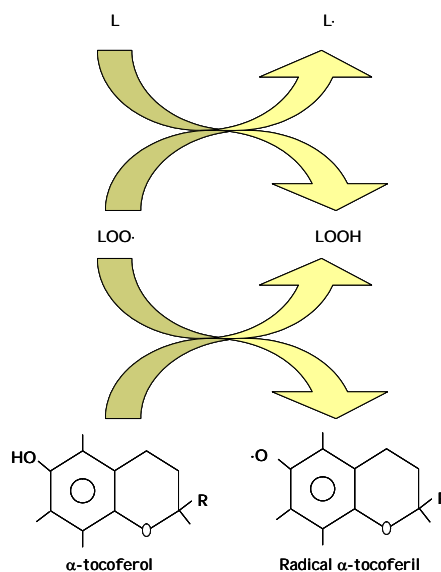


Figura 1.21 Mecanismo antioxidante de la vitamina E

La eficacia antioxidante de la vitamina E se ve incrementada por la regeneración de la vitamina a partir de su producto oxidado. El radical α -tocoferil puede ser reducido a vitamina E por el ácido ascórbico y el glutatión o bien puede generar una α -tocoferil quinona y reaccionar con otro radical de vitamina E formando un dímero (Figura 1.22).

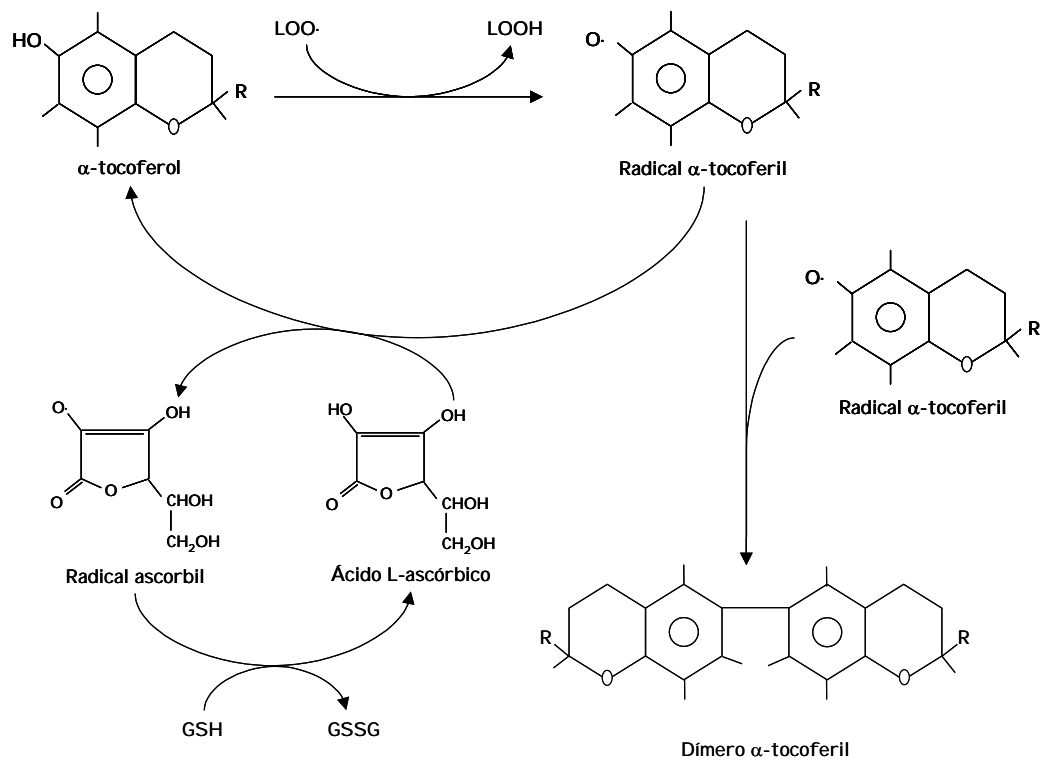


Figura 1.22 Reciclaje de la vitamina E por parte del ácido ascórbico

La suplementación de vitamina E a niveles supranutricionales en la dieta de animales destinados a la producción de carne, tiene como finalidad garantizar la deposición suficiente de α -tocoferol en el músculo para conseguir la protección de este frente a la degradación oxidativa. En este sentido, numerosos trabajos demuestran la eficacia de la suplementación de vitamina E en la dieta animal (Rojas *et al.*, 1996; Guidera *et al.*, 1997; Higgins *et al.*, 1999; Mercier *et al.*, 1998; Renerre *et al.*, 1999; Gatellier *et al.*, 2000; Mercier *et al.*, 2001; Phillips *et al.*, 2001; Russell *et al.*, 2001).

El incremento de la concentración tisular de α -tocoferol protege de la oxidación, no solamente a los lípidos de membrana, sino también a la mioglobina, importante para el mantenimiento de la estabilidad del color especialmente en carnes rojas (Liu *et al.*, 1995; Guidera *et al.*, 1997).

La acumulación de vitamina E es músculo-dependiente. La capacidad de almacenar α -tocoferol difiere según la composición del músculo. Se ha observado que los músculos esqueléticos con más capacidad oxidativa (ricos en fibras del tipo I y IIA) tienen más capacidad de almacenaje. Esto podría deberse a que estos tipos de músculos poseen más capilares sanguíneos por lo que el aporte de vitamina E es superior, contienen más mitocondrias y más membranas donde acumular la vitamina y el contenido lipídico también es superior, lo que supone más capacidad de almacenaje de la vitamina (Meydani *et al.*, 1997; Jensen *et al.*, 1998). El muslo de pavo o pollo contiene más cantidad de vitamina E endógena que la pechuga, pero en cambio es más susceptible a la oxidación lipídica. El α -tocoferol muscular es un factor importante que influye en la oxidación, pero deben tenerse en cuenta también el contenido en ácidos grasos poliinsaturados y en prooxidantes. La superior susceptibilidad del muslo a la oxidación se explica por su contenido absoluto superior en AGPI y en especies prooxidantes originadas a partir de la mioglobina y otras proteínas que contienen hierro (Galvin *et al.*, 1997; Mercier *et al.*, 1998; Renerre *et al.*, 1999; Gatellier *et al.*, 2000).

También existen diferencias entre especies respecto a la capacidad de acumulación de la vitamina E; así, los tejidos de pavo acumulan α -tocoferol más lentamente que los de pollo por lo que se requieren periodos de suplementación más largos o dosis más elevadas de antioxidante (Morrissey *et al.*, 1998; Gatellier *et al.*, 2000).

Se ha observado que la concentración de vitamina E en el tejido animal está correlacionada positivamente con el nivel de vitamina E de la dieta y con la duración del período de suplementación (Jensen *et al.*, 1998). La dosis y el tiempo de

administración en la dieta de los animales dependerá del objetivo que se persiga: estabilizar frente a la oxidación o aumentar el depósito de vitamina E en la carne (utilización como ingrediente funcional). Además, los niveles de vitamina E deben ajustarse según la susceptibilidad frente a la oxidación, es decir con relación al animal, músculo y tipo y nivel de grasa incorporada a la dieta (Galvin *et al.*, 1997; Mercier *et al.*, 1998; Renerre *et al.*, 1999; Gatellier *et al.*, 2000; Mercier *et al.*, 2001; Barroeta y Cortinas, 2002a).

La forma comercial de vitamina E utilizada en nutrición animal es el éster acetato del all-rac- α -tocoferol (all-rac- α -tocoferil acetato). Los esteres son resistentes a la oxidación, por este motivo no manifiestan actividad antioxidante. En el intestino delgado son hidrolizados por la acción de esterasas pancreáticas liberando el α -tocoferol que sí posee actividad antioxidante. El α -tocoferol incorporado al tejido muscular no se degrada durante el almacenaje ni la cocción de la carne por lo que su efecto protector se mantiene (Jensen *et al.*, 1998).

1.3.2.3 CAROTENOIDES

Los carotenoides son pigmentos naturales liposolubles que se encuentran en numerosas plantas y animales. Aunque su principal función es actuar como pigmentos antena en la fotosíntesis recogiendo las longitudes de onda que no son absorbidas por las clorofilas, tienen otras funciones como la protección frente al daño oxidativo. Son sintetizados en los aparatos fotosintéticos de las plantas superiores. Los animales y los humanos no son capaces de sintetizarlos y los absorben a través de la dieta (Maestro Durán y Borja Padilla, 1993; Krinsky, 1993; Stahl y Sies, 1999; Olmedilla, 2002).

1.3.2.3.1 ESTRUCTURA Y PROPIEDADES QUÍMICAS

Su estructura básica consiste en un esqueleto tetraterpeno que puede estar ciclado en uno o los dos extremos de la molécula. Los carotenoides compuestos solo

por átomos de carbono e hidrógeno reciben el nombre de carotenos mientras que los que contienen algún grupo funcional con oxígeno se conocen como xantofilas. Un elemento estructural común en los dos grupos es el extenso sistema de dobles enlaces conjugados responsable de su color y de algunas de sus funciones biológicas.

1.3.2.3.2 β -CAROTENO

El β -caroteno no tiene las características estructurales comunes de los antioxidantes capaces de romper la cadena de propagación de la oxidación lipídica (Figura 1.23)

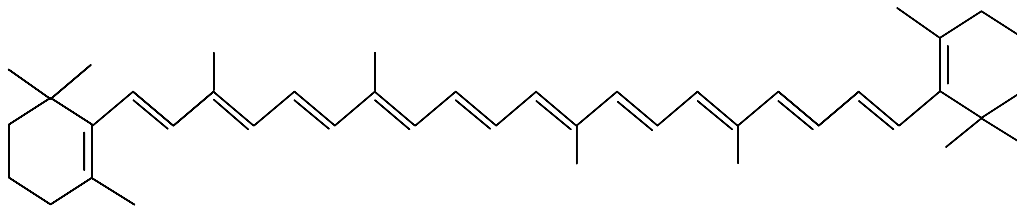


Figura 1.23 Estructura del β -caroteno

De hecho, el extenso sistema de dobles enlaces conjugados de la molécula le da un carácter prooxidante y lo hace muy susceptible al ataque por parte de radicales peroxilo ($\text{ROO}\cdot$). Al reaccionar con estos se genera un radical ($\beta\text{-car}\cdot$) que reacciona rápida y reversiblemente con oxígeno dando lugar a un nuevo radical peroxilo ($\beta\text{-car-OO}\cdot$) (Figura 1.24). De todas formas, la tasa de oxidación es dependiente de la presión parcial de oxígeno dada la reversibilidad de la reacción. Así, cuando la presión parcial de oxígeno es baja, la reacción está desplazada hacia la izquierda por lo que disminuye la concentración de radicales y disminuye la oxidación en el sistema (Niki, 1987; Burton, 1989).

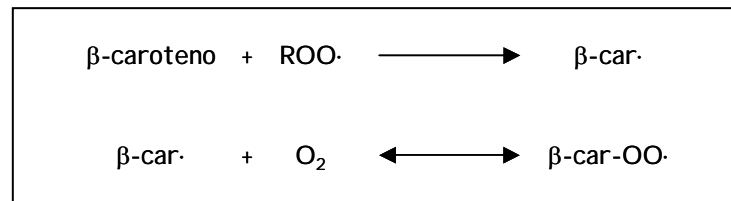


Figura 1.24 Mecanismo de acción del β -caroteno

Hay dos características que hacen que el β -caroteno pueda manifestar actividad antioxidante:

- Su reactividad; tiene potencial para competir incluso en concentraciones bajas por los radicales peroxilo del sistema.
- La estabilidad del radical $\beta\text{-car}\cdot$; a presiones parciales de oxígeno suficientemente bajas, este radical predomina frente al radical peroxilo y puede ser eliminado del sistema mediante la reacción con otro radical peroxilo, dando lugar a un producto inactivo (Burton, 1989). El β -caroteno podría complementar el papel antioxidante de la vitamina E ya que esta es efectiva a presiones parciales de oxígeno superiores.

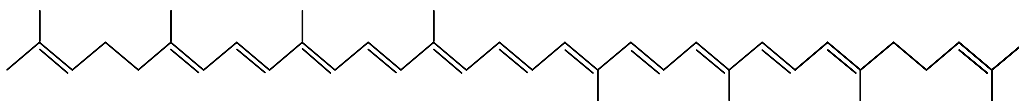
Por el contrario, a altas presiones parciales de oxígeno, el β -caroteno genera especies radicalarias capaces de promover la oxidación (Maestro Durán y Borja Padilla, 1993).

Estudios de suplementación de este carotenoide en la dieta animal ponen de manifiesto que el β -caroteno puede manifestar capacidad antioxidante o prooxidante en función de la concentración a la que se encuentre y del tipo de grasa suministrada en la dieta (Ruiz *et al.*, 1999; Maraschiello, 1998).

1.3.2.3.3 LICOPENO

El licopeno es un pigmento natural sintetizado por plantas y microorganismos que da color a frutos rojos como los tomates o la sandía. Es el carotenoide más prevalente en la dieta occidental y el más abundante en el plasma humano. Los tomates y los alimentos que lo incluyen como ingrediente son las principales fuentes de licopeno en la dieta (Stahl y Sies, 1996).

Se trata de un carotenoide acíclico, de fórmula molecular $C_{40}H_{56}$, cuya estructura contiene 11 dobles enlaces conjugados (Figura 1.25). Como polieno altamente conjugado es particularmente sensible a la degradación oxidativa. Se ve afectado por los mismos factores físicos y químicos que degradan al resto de carotenoides (temperaturas elevadas, exposición a la luz, oxígeno o pH extremos) (Nguyen y Schwartz, 1999).



1.25 Estructura del licopeno

Es un compuesto extremadamente hidrofóbico y se encuentra en el interior de las membranas celulares y en las lipoproteínas. De forma natural lo encontramos en configuración all-trans, que es la forma termodinámicamente más estable, pero que sin embargo, no es absorbida fácilmente por el organismo. Mediante el procesamiento y el tratamiento térmico sufre isomerización trans-cis pasando a ser más biodisponible. La biodisponibilidad depende también de la presencia de otros componentes de la dieta como la grasa, otros carotenoides y determinadas vitaminas y minerales (Rao y Agarwal, 1999).

A diferencia de otros carotenoides, no posee el anillo β -ionona en su estructura, por lo que no manifiesta actividad provitamina A. A pesar de esto, ocupa

un lugar central en la ruta de biosíntesis de los carotenoides y posee interesantes propiedades biológicas como la de supresor de la proliferación celular o inductor de la comunicación intercelular.

Se ha observado que es el "inactivador" de oxígeno singlete más eficaz de todos los carotenoides. También es capaz de inactivar peróxido de hidrogeno. Se ha especulado que esta elevada reactividad en comparación con otros carotenoides podría ser debida a la presencia de dobles enlaces no conjugados en su estructura. Es precisamente esa habilidad para actuar como antioxidante inactivando radicales libres, la clave de sus efectos beneficiosos sobre la salud humana. Diversos estudios epidemiológicos relacionan la ingestión de licopeno en la dieta con la disminución de la incidencia de determinados cánceres, especialmente el de próstata (Rao y Agarwal, 1999). A pesar de eso, algunos estudios proponen que el licopeno, al igual que el β -caroteno, puede actuar tanto como antioxidante como prooxidante (Anguelova y Warthesen, 2000; Yeh y Hu, 2000).

1.4 INFLUENCIA DE LA OXIDACIÓN LIPÍDICA Y LA UTILIZACIÓN DE ANTIOXIDANTES EN LA CALIDAD DE LA CARNE

El término "calidad" es un término relativo, comparable, tremendamente subjetivo y por tanto es difícil consensuar una definición (Hernández, 2002). El concepto de calidad ha ido evolucionando dentro de la industria productora de alimentos de origen animal, siguiendo la evolución del conocimiento científico, los avances en los métodos analíticos y las expectativas de los consumidores. El consumidor ha jugado el papel principal en las distintas definiciones que se han dado del término "calidad", entre otras, *totalidad de características que hacen que un producto sea adecuado para satisfacer unas necesidades, grado de excelencia a un precio razonable...* Debido al aumento de la utilización de aditivos alimentarios, fármacos, nuevos ingredientes... a esta definición se le han ido incorporando cada vez más conceptos relacionados con la salud del consumidor, como la seguridad del alimento, el bajo contenido energético o la presencia de vitaminas y minerales (Aumaitre, 1999). Como consecuencia de eso, durante la década de los 90 el concepto de calidad en los productos alimentarios de origen animal se redefinió como "calidad total" (Nardone y Valfrè, 1999), la cual implicaba:

- Calidad higiénica, es decir ausencia o niveles inferiores a los máximos permitidos de contaminación microbiana, metales pesados, patógenos, pesticidas, micotoxinas o fármacos.
- Calidad nutricional y composicional, relacionada con una adecuada composición lipídica y proteica, así como la ausencia de compuestos alergénicos.
- Calidad sensorial, relacionada con el *flavor*, textura y color deseables.
- Calidad tecnológica, referente a un correcto procesamiento, almacenaje y distribución.

En la figura 1.26 se muestran los principales atributos de calidad para un producto alimentario.



Figura 1.26 Principales atributos de calidad para un producto alimentario
(Northcutt, 2003)

Fijándonos en la calidad alimentaria, las principales propiedades sensoriales por las cuales los consumidores juzgan la calidad de la carne y los productos cárnicos son el aspecto, la textura y el *flavor* (Chambers y Bowers, 1993; Gray *et al.*, 1996).

1.4.1 INFLUENCIA SOBRE EL FLAVOR

La carne es un alimento apreciado por su valor nutricional y por sus propiedades sensoriales, siendo el *flavor* uno de los atributos sensoriales más destacables.

Según la norma UNE 87-001-94, equivalente a la ISO 5492:1992, el *flavor* o sensación olfato-gustativa se define como el conjunto complejo de propiedades

olfativas y gustativas que se perciben durante la degustación y que puede estar influenciado por las propiedades táctiles, térmicas, dolorosas y por efectos cinestésicos (sensaciones resultantes de ejercer una presión sobre una muestra mediante un movimiento muscular) (UNE, 1994).

El desarrollo del *flavor* de la carne se ve influenciado tanto por factores *antemortem* (especie, sexo, edad, composición de la dieta animal...) como por factores *postmortem* (procesamiento, cocción, almacenamiento..), siendo estos últimos los más destacables en la mayoría de los casos (I dolo y Spanier, 1994).

El *flavor* de la carne cruda es mínimo, tiene sólo un ligero sabor a sangre. Es durante la cocción cuando se producen complejas reacciones entre precursores que interaccionan y se degradan generando los compuestos responsables del *flavor* característico de la carne cocida. Los precursores del *flavor* de la carne son por un lado compuestos no volátiles (péptidos, aminoácidos, ácidos orgánicos, azúcares, nucleótidos...) y por el otro compuestos volátiles derivados principalmente de la reacción de Maillard y de la peroxidación lipídica. Se ha sugerido que en los tejidos grasos se encontrarían los precursores del *flavor* característico de cada especie mientras que en los tejidos magros estarían los responsables del *flavor* denominado "meaty" o cárnico, característico de todas las carnes cocidas (I dolo y Spanier, 1994; Mottram, 1998).

Desviaciones de los *flavores* habituales en la carne o productos cárnicos pueden provocar el rechazo por parte del consumidor. Existen dos tipos de desviaciones: *off-flavors* y *taints*. *Off flavor* es el término utilizado para describir una sensación olfato-gustativa no característica, generalmente asociada con el deterioro o transformación de la muestra mientras que *taint* hace referencia a una sensación olfato-gustativa ajena al producto en cuestión, producida por causas externas (UNE,1994).

Según Gray *et al.* (1996) los *off-flavors* o *taints* de la carne pueden clasificarse en distintos tipos:

- Rancidez oxidativa y/o *warmed-over flavor*
- *Off-flavors* específicos de la especie animal
- *Off-flavors* derivados del régimen alimenticio del animal
- *Off-flavors* asociados a la condición sexual del animal
- *Taints* procedentes de un entorno contaminado
- *Taints* inducidos por el procesamiento de la carne
- *Taints* resultantes de contaminación microbiana

A pesar de que el principal factor limitante en la vida de la carne fresca es la carga microbiana, la oxidación lipídica de los ácidos grasos insaturados de los fosfolípidos de las membranas musculares es una de las principales causas del deterioro de la calidad de la carne y del desarrollo de *off-flavors*.

Los hidroperóxidos, productos primarios de la oxidación lipídica, son inodoros, pero su descomposición genera una mezcla de compuestos de bajo peso molecular (alcanos, aldehídos, cetonas, alcoholes, ésteres y ácidos), algunos de los cuales tienen olor y *flavor* indeseables. La contribución de cada uno de ellos al *flavor* de la carne dependerá de la concentración a la que se encuentren y de su umbral de percepción. Algunos de ellos, como los aldehídos, tienen umbrales muy bajos y a concentraciones inferiores a 1 µg/Kg ya son detectables (Gray y Monahan, 1992).

El término *warmed over flavor* (WOF) fue introducido por Tims y Watts en el año 1958 para describir el rápido desarrollo de un *flavor* oxidado en las carnes recalentadas después de haber sido cocidas y refrigeradas, el cual difería de la rancidez que normalmente no es aparente hasta que la carne ha sido almacenada durante varias semanas o meses. De todos modos, el WOF también se desarrolla en carne cruda cuando la estructura muscular está disgregada y se incorpora aire. Debido a que la oxidación lipídica se considera la principal responsable del WOF y la rancidez, los dos términos podrían parecer intercambiables pero en realidad no lo son, a pesar de que a menudo se utilizan indistintamente (Love, 1988). Posteriormente se desarrolló un término más general, "*Meat flavor deterioration*" (MFD), para describir

la serie compleja de reacciones químicas que contribuyen al incremento de *off-flavors* oxidativos y al deterioro simultáneo del *flavor* deseable en la carne.

Algunos autores sugieren que el WOF solo puede describirse en detalle desde un punto de vista sensorial mediante la combinación de varios descriptores (Byrne *et al.*, 1999a; Byrne *et al.*, 1999b; Byrne *et al.*, 2001; Byrne *et al.*, 2002).

El WOF y la rancidez son considerados un problema importante de calidad en la industria cárnica dirigida a la elaboración y comercialización de carnes y productos cárnicos precocinados y reestructurados, que son particularmente susceptibles a la oxidación lipídica y se caracterizan por el rápido deterioro de su calidad asociado al desarrollo de *off-flavors*.

1.4.2 INFLUENCIA SOBRE LA TEXTURA

La textura es un factor importante en la apreciación sensorial de un alimento. Algunos estudios demuestran que "eliminando" la textura característica de los alimentos, sólo un 40% de estos pueden ser identificados correctamente a partir del *flavor* (Wilkinson *et al.*, 2000).

La textura de la carne se ve influida por la raza del animal, el sexo, la edad y factores de cría. Los cambios producidos durante la conversión del músculo en carne afectan también de forma importante a la textura (Barton-Gade *et al.*, 1988; Lyon, 2004).

Las proteínas tienen una marcada influencia sobre las características físicas de los alimentos por lo que cambios oxidativos en estas biomoléculas pueden tener efectos significativos en la integridad del alimento. Hasta hace poco, los cambios oxidativos se correlacionaban en general con la pérdida de calidad, pero en los últimos años se ha puesto de manifiesto que la oxidación proteica puede mejorar propiedades texturales de algunos alimentos. Sin embargo, se debe tener en cuenta también que

como resultado de la reacción entre lípidos oxidados y proteínas, pueden provocarse entrecruzamientos entre estas moléculas que causen una disminución de la solubilidad de proteínas o incluso su desnaturalización, lo que afectaría negativamente a la textura de la carne (Kanner, 1994).

1.4.3 INFLUENCIA SOBRE EL COLOR

El color de la carne fresca es una de las principales características por las cuales los consumidores juzgan su frescor y calidad y, en base a ello, la aceptan o rechazan. Pruebas de análisis sensorial de alimentos a los que se había modificado el color sin que se viera afectada ninguna otra característica, provocaban que los catadores apreciaran cambios de *flavor* en el alimento que en realidad no existían (Barbut, 2002b). Esto demuestra hasta que punto los consumidores dan importancia al color en la apreciación de la calidad del alimento.

El color de la carne se debe al estado oxidativo del pigmento mioglobina. La oxigenación de la mioglobina, responsable del color púrpura de la carne roja recién cortada, da lugar a la oximioglobina que proporciona a la carne un color rojo cereza brillante muy atractivo para el consumidor. Como consecuencia de la oxidación de la oximioglobina se genera metamioglobina que da una pigmentación marrón-grisácea (Kanner, 1994; Liu *et al.*, 1995; Barbut, 2002b). Especies radicalarias producidas durante la oxidación lipídica pueden promover la oxidación de estos pigmentos (Gray *et al.*, 1996). Diversos estudios muestran la eficacia de distintos antioxidantes en el mantenimiento de la estabilidad del color de la carne (Chan *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 1999; Fernández-Ginés *et al.*, 2001; Robbins *et al.*, 2003).

La carne de ave difiere de las carnes rojas en la cantidad de pigmentos y en que en muchas ocasiones se vende con la piel intacta por lo que su apariencia se verá afectada por el color de la piel. La pigmentación de la piel depende mayoritariamente de dos factores; el primero es la capacidad genética del animal para producir el pigmento melanina y depositarlo en la dermis o epidermis; el segundo es la habilidad

para absorber y depositar pigmentos carotenoides de la dieta (Barton-Gade *et al.*, 1988; Barbut, 2002b).

El color de la carne se ve afectado por factores como la edad, sexo, raza, dieta, grasa intramuscular, contenido en humedad o nivel de estrés en el momento del sacrificio. Las diferencias básicas de color entre músculos de un mismo animal son resultado de la proporción relativa de fibras musculares blancas y rojas. La pechuga está compuesta principalmente de fibras blancas con bajo contenido en mioglobina y por lo tanto tiene un color claro. El muslo, en cambio, está compuesto principalmente de fibras rojas y presenta un color más oscuro que la pechuga. En general, el porcentaje de mioglobina en los músculos varía según la especie, sexo y edad del animal. Así, los músculos de animales más jóvenes son mas claros que los de animales maduros (Barbut, 2002b). Además pueden encontrarse defectos que afecten el color de la carne como la presencia de hemorragias relacionadas con heridas musculares o la decoloración de la carne almacenada desprotegida, cubierta con un material inadecuado y/o expuesta a la luz (Barbut, 2002b).

1.4.4 EVALUACIÓN SENSORIAL DE CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS

A pesar de que en los últimos años el efecto de diversos antioxidantes en la estabilidad oxidativa de la carne ha sido extensamente estudiado, pocos trabajos han determinado el efecto de estos antioxidantes en las propiedades sensoriales de la carne (Igene *et al.*, 1985; De Wiinne y Dirinck, 1996; Sheldon *et al.*, 1997; Bou *et al.*, 2001; Ruiz *et al.*, 2001; Mielnik, 2002).

El grado de oxidación lipídica de la carne y productos cárnicos se determina habitualmente mediante métodos químicos, siendo el test del ácido tiobarbitúrico (TBA) el más utilizado y considerado un buen indicador de la rancidez (Fernández *et al.*, 1997). Sin embargo, si el objetivo es determinar de forma simultánea algunas características de calidad de la carne como el *flavor*, textura y color, tal y como

serán percibidos por el consumidor es necesario recurrir al análisis sensorial (Love, 1988).

El análisis cuantitativo descriptivo (QDA) es una técnica que permite la caracterización de los atributos sensoriales de un alimento percibidos por un panel de catadores entrenados, en términos cuantitativos (Stone *et al.*, 1974). Cuando se investigan diferencias entre tratamientos experimentales, permite determinar el efecto de dichos tratamientos en los atributos sensoriales de las muestras (Bett, 1993).

Para llevar a cabo el análisis se debe tener en cuenta que la carne y productos cárnicos son poco homogéneos por lo que la utilización de un diseño experimental apropiado es de especial importancia para reducir el error experimental y obtener una información válida y reproducible, objetivo básico del análisis sensorial analítico (Guerrero, 2002).

- Previamente a las sesiones de cata es necesaria la elección de los descriptores que posteriormente se utilizaran para la evaluación sensorial. Es muy importante la utilización de definiciones claras y precisas para todos y cada uno de los descriptores con el fin de unificar criterios, ya que de otro modo dos paneles distintos podrían estar describiendo una misma característica mediante términos diferentes (Bett, 1993).
- Posteriormente es necesario un periodo de entrenamiento mediante el cual los catadores se familiaricen con los atributos a valorar (Love, 1988).
- El ensayo debe realizarse en condiciones normalizadas en cuanto al lugar (UNE, 1979) y al horario de la cata. También es necesario estandarizar la cantidad de muestra a degustar y el contenedor en el que esta será presentada. Es importante que la preparación de la muestra sea lo más uniforme posible para asegurarse que la variación entre muestras no es debida al método de

preparación. Además, las muestras deben servirse inmediatamente después de ser preparadas para evitar posibles cambios (Bett, 1993).

- Como norma general, debemos intentar eliminar o controlar mediante un diseño adecuado todos aquellos factores externos al producto que puedan aumentar aún más la variabilidad que ya obtendremos como consecuencia de la heterogeneidad del producto a evaluar. Lo más habitual, en el caso de la carne, es que varios catadores evalúen la misma pieza de carne por lo que un diseño adecuado debe tener en cuenta la zona degustada por cada catador ya que pueden variar considerablemente las propiedades sensoriales según la zona (Guerrero, 2000).

- Otro aspecto importante a tener en cuenta es el efecto del orden de presentación de las muestras que también, mediante el diseño experimental, se debe bloquear (Macfie *et al.*, 1989).

1.5 ADMINISTRACIÓN DE ANTIBIÓTICOS EN PRODUCCIÓN ANIMAL

Tras las recientes crisis alimentarias registradas, la sanidad y la nutrición animal están siendo puntos de control primordiales dentro de la Unión Europea. Ambos puntos son el origen de la seguridad alimentaria que exigen y reclaman tanto el sector como los consumidores de productos de origen animal.

Como resultado de la constante preocupación por prevenir las enfermedades infecciosas dentro de la granja, se está utilizando la tecnología más avanzada para la cría de las aves, incluyendo el empleo de sustancias de acción farmacológica, entre ellas, los antibióticos.

Los antibióticos son sustancias químicas producidas por diferentes especies de microorganismos que suprimen el crecimiento de otros microorganismos y pueden, eventualmente, destruirlos. Hoy en día, antibióticos naturales, pero también semisintéticos y sintéticos están a nuestra disposición. En nutrición animal son considerados aditivos y pueden administrarse con dos fines claramente diferenciados (Cancho Grande *et al.*, 2000):

- Con finalidad terapéutica como tratamiento de una infección documentada y/o con finalidad profiláctica para prevenir una infección durante un procedimiento determinado, por ejemplo en los ciclos iniciales de crecimiento de animales, especialmente sensibles a agentes infecciosos particulares.
- Como promotores de crecimiento animal, favoreciendo el control de la flora bacteriana, lo cual comporta un aumento del aprovechamiento de los nutrientes y un aumento considerable de peso del animal. La lista de antibióticos aptos como promotores de crecimiento animal se ha visto reducida durante los últimos años. Actualmente quedan cuatro antibióticos legalizados: la monensina, la salinomicina, el flavofosfolipol y la avilamicina.

Estos cuatro antibióticos permiten el control de los gérmenes patógenos Gram positivo que pueden colonizar el intestino de los animales, lo cual facilita que el animal pueda absorber y aprovechar mejor los nutrientes que recibe a través de la dieta.

1.5.1 PROBLEMÁTICA

La utilización incorrecta de antibióticos en sanidad animal genera una doble problemática. Por un lado, el incremento de los casos de resistencias a medicamentos antimicrobianos administrados en medicina humana que ha originado una fuerte controversia sobre la utilización de estos fármacos en animales destinados al consumo. España se encuentra entre los países con mayor incidencia de bacterias resistentes, entre ellas algunas cepas de *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Pasteurella spp.* y *Escherichia Coli*. Algunos investigadores postulan que la administración de antibióticos como promotores de crecimiento en animales destinados al consumo permite la aparición y selección de bacterias resistentes en la cadena alimentaria que se incorporan al organismo humano (Cancho Grande *et al.*, 2000). Así por ejemplo, *Campylobacter spp.* es una bacteria que provoca diarreas en el hombre. La infección en humanos se produce principalmente a través de los alimentos, sobre todo de pollo. Últimamente se ha detectado un incremento notable de la resistencia a fluoroquinolonas en bacterias aisladas tanto de pollos como de humanos. Aunque es difícil demostrar la transferencia de bacterias resistentes a antibióticos desde los animales al hombre, según algunos autores, el amplio uso de fluoroquinolonas en pollos y la casi exclusiva ruta de transmisión de *Campylobacter* de pollos al hombre sugieren que dicha resistencia podría ser debida al uso del antibiótico enrofloxacin en los animales (McDermott *et al.*, 2002; Orden y de la Fuente, 2001). Otros consideran que estos casos de resistencia se deben principalmente al uso excesivo de estos fármacos en humanos. Sea cual sea el motivo, la resistencia a las quinolonas es altamente indeseable ya que estos antimicrobianos son muy eficaces en el tratamiento de algunas enfermedades graves producidas por bacterias multiresistentes en humanos, como infecciones complicadas del tracto

urinario, infecciones gastrointestinales, enfermedades de transmisión sexual, infecciones del tracto respiratorio o osteomielitis crónica (Orden y de la Fuente, 2001).

Durante los últimos años el amplio uso de antibióticos, tanto en humanos como en animales destinados al consumo, dificulta la obtención de conclusiones sobre el origen de estas resistencias pero, tal y como apunta la Organización Mundial de la Salud, el uso adecuado de estos fármacos en animales debe tener la máxima prioridad.

Por otro lado, la administración de antibióticos a animales destinados a la producción de alimentos puede dejar residuos en los productos alimenticios obtenidos a partir de los animales tratados (Casademont y García Regueiro, 1999). Los residuos son sustancias farmacológicamente activas que permanecen en el alimento. La localización de estos es variable, comprendiendo el tejido muscular, la grasa, el hígado o el riñón (Cancho Grande *et al.*, 2000). Por este motivo resulta necesario establecer límites máximos residuales (LMR) que se definen como aquella concentración de la sustancia en los tejidos comestibles del animal que al ser ingerida por el hombre no constituye ningún riesgo para su salud (Anadón y Martínez-Larrañaga, 1999). Los LMR se establecen previa evaluación científica del Comité de Medicamentos Veterinarios de acuerdo con el procedimiento comunitario de fijación de los límites máximos residuales que se estableció en el Reglamento CE R2758/99, modificación del 23/12/99 del R2377/90. Las sustancias utilizadas en medicamentos veterinarios respecto a las cuales se han establecido los LMR figuran en el anexo I de este reglamento. Para cada sustancia farmacológicamente activa se especifica el residuo marcador que puede ser la propia sustancia y/o derivados o metabolitos de esta, las especies animales a las que puede administrarse el medicamento y por lo tanto donde pueden encontrarse los residuos y, finalmente, los LMR específicos de cada tejido diana (generalmente músculo, grasa, hígado y riñón). Desde el uno de enero de 2000 cualquier producto de uso veterinario que quiera ser comercializado en la Unión

Europea ha de contar con el LMR para cada especie objeto de la administración y para cada tejido diana.

Para garantizar que la concentración residual de los antibióticos no sea superior a su correspondiente LMR es necesario establecer un tiempo de espera, plazo de tiempo que debe transcurrir y ser respetado desde el último tratamiento farmacológico hasta el sacrificio del animal para poder consumir sus productos. Este se determina en función del perfil cinético de eliminación tisular del fármaco en el animal. Un periodo de retirada adecuado garantiza que las concentraciones del fármaco en los tejidos en cuestión estarán por debajo de los LMR (Anadón y Martínez-Larrañaga, 1999; Cancho Grande *et al.*, 2000).

En la Tabla 1.5 se indican los Reglamentos del Consejo Europeo, las Directivas Europeas y los Reales Decretos relacionados con el uso de antibióticos en alimentación animal.

Tabla 1.5 Consideraciones legales relacionadas con el uso de antibióticos en alimentación animal¹

	Reglamentos Consejo Europeo	Directivas Europeas	Reales Decretos
Medicamentos veterinarios		93/40/CEE	RD 109/1995
Piensos medicamentosos: preparación, puesta en el mercado y utilización		90/167/CEE	RD 157/1995
Residuos: medidas de control en animales vivos y sus productos		96/23/CEE	RD 1262/1989
Límites máximos residuales. Establecimiento comunitario para la fijación de LMRs de medicamentos en alimentos de origen animal	2758/99		
Aditivos: autorización y regulación en alimentación animal		96/51/CEE	RD 2599/1998

¹(Cancho Grande *et al.*, 2000)

1.5.2 ADMINISTRACIÓN DE FLUOROQUINOLONAS

Las quinolonas son una familia de agentes antibacterianos de origen sintético. Las quinolonas originales (ácido nalidíxico, oxolínico y pipemédico) fueron introducidas durante la década de los 60 del siglo pasado. Tienen capacidad de inhibir la actividad de la ADN girasa bacteriana, un tipo de topoisomerasa II encargada de mantener la conformación del ADN bacteriano y también necesaria para la transcripción y replicación del mismo, resultando en un efecto bactericida (Carlucci, 1998; Stratton, 1998; Orden y de la Fuente, 2001).

En la actualidad, las quinolonas originales son poco utilizadas debido al desarrollo de resistencias y a su toxicidad, especialmente para el sistema nervioso central (Stratton, 1998). La adición de un átomo de flúor en posición 6 y un anillo 4-metilo-piperazin-1-il en posición 7, incrementó drásticamente la potencia y espectro de actividad de estos inhibidores de la ADN girasa y dio lugar a un nuevo grupo de antimicrobianos: las fluoroquinolonas (Carlucci, 1998; Orden y de la Fuente, 2001). De esta manera se mejoró la unión a su enzima diana y se aumentó la penetración celular hasta 70 veces respecto a las quinolonas originales. Además, se aumentó la eficacia contra patógenos Gram negativo y se amplió el espectro de actividad al actuar contra patógenos Gram positivo (Otero *et al.*, 2001b). Son una de las clases de antibióticos más utilizados hoy en día tanto en medicina humana como veterinaria para el tratamiento de una gran variedad de enfermedades infecciosas, debido a su espectro y propiedades fisicoquímicas. Actúan sobre la ADN girasa y la topoisomerasa IV de procariotas y tienen una toxicidad extremadamente baja contra las células eucariotas (Stratton, 1998).

Las fluoroquinolonas más conocidas entre las desarrolladas y usadas en medicina veterinaria incluyen la amifloxacin, ciprofloxacina, danofloxacina, enrofloxacina, marbofloxacina, norfloxacina y sarafloxacina (Otero *et al.*, 2001a). En general tienen buena absorción oral y completa absorción parenteral, semividas de eliminación relativamente largas, gran volumen de distribución, excelente penetración tisular y se eliminan principalmente por excreción renal y metabolismo hepático

(Otero *et al.*, 2001b). Al actuar específicamente sobre el ADN, las fluoroquinolonas son rápidamente bactericidas y activas a muy bajas concentraciones. En algunas ocasiones su eficacia se ve afectada por el pH del medio. Se ha observado menor actividad contra bacterias Gram negativo en medio ácido que en medio básico. Sin embargo, la acción frente a bacterias Gram positivo, no parece que se altere por el pH del medio.

1.5.3 ENROFLOXACINA

1.5.3.1 FUNCIONES Y APLICACIONES

La enrofloxacin es una fluoroquinolona desarrollada en los años 80 para su uso exclusivo en medicina veterinaria (Otero *et al.*, 2001a). Es ampliamente utilizada para el tratamiento de enfermedades en aves (Sumano *et al.*, 1998; Lees y Shojaee, 2002). Precisamente las enfermedades animales que actualmente requieren un uso más extensivo de fármacos terapéuticos o profilácticos son las enfermedades respiratorias y entéricas en aves (Anadón y Martínez-Larrañaga, 1999).

La enrofloxacin se caracteriza por poseer una muy buena actividad antimicrobiana, excelente contra bacterias Gram negativo y buena contra bacterias Gram positivo y *Mycoplasma spp.* Es bactericida y micoplasmicida a bajas concentraciones y eficaz contra organismos que son resistentes a los β -lactámicos, aminoglucósidos, tetraciclinas, antagonistas del ácido fólico y macrólidos (Otero *et al.*, 2001a). Tiene un comportamiento farmacocinético favorable, con una alta biodisponibilidad en la mayoría de especies tanto por administración oral como parenteral, la absorción es casi completa y la distribución tisular garantiza concentraciones inhibitorias mínimas frente a los microorganismos causantes de la mayoría de las enfermedades en los animales (Otero *et al.*, 2001b). En pollo es rápidamente absorbida por vía oral, con una biodisponibilidad cercana al 60% (Anadón *et al.*, 1995).

Según el R2758/99, modificación del 23/12/99 del R2377/90, se estableció un LMR para la enrofloxacin en aves no productoras de huevos para el consumo humano de 100µg/Kg en músculo, 200µg/Kg en hígado y 300µg/Kg en riñón.

1.5.3.2 ESTRUCTURA QUÍMICA

La enrofloxacin es una fluoroquinolona derivada del ácido nalidíxico y como todos los compuestos genéricamente llamados quinolonas, tiene un núcleo químico básico denominado "dihidroquinolina" o anillo 4-quinolónico (Figura 1.27).

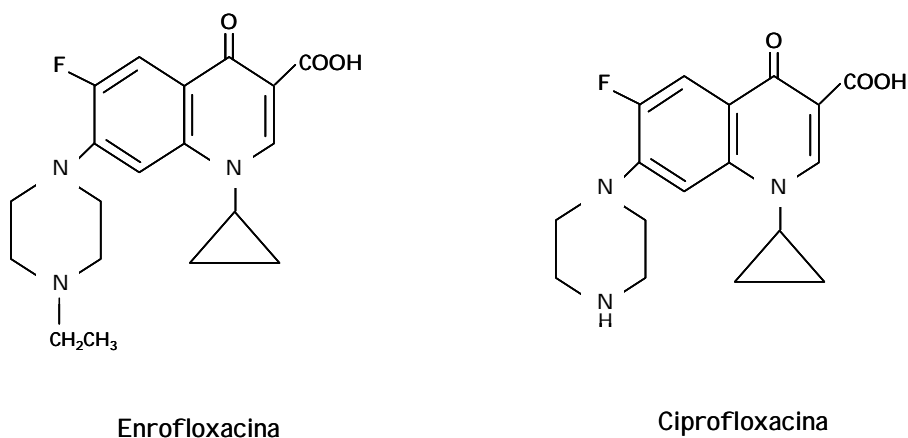


Figura 1.27 Estructura de la enrofloxacin y la ciprofloxacin

Su fórmula molecular es $C_{19}H_{22}FN_3O_3$ y su peso molecular de 359.4 que, al ser bajo, favorece su penetración tisular.

La presencia de un grupo etilo en la posición 4 del anillo 4-metilo-piperazin-1-il parece aumentar la absorción digestiva y la disponibilidad, así como lograr que la enrofloxacin alcance el doble de la concentración plasmática que su metabolito, la ciprofloxacin (Otero *et al.*, 2001a).

1.5.3.3 ADMINISTRACIÓN

Existen diferentes formas de dosificación para los mismos fármacos. En animales de mayor tamaño se les administran a través de píldoras o soluciones inyectables, pero la medicación en aves, por razones prácticas, se administra a grupos de animales y no individualmente, incorporándose el fármaco en el alimento o en el agua de bebida. Esto hace que, además de la inevitable variación entre animales respecto a la absorción, distribución, metabolismo y excreción, haya una variación en la ingestión (Lees y Shojaee, 2002).

La biodisponibilidad oral puede verse alterada por interacciones con otros compuestos presentes en el alimento o en el agua, las cuales pueden manifestarse durante el proceso digestivo. Por este motivo, una adecuada terapia antimicrobiana a través del agua de bebida (vía más habitual) requiere un control exhaustivo. La ignorancia de factores fisiológicos, patológicos o de las condiciones de cría conducirá a una inadecuada dosis de administración. Se debe tener en cuenta que el consumo de agua por parte del animal varía ampliamente de acuerdo con la especie, la edad y la temperatura ambiente. El consumo de agua relativo (volumen diario de ingestión de agua en proporción al peso corporal) es casi el doble en pollos que en pavos. El consumo relativo de agua y como consecuencia la ingestión del fármaco disminuyen con la edad, siendo la mitad en adultos en comparación con las aves jóvenes. Dentro de la temperatura de confort (15-25°C), el consumo de agua relativo y la relación agua/alimento ingerido se mantienen bastante estables, pero aumentan bruscamente cuando se sobrepasa el umbral de estrés al calor. En climas tropicales la dosis del fármaco puede ser entre dos y tres veces superior que en condiciones moderadas. Los programas de iluminación, alimentación y las enfermedades también influyen considerablemente en el consumo de agua (Bayer, 2002).

Por otro lado, se debe tener especial precaución al preparar las soluciones ya que la presencia de aguas duras o de aguas con exceso de cloro (>3ppm) bloquean muchos antibióticos (Serrano, 2002). El uso de contenedores metálicos galvanizados

podría provocar también la inactivación del fármaco por iones metálicos (Lees y Shojaee, 2002).

1.5.3.4 METABOLISMO E INTERACCIONES

El metabolismo de la enrofloxacin se lleva a cabo en el hígado donde es parcialmente desacetilada dando lugar a la ciprofloxacina, la cual es responsable de una parte considerable de la actividad antimicrobiana (Anadón *et al.*, 1995; Otero *et al.*, 2001b). El metabolismo depende de la especie y de la edad; los animales adultos tienden a tener un metabolismo de fármacos más lento que los jóvenes (Lee y Shojaee, 2002).

Estudios recientes apuntan algunos efectos no deseables relacionados con el metabolismo de este tipo de fármacos como incompatibilidades con otros fármacos, cambios en el metabolismo de otras sustancias o incluso efectos tóxicos.

En el metabolismo hepático de estos antibióticos intervienen enzimas microsomales hepáticos pertenecientes a la familia del citocromo P450. Parece ser que la enrofloxacin podría tener efectos inhibitorios sobre algunas de estas enzimas, pudiéndose ver afectado el metabolismo de otras sustancias (Shlosberg, 1995; Vancutsen y Babish, 1996; Shlosberg *et al.*, 1997; Vaccaro *et al.*, 2003). También se han descrito interacciones entre las fluoroquinolonas y otras drogas metabolizadas a través del citocromo P450 (Stratton, 1998). La combinación de fármacos antibacterianos es un factor importante en terapéutica avícola. Algunas veces mediante la combinación de fármacos se consiguen efectos sinérgicos ventajosos pero en otras ocasiones la combinación da lugar a incompatibilidades farmacológicas.

Por otro lado, se ha observado que como consecuencia del metabolismo de determinados xenobióticos, se generan intermediarios radicales libres que podrían provocar estrés oxidativo (Gürbay *et al.*, 2001; Martínez-Cayuela, 1998). Por lo tanto, la administración de enrofloxacin a los animales podría afectar al grado de oxidación

lipídica de la carne de estos. En este sentido, sería interesante estudiar la incidencia de las fluoroquinolonas en la oxidación y las posibles interacciones entre este tipo de fármacos y los antioxidantes suplementados en la dieta animal.

Finalmente, en la cría de aves, los ionóforos coccidiostatos como la monensina son comúnmente administrados. A veces, el uso de estos juntamente con otros fármacos puede provocar efectos tóxicos. Los mecanismos de toxicidad no han sido completamente elucidados, pero podría ser debido a la generación de niveles elevados de radicales libres, a la disminución de las defensas antioxidantes o a cambios en la actividad microsomal de la citocromo P450 monooxidasa (Ershov *et al.*, 2001).

1.5.3.5 DETERMINACIÓN

A lo largo de los años se han desarrollado multitud de técnicas para el análisis de fluoroquinolonas en muestras biológicas. Tradicionalmente se determinaban mediante métodos microbiológicos, pero estos eran lentos, poco selectivos pues presentaban respuestas globales a familias de compuestos y además, en algunos casos, eran poco sensibles.

Los métodos químicos son más complejos ya que generalmente constan de una etapa de extracción y otra de purificación del extracto obtenido, seguida de la determinación del analito, generalmente mediante una técnica cromatográfica. La cromatografía líquida (HPLC) se ha convertido en una poderosa herramienta para la determinación rutinaria de antimicrobianos en muestras biológicas. Los mayores beneficios de esta técnica son su especificidad, rapidez y sensibilidad, además del potencial para detectar y cuantificar productos de degradación metabólica (Carlucci, 1998).

Numerosos autores sugieren métodos para la extracción y determinación mediante HPLC de enrofloxacin y ciprofloxacina en muestras biológicas utilizando diferentes tipos de detección (Rogstad *et al.*, 1991; Tarbin *et al.*, 1992; Carlucci, 1998;

Gorla *et al.*, 1997; Hernández-Arteseros *et al.*, 2000; Yorke y Froc, 2000; Schneider y Donoghue, 2002; Souza *et al.*, 2002).

2. OBJETIVOS

Como se ha comentado en la revisión bibliográfica, los procesos oxidativos, junto con la contaminación microbiana, son los principales responsables del deterioro de la calidad de la carne y de la generación de compuestos potencialmente tóxicos para la salud humana.

La incorporación de antioxidantes en la dieta animal da lugar a una mejora de la estabilidad oxidativa de la carne y de los productos cárnicos. En este sentido, la vitamina E ha demostrado su eficacia en numerosos estudios, sin embargo, los resultados con el β -caroteno no son tan claros; al parecer, su efecto dependería de diversos factores como la dosis administrada, la presión parcial de oxígeno o la presencia de otros antioxidantes. No se tiene constancia hasta el momento del estudio de la suplementación conjunta de vitamina E y β -caroteno ni de la utilización del licopeno en nutrición animal.

Por otro lado, la administración de antibióticos en la práctica avícola es común. La presencia de residuos de fármacos en los tejidos animales destinados al consumo humano puede afectar negativamente a la seguridad de los alimentos. Por lo tanto, es importante el conocimiento del comportamiento de estos fármacos así como de sus posibles interacciones con otros componentes de la dieta de los animales.

El propósito general de la investigación era valorar la mejora en la estabilidad oxidativa y en la calidad sensorial a que puede dar lugar la suplementación de antioxidantes naturales en las dietas de pollo y pavo, y apreciar la incidencia de la administración de enrofloxacin sobre la seguridad abiótica de la carne. Además, se perseguía estudiar las posibles interacciones entre los distintos compuestos añadidos a la dieta.

El estudio se planteó con dos objetivos concretos:

- Evaluar el efecto de la suplementación de la dieta de pollos y pavos con diferentes dosis de vitamina E, β -caroteno y licopeno, solos o en combinación, para observar:
 - La acumulación de la vitamina E en el tejido muscular.
 - El efecto de los antioxidantes sobre la estabilidad oxidativa de la carne cruda mediante la determinación de la actividad del sistema de enzimas antioxidantes y de los niveles de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).
 - La influencia de los antioxidantes sobre ciertas características sensoriales de la carne cocida.

- Establecer los niveles de antibiótico acumulados a nivel muscular y hepático después del tratamiento de los animales con o sin período de retirada del fármaco y, en relación a los resultados obtenidos anteriormente, analizar las posibles interacciones entre los antioxidantes suplementados, en particular la vitamina E, y la administración del antibiótico.

Se consideraron dos especies de aves destacables desde un punto de vista comercial y con características diferentes especialmente en relación a su estabilidad oxidativa. Además, en todos los análisis llevados a cabo se tuvieron en cuenta dos tipos musculares, pechuga y muslo, de características metabólicas distintas.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 OBTENCIÓN DE MUESTRAS

3.1.1 ANIMALES

Para los ensayos se utilizaron 96 pollos (*Gallus gallus*) broilers hembra de la estirpe Ross 308 y 96 pavos (*Meleagris gallipavo*) de la estirpe BUT9, ambos de un día de vida. Los animales se distribuyeron al azar en diversos parques de las instalaciones del Centro de Mas Bové (IRTA). Se criaron según las prácticas rutinarias en términos de luz (Tabla 3.1) y temperatura (Tabla 3.2) y dispusieron de calefacción de gas y ventilación natural mediante ventanas (Figura 3.1).

Tabla 3.1 Programa de iluminación recomendado para aves

Periodo	Horas de luz
De los 0 a los 4 días	23
De los 4 a los 10 días	20
De los 10 días al final	18

Tabla 3.2 Temperaturas recomendadas para aves

Periodo	Temperatura (°C)
Dos primeros días	32-34
Resto de la primera semana	29-31
Segunda semana	26-28
Tercera semana	23-25
Cuarta semana	20-22
Quinta semana en adelante	19-21



Figura 3.1 Cría de los animales

3.1.2 DIETAS

Los animales fueron alimentados *ad libitum*. Los pollos recibieron una única dieta a base de trigo y harina de soja durante todo el periodo de engorde que fue de seis semanas. La composición de esta dieta basal se muestra en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3 Composición de la dieta basal suministrada a los pollos

Ingrediente	%
Trigo	58.25
Harina de soja, 48% de proteína	31.72
Manteca de cerdo	6.00
CaCO ₃	1.22
Ca ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O	1.79
Sal	0.44
DL-metionina	0.19
Minerales y vitaminas ¹	0.40
Roxazyme G (mg/Kg)	150

¹Un Kg de pienso contiene: Vitamina A: 12000UI ; Vitamina D₃: 2400UI ; Vitamina E: 30mg; Vitamina K₃: 3mg; Vitamina B₁: 2.2mg; Vitamina B₂: 8mg; Vitamina B₆: 5mg; Vitamina B₁₂: 11µg; Ácido fólico: 1.5mg; Biotina: 150 µg; Pantotenato cálcico: 25mg; Ácido nicotínico: 65mg; Mn: 60mg; Zn: 40mg; I: 0.33mg; Fe: 80mg; Cu: 8mg; Se: 0.15mg.

Los pavos en cambio, recibieron tres piensos de tipo comercial a base de trigo y harina de soja durante el período de engorde que fue de 12 semanas. En la Tabla 3.4 se muestran las tres fases en las que se dividió la cría.

Tabla 3.4 Fases de cría de los pavos

Fase	Días de ensayo	Energía metabolizable (MJ/Kg)	Proteína bruta (%)
F1	0-28	11.7	28.0
F2	29-56	12.1	25.0
F3	57-84	12.5	22.0

La composición de la dieta basal que se les suministró durante estas tres fases se muestra en la Tabla 3.5.

Tabla 3.5 Composición de la dieta basal suministrada a los pavos¹

Ingrediente	De 0 a 4 semanas	De 5 a 8 semanas	De 9 a 12 semanas
Trigo	41.83	48.46	56.48
Harina de soja, 48% proteína	47.36	41.62	32.82
Soja extrusionada	2.00	2.00	-
Manteca de cerdo	3.41	3.98	6.00
CaCO ₃	1.95	1.11	2.26
Ca ₂ HPO ₄ · 2 H ₂ O	2.36	1.85	1.50
Sal	0.37	0.32	0.24
DL-metionina	0.23	0.17	0.12
L-Lisina HCl	0.037	0.095	0.190
ColinaCl 50%	0.042	0.004	-
Minerales y vitaminas ²	0.40	0.40	0.40
Monensina (mg/Kg)	90	90	-

¹Valores expresados en %.

²Un Kg de pienso contiene: Vitamina A: 12000UI ; Vitamina D₃: 2400UI ; Vitamina E: 30mg; Vitamina K₃: 3mg; Vitamina B₁: 2.2mg; Vitamina B₂: 8mg; Vitamina B₆: 5mg; Vitamina B₁₂: 11µg; Ácido fólico: 1.5mg; Biotina: 150 µg; Pantotenato cálcico: 25mg; Ácido nicotínico: 65mg; Mn: 60mg; Zn: 40mg; I : 0.33mg; Fe: 80mg; Cu: 8mg; Se: 0.15mg.

3.1.3 TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES

En el caso de los pollos, se llevaron a cabo ocho tratamientos experimentales en los que la dieta basal fue suplementada con antioxidantes naturales (α -tocoferol, β -caroteno y licopeno) en distintas combinaciones y concentraciones. Además, en algunos tratamientos se administró el antibiótico enrofloxacina con o sin fase de retirada. La composición de los distintos tratamientos experimentales se muestra en la Tabla 3.6.

Tabla 3.6 Descripción de los tratamientos experimentales en pollo

Tratamiento experimental	Suplementación antioxidante	Administración antibiótico
T1 (control)	-	-
T2	-	50ppm enrofloxacina sin fase de retirada
T3	-	50ppm enrofloxacina con fase de retirada de 12 días
T4	100ppm acetato de α -tocoferilo	50ppm enrofloxacina sin fase de retirada
T5	100ppm acetato de α -tocoferilo	50ppm enrofloxacina con fase de retirada de 12 días
T6	30ppm acetato de α -tocoferilo	-
T7	10ppm licopeno	-
T8	30ppm acetato de α -tocoferilo + 15ppm β -caroteno	-

Para el estudio con pavos se realizaron siete tratamientos experimentales en los que la dieta basal se suplementó con α -tocoferol y β -caroteno además de la administración de enrofloxacina con o sin fase de retirada en algunos tratamientos (Tabla 3.7).

Tabla 3.7 Descripción de los tratamientos experimentales en pavo

Tratamiento experimental	Suplementación antioxidante	Administración antibiótico
P1 (control)	-	-
P2	-	50ppm enrofloxacina sin fase de retirada
P3	-	50ppm enrofloxacina con fase de retirada de 12 días
P4	200ppm acetato de α -tocoferilo	50ppm enrofloxacina sin fase de retirada
P5	200ppm acetato de α -tocoferilo	50ppm enrofloxacina con fase de retirada de 12 días
P6	50ppm acetato de α -tocoferilo	-
P7	50ppm acetato de α -tocoferilo + 15ppm β -caroteno	-

Suplementación de antioxidantes

La vitamina E, como acetato de α -tocoferilo, el β -caroteno y el licopeno fueron suministrados por Roche Vitamins (Madrid, España). Los antioxidantes fueron añadidos en la dieta de los pollos durante todo el período de cría y durante las últimas cuatro semanas en el caso de los pavos.

Administración de antibiótico

El antibiótico se administró a través del agua de bebida. El producto comercial utilizado fue Roxacin (Laboratorios Calier, S.A., Barcelona). Se añadió una dosis de 50 ppm en el agua, lo que suponía aproximadamente 10 mg/Kg de animal, considerando una ingestión media de 0.4 Kg de agua y un peso medio de los animales de dos Kg.

En los tratamientos T2 y T4 de pollos y P2 y P4 de pavos, el fármaco se administró durante los cinco días anteriores al sacrificio. En los tratamientos T3 y T5 de pollos y P3 y P5 de pavos, se administró durante cinco días y los animales fueron sacrificados 12 días después de la última administración.

3.1.4 SACRIFICIO

Los animales fueron sacrificados en un matadero comercial a los 42 días de vida los pollos y a los 84 días los pavos. De diez animales por tratamiento se diseccionaron las pechugas y los muslos. Las muestras destinadas a análisis químicos se limpiaron de grasa, tejido conectivo y huesos, se picaron finamente para homogenizar el tejido muscular y se distribuyeron en diversas bolsas opacas e impermeables al oxígeno. Las muestras para el análisis sensorial se guardaron enteras en las mismas condiciones. Las bolsas se almacenaron a -20°C hasta el momento del análisis. También se obtuvieron los hígados de cada animal que, envasados en las mismas condiciones, fueron almacenados a -80°C.

El resto de las muestras (pechugas, muslos e hígados) se guardaron en las mismas condiciones y fueron utilizadas para la puesta a punto de la metodología, la realización de ensayos previos (TBARS de las muestras de carne cocida, determinación de las condiciones de cocción y del tiempo de almacenamiento de las muestras para el análisis sensorial) y para el entrenamiento de los catadores (tratamientos sin enrofloxacina).

En las Figuras 3.2 y 3.3 se muestra el esquema de trabajo para las muestras de pollo y pavo respectivamente.

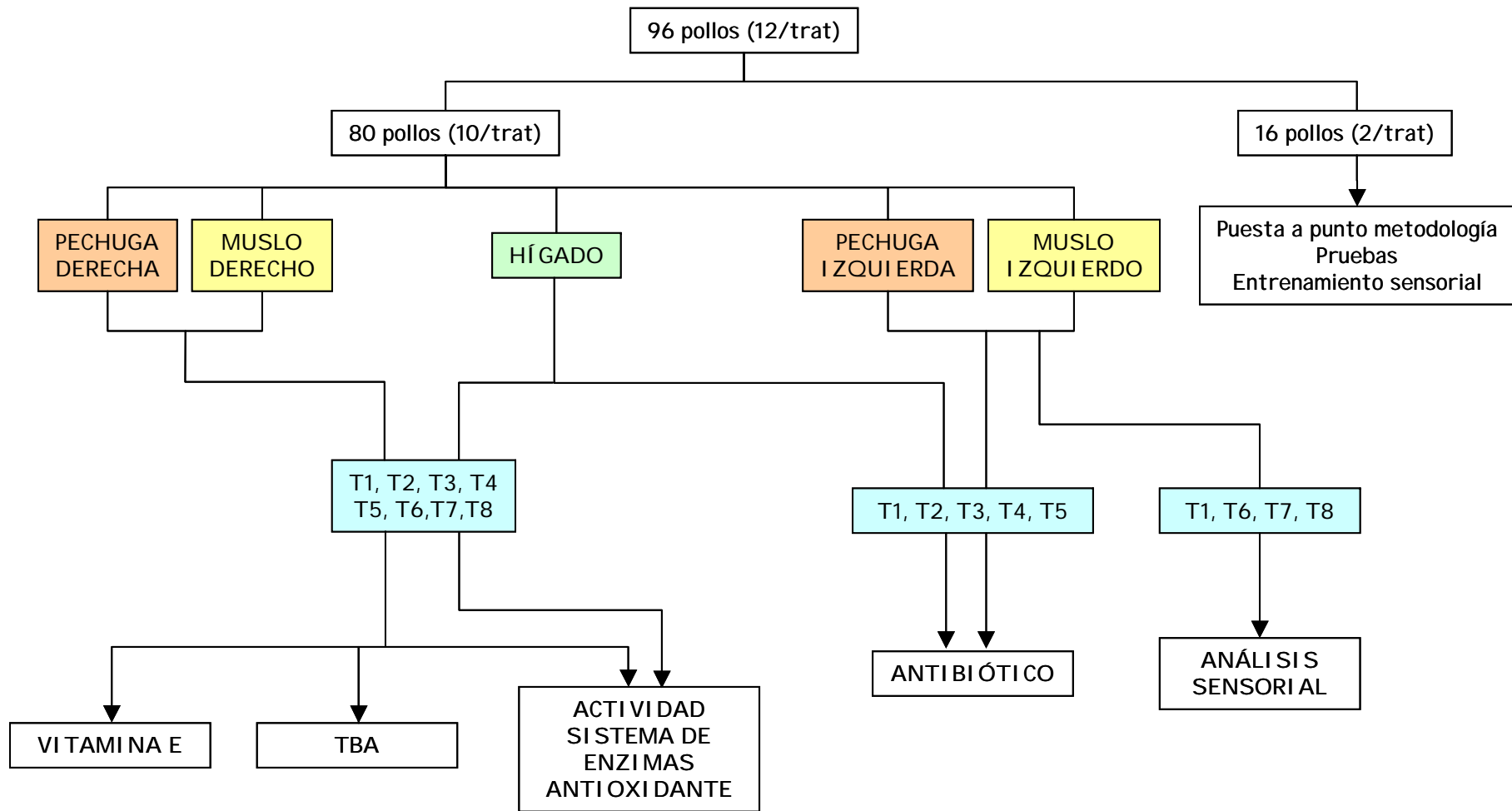


Figura 3.2 Esquema de trabajo muestras de pollo

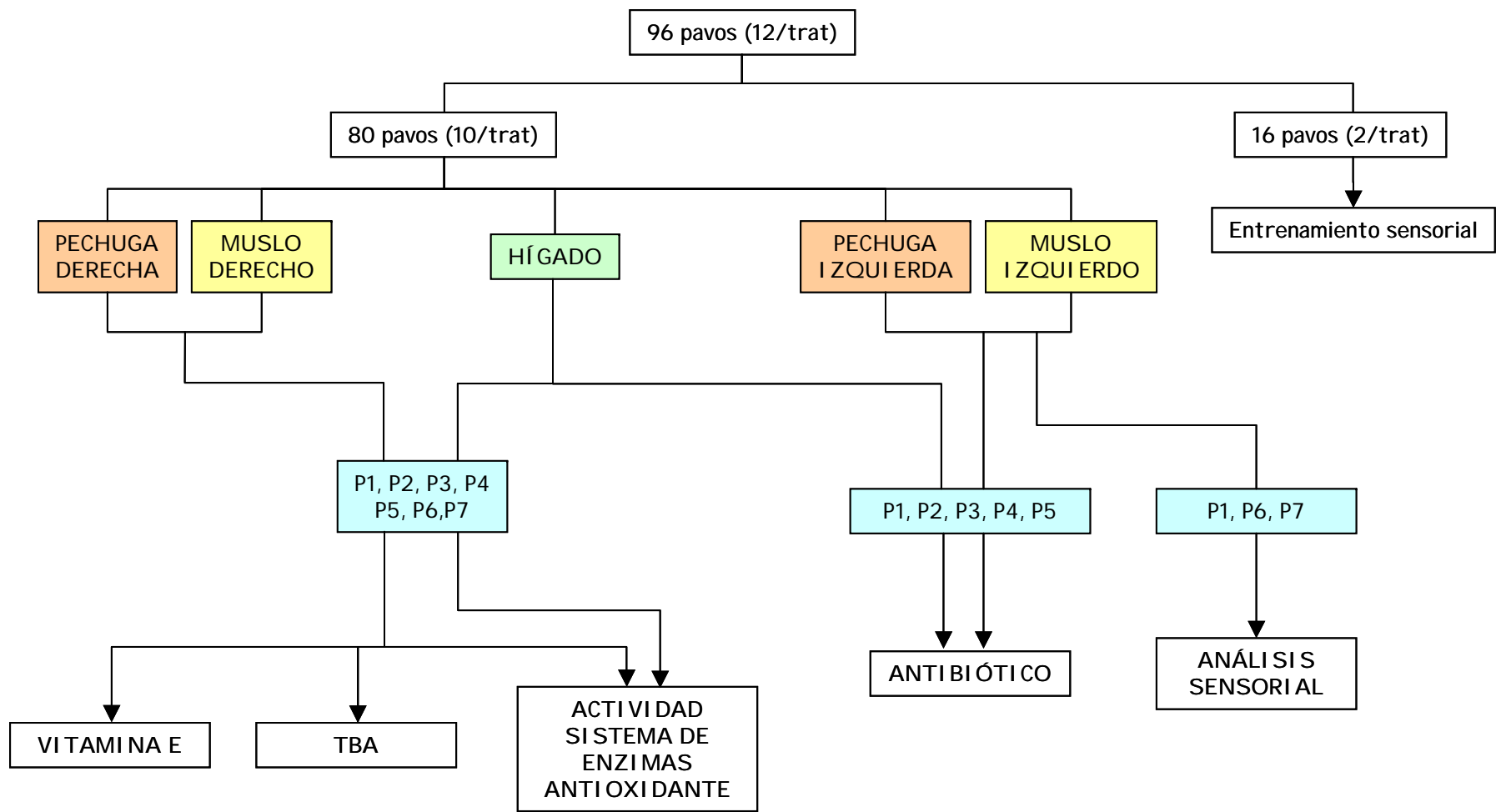


Figura 3.3 Esquema de trabajo muestras de pavo

3.2 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEL SISTEMA DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES

3.2.1 REACTIVOS

El glutatión reducido (GSH), la glutatión reductasa (GR), el NADPH, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el pirogalol, la superóxido dismutasa (SOD) y la seroalbúmina bovina (BSA) fueron proporcionados por Sigma (Madrid, España). Los demás reactivos utilizados eran de grado de pureza analítica. Todas las soluciones acuosas se prepararon utilizando agua ultrapura.

3.2.2 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ENZIMÁTICO

7g de muestra se homogeneizaron en 35ml de tampón Tris-HCl 50 mM pH=7.0 mediante un Ultra Turrax T25 (IKA®-Labortechnik, Staufen, Alemania). Se centrifugaron 30 min a 15000g y 4°C. El sobrenadante obtenido se filtró a través de lana de vidrio y se ultracentrifugó durante 1 hora a 100000g y 4°C, proporcionando el extracto final para la determinación de la actividad de los enzimas antioxidantes. Todos los ensayos enzimáticos se realizaron por duplicado a excepción de la actividad catalasa (CAT) que se efectuó por triplicado.

3.2.3 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD GLUTATIÓN PEROXIDASA (GSHPx)

Fundamento

La actividad del enzima glutatión peroxidasa (GSHPx) se determinó de acuerdo con el procedimiento de DeVore y Greene (1982). El método se basa en la medida de la disminución de la absorbancia del NADPH a 340nm por acción de la GSHPx en presencia de H_2O_2 (Figura 3.4).

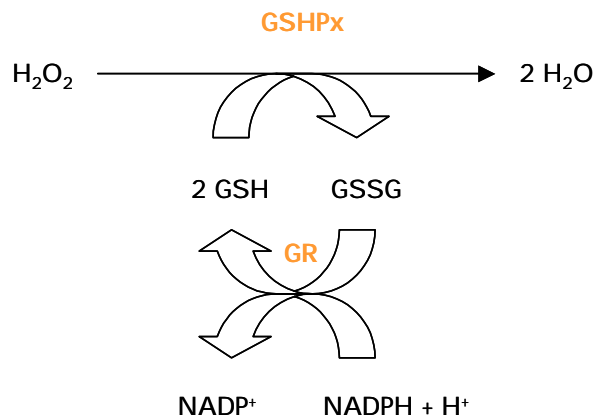


Figura 3.4 Base del método de determinación de la actividad GSHPx

Procedimiento

El medio de reacción estaba compuesto por:

- 350 μl / 425 μl de mezcla de reacción, según la muestra fuese de músculo o hígado. La mezcla estaba formada por tampón fosfato potásico 171mM, EDTA 2.14mM y NaN_3 4.28mM.
- 250 μl de glutatión reducido (GSH).
- 250 μl de glutatión reductasa (GR).
- 250 μl de NADPH.
- 150 μl / 75 μl del extracto enzimático de músculo o hígado respectivamente.

Los tubos se incubaron en un baño a 30°C durante 5 minutos. Pasado el tiempo se añadieron 250 μl de H_2O_2 a las muestras o el mismo volumen de mezcla de reacción a los blancos. Se determinó en el espectrofotómetro la variación de la absorbancia a 340 nm durante 5 minutos, a 30°C, frente a aire.

La actividad enzimática se expresó como nmoles de NADPH oxidados por minuto y por mg de proteína.

3.2.4 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD CATALASA (CAT)

Fundamento

La actividad catalasa (CAT) se determinó según Mei *et al.* (1994) evaluando la disminución de la absorbancia del peróxido de hidrógeno a 240 nm por la acción del enzima (Figura 3.5).

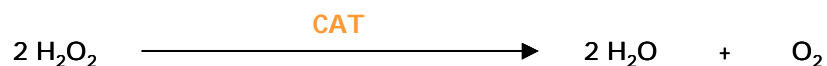


Figura 3.5 Reacción catalizada por la catalasa

Procedimiento

100µl/50µl del extracto enzimático de músculo o hígado, respectivamente, se mezclaron con 2.9ml/2.95ml de H₂O₂ 11.38mM en tampón fosfato potásico 0.05M pH=7.0. El blanco contenía tampón fosfato en lugar de extracto enzimático.

La absorbancia de las muestras y los blancos se estimó a 240nm y 22°C, durante 5 minutos, frente aire. La actividad CAT se expresó en µmoles de H₂O₂ consumido por minuto y por mg de proteína.

3.2.5 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD SUPERÓXIDO DISMUTASA (SOD)

Fundamento

El ensayo de la actividad superóxido dismutasa (SOD) utilizado se basó en el procedimiento de Marklund y Marklund (1974).

El pirogalol (1,2,3-benzenetriol) es un compuesto que se autooxida rápidamente, especialmente en solución alcalina. En esta autooxidación participa el radical anión superóxido (O₂^{·-}). El enzima SOD cataliza la eliminación de este radical y por lo tanto es capaz de inhibir la autooxidación del pirogalol (Figura 3.6).



Figura 3.6 Reacción catalizada por la superóxido dismutasa

Procedimiento

Se realizó una recta patrón con distintas concentraciones conocidas de SOD (0, 25, 50, 75, 100, 125, 150 y 200 ng) a partir del enzima puro (1µg/ml) a las cuales se añadieron 250µl de pirogalol y tampón Tris 50mM pH=8.2 con ácido cacodílico que contenía DTPA 1mM, hasta un volumen final de 2ml.

Las muestras contenían 50µl/25µl del extracto enzimático de músculo o hígado respectivamente, 250µl de pirogalol y tampón hasta un volumen final de 2ml.

Después de una incubación de diez minutos a 30°C, se leyó la absorbancia de las muestras a 420nm frente a tampón.

La actividad se expresó en unidades de SOD por mg de proteína, teniendo en cuenta que 1 unidad de SOD corresponde a la concentración del enzima que provoca un 50% de inhibición de la autooxidación del pirogalol.

3.2.6 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE PROTEÍNA

Para la determinación del contenido de proteína de las muestras, se añadió 1ml de TCA al 10% a 500 µl de extracto y se dejó en reposo un mínimo de 30 minutos. Los tubos se centrifugaron 20 minutos a 5000rpm. Tras la redisolución del precipitado en 2ml de NaOH 1N, el contenido de proteína de las muestras se obtuvo mediante el procedimiento de Lowry *et al.* (1951) utilizando una recta patrón de BSA de concentraciones comprendidas entre 0 y 250 µg.

3.3 DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE VITAMINA E EN MÚSCULO

3.3.1 REACTIVOS

El acetato de α -tocoferilo para la preparación de patrones se adquirió en Roche Vitamins (Madrid, España). Todos los disolventes utilizados eran de grado HPLC.

3.3.2 EXTRACCIÓN

La extracción de vitamina E se efectuó a partir de 3 g de músculo en 25ml de hexano/2-propanol (3:2, v/v), sometidos a ultrasonidos durante 15 minutos. Posteriormente, los tubos se centrifugaron 10 minutos a 4000 rpm y 4°C. 5ml del sobrenadante obtenido se evaporaron mediante un evaporador rotatorio con vacío y se resuspendieron en 1ml de hexano/acetato de etilo (80:20, v/v). El volumen obtenido se filtró a través de un filtro de PTFE de 0.45 μ m, 13mm \varnothing y se inyectó en el sistema cromatográfico.

3.3.3 PREPARACIÓN DE PATRONES

A cada análisis se incorporaron dos patrones externos de 5ng/ μ l y 10ng/ μ l de α -tocoferol en fase móvil (hexano/acetato de etilo 80:20, v/v).

3.3.4 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

Las muestras se analizaron mediante HPLC en fase normal mediante un cromatógrafo LKB Bromma integrado por un controlador LKB 2152, bombas de alta presión LKB 2150 y un inyector automático 231-401 Gilson equipado con un loop de 50 μ l. Se utilizó una columna de 250x4.6mm, NH2-NP, 5 μ m (Supelco). La fase móvil consistió en hexano/acetato de etilo (80:20, v/v) a un flujo de 1.20 ml/min. El volumen de inyección fue de 20 μ l. La detección se realizó por fluorescencia mediante un detector de fluorescencia HP 1046^a, con una λ excitación de 280nm y una λ emisión de 330nm.

3.4 DETERMINACIÓN DEL GRADO DE OXIDACIÓN LIPÍDICA MEDIANTE EL TEST DEL ÁCIDO TIOBARBITÚRICO INDUCIDO (TBA)

3.4.1 REACTIVOS

El trizma-maleato, el ácido ascórbico, el sulfato ferroso, el ácido tiobarbitúrico (TBA) y el ácido tricloroacético (TCA) fueron proporcionados por Sigma (Madrid, España). Se utilizó agua ultrapura para la preparación de las soluciones.

3.4.2 FUNDAMENTO

Durante la peroxidación lipídica se forman radicales peroxilo ($\text{ROO}\cdot$) que pueden sufrir cambios intramoleculares dando lugar a otras especies, a partir de las cuales se pueden formar hidroperóxidos secundarios y bicicloendoperóxidos que al descomponerse generan malondialdehído (MDA). Por lo tanto, la producción de MDA puede relacionarse con el grado de peroxidación lipídica. El MDA puede detectarse por su reacción con el ácido tiobarbitúrico (TBA) ya que da lugar a un producto de color rosa que absorbe a 532 nm (Figura 3.7).

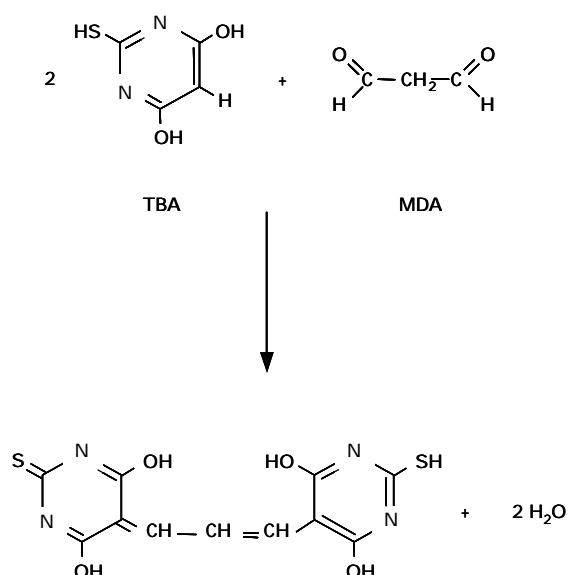


Figura 3.7 Reacción entre el malondialdehído y el ácido tiobarbitúrico

3.4.3 PROCEDIMIENTO

La determinación de los valores de oxidación se realizó a partir de una modificación del método descrito por Kornbrust y Mavis (1980).

27ml de KCl al 1.15% se añadieron a 3 g de cada muestra y se homogenizó la mezcla durante 30 segundos a 9500 rpm y durante 30 segundos más a 13500rpm mediante un UltraTurrax T25 (IKA®-Labortechnik, Staufen, Alemania). El medio de reacción consistió en 1000µl de tampón trizma-maleato 80mM pH=7.4, 400µl de ácido ascórbico 2mM, 400µl de sulfato ferroso 5mM y 200µl del homogenizado obtenido, o el mismo volumen de KCl 1.15% en los blancos. Una vez agitados los tubos, se incubaron a distintos tiempos (0, 50, 100 y 150 minutos) a 37°C en un baño con agitación. Posteriormente, se añadieron 4 ml de una mezcla de TBA 26mM, TCA 0.92M y HCl 0.8M a cada tubo y se incubaron durante 15 minutos a 100°C. Una vez a temperatura ambiente se centrifugaron 15 minutos a 4000 rpm y se leyó la absorbancia a 532nm frente a aire. El grado de oxidación (TBARS) se expresó en nmoles de MDA por mg de tejido.

3.5 ANÁLISIS SENSORIAL

3.5.1 PANEL DE CATADORES

Para la evaluación sensorial de las muestras de pechuga y muslo de pollo y pavo se utilizó un panel de seis catadores (cuatro mujeres y dos hombres) de edades comprendidas entre los 24 y 48 años, con experiencia previa en la realización de análisis sensoriales descriptivos en carnes y productos cárnicos.

Los catadores que participaban fueron entrenados previamente según normas ASTM e ISO siguiendo un programa en el que se incluyeron, entre otras, pruebas de:

- reconocimiento de los sabores básicos: dulce, salado, amargo, ácido, umami y metálico (norma UNE 87003, 1995).
- reconocimiento del olor y *flavor* rancios.
- práctica del uso de escalas de referencia de atributos de textura con diversos alimentos (norma UNE 87025, 1996).

3.5.2 PROGRAMA DE ENTRENAMIENTO

El proceso de entrenamiento específico de los catadores, así como la selección y definición de los descriptores, se llevaron a cabo de acuerdo con los procedimientos de la World's Poultry Science Association (WPSA, 1987).

Además, se realizaron una serie de pruebas para familiarizar el panel con las propiedades sensoriales de la carne de pollo y pavo y con el uso de escalas de puntuación para distintos descriptores. Estas incluyeron:

- práctica del uso de escalas de referencia de atributos de textura con carne de pollo, pavo, cordero, ternera y cerdo, recién cocinada.
- búsqueda de atributos de *flavor* citados en la literatura en distintos tipos de carne: pollo, pavo, cordero, cerdo, ternera y codorniz.
- práctica con muestras de carne cocinadas y conservadas durante: cero, uno, dos, cuatro, seis y nueve días en refrigeración y recalentadas posteriormente.

- comparación de atributos entre pollo y pavo frescos recién cocinados y recalentados después de diversos días de conservación en refrigeración.

3.5.3 SELECCIÓN DE DESCRIPTORES

Los descriptores fueron seleccionados a partir de una lista de términos descriptivos citados en la literatura consultada (Lyon, 1987; Byrne *et al.*, 1999b). Durante cuatro sesiones de evaluación de diversas muestras, en distintas condiciones de conservación y recalentadas o no, los panelistas discutieron y llegaron a un acuerdo sobre aquellos términos que eran relevantes, permitían discriminar entre muestras y no eran redundantes.

3.5.4 DISEÑO EXPERIMENTAL Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE POLLO

La evaluación sensorial de la carne de pollo, tanto cruda como cocida, se realizó sólo en muestras de animales a los que no se administró el antibiótico enrofloxacin, es decir, los pertenecientes a los tratamientos experimentales T1, T6, T7 y T8.

Muestras de pechuga cruda de pollo

Se llevó a cabo un diseño de bloques completos. Se realizaron ocho sesiones, en ocho días distintos, en cada una de las cuales se valoró una muestra de cada uno de los cuatro tratamientos experimentales. Participaron los seis catadores y la evaluación la realizaron todos sobre las mismas muestras (cuatro muestras en total para cada sesión), identificadas mediante un código aleatorio de tres cifras.

Muestras de pechuga cocida de pollo

Como en el caso anterior, se planteó un diseño de bloques completos con ocho sesiones de cata en las que participaron los seis catadores. Una vez realizada la valoración en crudo, las muestras eran reenvasadas al vacío y cocidas durante 30

minutos al baño maría a 80°C. Una vez cocidas, se sacaban de la bolsa, se limpiaba el exudado y se dividían en seis trozos, correspondientes a seis zonas distintas del músculo, según muestra la Figura 3.8.

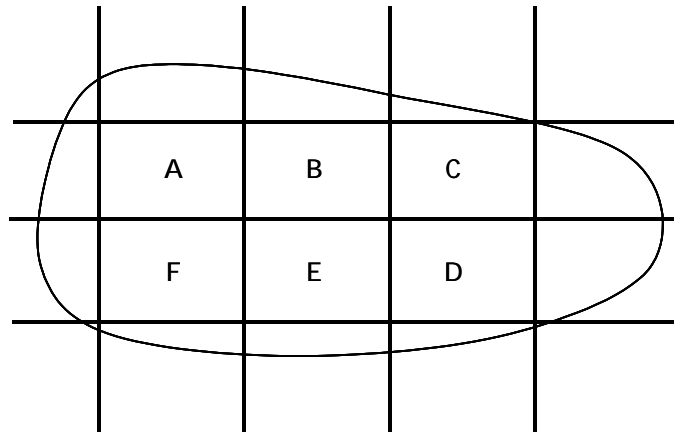


Figura 3.8 Zonas en que se dividieron las muestras de pechuga

En la Figura 3.9 se muestra una secuencia de imágenes de la preparación de las muestras de pollo cocidas.

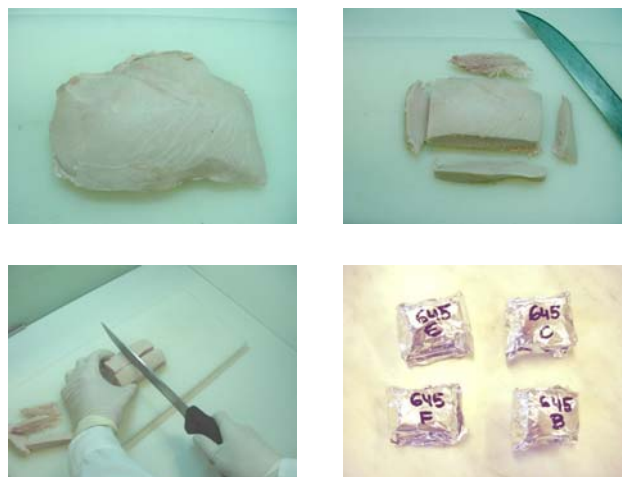


Figura 3.9 Imágenes de la preparación de las muestras de pollo cocidas.

Cada trozo se envolvía individualmente en papel de aluminio, se marcaba con el código y la zona de la pechuga correspondiente y se almacenaba a 4°C durante seis días (tiempo estipulado en las sesiones previas de entrenamiento para poder detectar con claridad el *flavor* rancio en las muestras de pollo).

Al sexto día, las muestras eran recalentadas en un horno de convección durante 25 minutos a 65°C y servidas inmediatamente a cada catador dentro de contenedores calefactores individuales que permitían mantener la temperatura constante a 60°C. En cada sesión cada catador valoraba una muestra de cada tratamiento. Se balanceó además el orden de presentación de las muestras (Tabla 3.8) según el diseño propuesto por Macfie *et al.* (1989) con el fin de evitar el efecto de la primera muestra degustada y de las precedentes (*first order and carry over effects*).

Tabla 3.8 Ordenes de presentación de los tratamientos experimentales en pollo

Orden O1	T1	T8	T6	T7
Orden O2	T6	T1	T7	T8
Orden O3	T7	T6	T8	T1
Orden O4	T8	T7	T1	T6

T1-T8 indican los distintos tratamientos experimentales
O1-O4 indican los distintos órdenes de presentación de las muestras

En la Tabla 3.9 se muestra un esquema general del diseño utilizado. Así para cada sesión y cada catador, se muestra el orden en que degustaba los cuatro tratamientos y la zona de la pechuga en la que lo hacía.

Tabla 3.9 Esquema general del diseño experimental de las pechugas cocidas de pollo

	Sesión 1	Sesión 2	Sesión 3	Sesión 4	Sesión 5	Sesión 6	Sesión 7	Sesión 8
Catador 1	O1 A	O2 F	O3 E	O4 D	O1 C	O2 B	O3 A	O4 F
Catador 2	O2 B	O3 A	O4 F	O1 E	O2 D	O3 C	O4 B	O1 A
Catador 3	O3 C	O4 B	O1 A	O2 F	O3 E	O4 D	O1 C	O2 B
Catador 4	O4 D	O1 C	O2 B	O3 A	O4 F	O1 E	O2 D	O3 C
Catador 5	O1 E	O2 D	O3 C	O4 B	O1 A	O2 F	O3 E	O4 D
Catador 6	O2 F	O3 E	O4 D	O1 C	O2 B	O3 A	O4 F	O1 E

A-F indican las distintas zonas de cada una de las pechugas
O1-O4 indican los distintos órdenes de presentación de las muestras

Muestras de muslo crudo de pollo

Se llevó a cabo un diseño de bloques completos. En el análisis participaron cuatro de los seis catadores ya que se destinaron únicamente a este análisis ocho muslos por tratamiento. Se realizaron dos sesiones y se utilizaron un total de ocho muestras de cada uno de los tratamientos experimentales. El diseño experimental, resumido en la Tabla 3.10, fue el mismo que el utilizado para las muestras de muslo cocido. A diferencia de las pechugas, la valoración de los muslos en crudo la hacía cada catador con un muslo de cada tratamiento por sesión. Antes de la evaluación, las muestras eran identificadas mediante un código aleatorio de tres cifras.

Tabla 3.10 Esquema general del diseño experimental del muslo crudo y cocido de pollo

	Sesión 1	Sesión 2
Catador 1	O1	O2
Catador 2	O2	O3
Catador 3	O3	O4
Catador 4	O4	O1

O1-O4 indican los distintos órdenes de presentación de las muestras (equivalentes a los de la Tabla 3.8)

Muestras de muslo cocido de pollo

Para la evaluación sensorial de las muestras de muslo cocido también se realizó un diseño de bloques completos. Se efectuaron dos sesiones en las que participaron únicamente cuatro catadores por los motivos expuestos anteriormente.

Una vez hecha la evaluación en crudo, las muestras se envasaron de nuevo al vacío y se cocieron durante 45 minutos al baño maría a 80°C. Transcurrido este tiempo se abrieron las bolsas, se limpió el exudado y se diseccionó el muslo extrayendo el *M. Gastrocnemius* que, envuelto en papel de aluminio, se guardó, debidamente codificado, a 4°C durante seis días. Al sexto día las muestras se recalentaron durante 25 minutos en un horno de convección a 65°C y se sirvieron inmediatamente a los catadores dentro de los contenedores calefactores. Del mismo modo que en las pechugas se balanceó el orden de presentación de las muestras (Tabla 3.8).

3.5.5 DISEÑO EXPERIMENTAL Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE PAVO

Al igual que con la carne de pollo, la evaluación sensorial de la carne de pavo se realizó sobre aquellas muestras de animales a los que no se había administrado el antibiótico, en este caso las procedentes de los tratamientos experimentales P1, P6 y P7.

Muestras de pechuga cruda de pavo

Para el análisis se disponía de doce pechugas de cada tratamiento. Se planteó un diseño de bloques completos según el cual se realizaron seis sesiones dobles en cada una de las cuales se valoraron dos muestras de cada tratamiento experimental. Participaron seis catadores que evaluaban las mismas muestras (seis en total para cada sesión), identificadas con un código aleatorio de tres cifras.

Muestras de pechuga cocida de pavo

Una vez realizada la valoración en crudo, las muestras eran reenvasadas al vacío y cocidas durante 80 minutos en un baño de agua a 80°C. Una vez frías, eran divididas en trozos de forma equivalente a las pechugas de pollo (Figura 3.7) aunque previamente, debido al grosor de la carne, la pechuga se separó en dos partes (superior e inferior), utilizándose para el análisis la parte superior. Los trozos correspondientes a las distintas zonas eran envasados en papel de aluminio, codificados y almacenados durante un día a 4°C. En pruebas previas y tras almacenar las muestras sin envasar al vacío durante un sólo día, se observó la presencia de *flavores* considerablemente rancios, por lo que se decidió no almacenarlas durante un período superior. El día del análisis las muestras eran recalentadas durante 25 minutos en un horno de convección a 65°C y servidas de inmediato dentro de los contenedores calefactores a cada uno de los panelistas, equilibrándose el orden de presentación de las muestras (Tabla 3.11). La Tabla 3.12 muestra el esquema general del diseño experimental.

Tabla 3.11 Órdenes de degustación de los tratamientos en pavo

Orden 01	P1	P7	P6
Orden 02	P6	P1	P7
Orden 03	P7	P6	P1
Orden 04	P6	P7	P1
Orden 05	P7	P1	P6
Orden 06	P1	P6	P7

P1-P7 indican los distintos tratamientos experimentales

Tabla 3.12 Esquema general del diseño experimental de las pechugas cocidas de pavo

	Sesión		Sesión		Sesión		Sesión		Sesión		Sesión	
	1	1'	2	2'	3	3'	4	4'	5	5'	6	6'
Catador 1	01 A	02 F	03 E	04 D	05 C	06 B	01 E	02 D	03 C	04 B	05 A	06 F
Catador 2	02 B	03 A	04 F	05 E	06 D	01 C	02 F	03 E	04 D	05 C	06 B	01 A
Catador 3	03 C	04 B	05 A	06 F	01 E	02 D	03 A	04 F	05 E	06 D	01 C	02 B
Catador 4	04 D	05 C	06 B	01 A	02 F	03 E	04 B	05 A	06 F	01 E	02 D	03 C
Catador 5	05 E	06 D	01 C	02 B	03 A	04 F	05 C	06 B	01 A	02 F	03 E	04 D
Catador 6	06 F	01 E	02 D	03 C	04 B	05 A	06 D	01 C	02 B	03 A	04 F	05 E

O1-O6 indican los distintos órdenes de presentación de las muestras
A-F indican las distintas zonas de cada una de las pechugas

Muestras de muslo crudo de pavo

La valoración de las muestras de muslo crudo se realizó en dos sesiones en las que participaron también los seis catadores (Tabla 3.13). A diferencia de las pechugas, y como en el caso del pollo, cada catador disponía de sus propias muestras para la valoración. El orden de presentación de las muestras se balanceó igual que en el caso de las pechugas (Tabla 3.11).

Tabla 3.13 Esquema general del diseño experimental del muslo crudo y cocido de pavo

	Sesión 1	Sesión 2
Catador 1	O1	O2
Catador 2	O2	O3
Catador 3	O3	O4
Catador 4	O4	O5
Catador 5	O5	O6
Catador 6	O6	O1

O1-O6 indican los distintos órdenes de presentación de las muestras

Muestras de muslo cocido de pavo

Las muestras ya valoradas en crudo eran reenvasadas al vacío y cocidas durante 120 minutos en un baño de agua a 80°C. Una vez frías, el *M. Gastrocnemius* era diseccionado y separado para el análisis. Cada muestra se guardaba envuelta en papel de aluminio y debidamente codificada durante un día a 4°C. Antes de la degustación, las muestras eran recalentadas durante 25 minutos en un horno de convección a 65°C y servidas inmediatamente a los catadores.

3.5.6 EVALUACIÓN SENSORIAL DE LAS MUESTRAS

En todos los casos, los atributos sensoriales fueron cuantificados en una escala de puntuación no estructurada en la que 0 indicaba ausencia del atributo o su valor mínimo y 10 una intensidad muy elevada del mismo.

Para su valoración en crudo, las muestras de pechuga y muslo se disponían sobre un fondo blanco identificadas con el código correspondiente y se valoraban bajo un fluorescente de luz de día blanca de 8W.

La evaluación sensorial de las muestras cocidas se realizó en todos los casos en cabinas de cata normalizadas (norma UNE 87004, 1979) (Figura 3.10) y bajo luz roja con el objetivo de camuflar posibles diferencias de color entre las muestras que pudieran influir en la valoración.

En el caso del muslo, los atributos de *flavor* eran valorados sobre el *M. Gastrocnemius lateralis*, mientras que los de textura se valoraban sobre el *M. Gastrocnemius medialis*.

En las Tablas 3.14, 3.15 y 3.16 se describen los atributos valorados en las muestras, tanto frescas como cocidas, así como el método de análisis que se utilizó en cada caso.



Figura 3.10 Cabina de cata normalizada

Tabla 3.14 Atributos sensoriales valorados en pechuga fresca de pollo y pavo.

Descriptor	Definición	Método de análisis
Atributos visuales		
Claridad/oscuridad carne	Luminosidad de la carne.	A mayor oscuridad le corresponde una nota superior (rosa pálido o rojo intenso).
Manchas de sangre	Presencia de hemorragias o petequias en la superficie de la carne.	Una puntuación superior indica una mayor presencia o importancia de las manchas.
Atributos de olor		
Intensidad de olor	Intensidad general de olor de la carne.	A mayor intensidad de olor le corresponde una nota superior.
Olor a hígado	Cuantificación de la intensidad del olor metálico similar al que produce una solución de sulfato de hierro II.	A mayor intensidad de olor metálico mayor puntuación.

Tabla 3.15 Atributos sensoriales valorados en muslo fresco de pollo y pavo

Descriptor	Definición	Método de análisis
Atributos visuales		
Color blanco/amarillo piel	Intensidad de color amarillo de la piel del muslo.	A mayor intensidad le corresponde una puntuación superior (Blanco=0, amarillo=10).
Color blanco/rosa piel	Intensidad de color rosa de la piel del muslo.	A mayor intensidad le corresponde una puntuación superior (Blanco=0, rosa=10).
Claridad/oscuridad de la carne	Luminosidad de la carne del muslo al levantar la piel.	A mayor oscuridad le corresponde una nota superior (rosa pálido o rojo intenso).
Uniformidad color de la carne	Cuantificación de las variaciones de color entre los distintos músculos	A mayor uniformidad de color entre músculos le corresponde una puntuación superior.
Color grasa interna	Intensidad de color amarillo de la grasa interna del muslo.	A mayor intensidad de amarillo le corresponde una nota superior (Blanco=0, amarillo=10).
Conformación muslo	Forma y grado de desarrollo muscular en el muslo.	A mayor desarrollo muscular y forma más redondeada le corresponde una puntuación superior.
Cantidad de plumas	Cantidad de plumas adheridas a la piel del muslo.	A mayor cantidad de plumas, mayor puntuación.
Atributos de olor		
Olor rancio	Intensidad de la percepción de olor rancio, similar al que produce un aceite de oliva envejecido.	Una puntuación superior hace referencia a una mayor intensidad de olor.
Olor carne cruda	Intensidad de olor característica de la carne cruda de pollo.	A mayor intensidad de olor a carne cruda, mayor puntuación.
Olor sangre/hígado/metálico	Cuantificación de la intensidad de olor metálico similar al que produce una solución de sulfato de hierro II.	A mayor intensidad de olor metálico mayor puntuación.

Tabla 3.16 Atributos sensoriales valorados en pechuga y muslo cocidos de pollo y pavo.

Descriptor	Definición	Método de análisis
Atributos de <i>flavor</i>		
Rancidez	Intensidad de <i>flavor</i> rancio similar al que produce un aceite de oliva envejecido al degustarlo.	A una mayor intensidad de <i>flavor</i> rancio le corresponde una puntuación superior.
<i>Warmed over flavor</i> (WOF)	Intensidad de <i>flavor</i> a recalentado de la carne cocida, relacionado con una rancidez incipiente.	Una puntuación superior corresponde a una mayor intensidad.
Atributos de textura		
Dureza	Propiedad mecánica de la textura relativa a la fuerza requerida para deformar el alimento o para hacer penetrar un objeto (cuchara, cuchillo) en él. En la boca se percibe al comprimir los productos sólidos entre los dientes o los semisólidos entre la lengua y el paladar.	Poner la muestra entre los molares y evaluar la fuerza necesaria para comprimir el alimento. A mayor dureza le corresponde una nota superior.
Jugosidad	Adjetivo correspondiente a un determinado nivel de humedad, propiedad superficial de la textura relativa a la percepción de la cantidad de agua absorbida o liberada por el producto.	Masticar la muestra durante unos segundos y evaluar la cantidad de agua que libera. A mayor cantidad de agua le corresponde una mayor puntuación.
Pastosidad	Sensación de pasta en la boca producida durante la masticación y similar a la producida por una masa de harina en agua.	Una mayor sensación de pasta, similar a una mezcla de harina y agua, percibida en la boca durante el proceso de masticación se traduce en una puntuación superior.
Fibrosidad	Adjetivo relativo a la percepción de una estructura de partículas alargadas de orientación paralela al producto.	A mayor percepción de fibras durante la masticación le corresponde una nota superior.
Adhesividad	Propiedad mecánica de la textura relativa al esfuerzo requerido para separar la superficie del alimento de otra superficie (lengua, dientes).	Percepción de los residuos que quedan adheridos a los dientes una vez terminada la masticación. A mayor percepción le corresponde una nota superior.

3.6 DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE ANTIBIÓTICO EN MÚSCULO E HÍGADO

La determinación de los niveles de antibiótico enrofloxacin y su metabolito ciprofloxacina se llevo a cabo mediante el método desarrollado y optimizado por Hernández-Arteseros (2001). Se trata de un método multiresiduo que fue desarrollado para la determinación de seis quinolonas, entre ellas la enrofloxacin y ciprofloxacina, en muestras de músculos de pollo, de cerdo y de salmón.

3.6.1 REACTIVOS

El ácido dietilmalónico y el ácido oxálico fueron adquiridos en Sigma (Madrid, España). La ciprofloxacina y enrofloxacin para la preparación de patrones fueron proporcionados por Fluka Chemie (Switzerland). Los disolventes utilizados eran de grado HPLC.

3.6.2 EXTRACCIÓN

2 g de muestra se mezclaron con 1.5 ml de ácido dietilmalónico 0.25M pH=7 y 10ml de diclorometano. La mezcla se agitó y se centrifugó durante 10 minutos a 4000rpm y 4°C.

3.6.3 PURIFICACIÓN DEL EXTRACTO (CLEAN-UP)

Se realizó una extracción líquido-líquido del extracto con diclorometano. La fase orgánica obtenida tras la primera centrifugación (S1) se reservó. El residuo fue sometido nuevamente a extracción y la nueva fase orgánica (S2) se unió a la anterior. Después se realizó una retroextracción del analito desde la fase orgánica a la fase acuosa. Debido a que en medio ácido las quinolonas no pasan fácilmente a la fase acuosa, fue necesario agregar sosa. A la reunión de fases orgánicas (S1+S2) se añadieron 2ml de NaOH 1M, se agitó y se volvió a centrifugar en las mismas condiciones. De este modo las quinolonas pasaron a la fase acuosa. Como la disolución de extracción era fuertemente básica, se neutralizó con ácido oxálico antes de

inyectarla en la columna. A 1 ml de la fase acuosa se le añadió 1ml de ácido oxálico 0.5M, se filtró con PTFE de 0.45 μ m y se inyectó en el sistema.

3.6.4 PREPARACIÓN DE PATRONES

Se preparó una solución stock de ciprofloxacina de 100mg/l y una solución stock de enrofloxacin de 1g/l, ambas en HNO₃ 0.01M que se guardaron congeladas a -20°C. A partir de estas soluciones stock se prepararon diariamente patrones de ciprofloxacina y enrofloxacin de concentración 0.1mg/l.

3.6.5 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

Las muestras se analizaron por HPLC mediante un cromatógrafo LKB Bromma integrado por un controlador LKB 2152, bombas de alta presión LKB 2150 y un inyector automático 231-401 Gilson, con una columna de fase inversa C8 de 250x4.6mm y 5 μ m (Luna). La fase móvil consistió en un 18% de acetonitrilo en oxálico 10mM a un flujo de 1.0 ml/min. El ácido oxálico añadido a la fase móvil permitió mantener el pH óptimo para el análisis. El volumen de inyección fue de 100 μ l. Debido a que muchas quinolonas manifiestan una fuerte fluorescencia en solución acuosa ácida, se utilizó la detección por fluorescencia que permite una alta selectividad y sensibilidad. Se trabajó a una λ excitación de 280nm y una λ emisión de 444nm. La concentración de antibiótico detectado se expresó en μ g/g de tejido.

3.6.6 VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Se prepararon curvas de calibración en un intervalo de concentración de 10 a 750 μ g/l para la ciprofloxacina y de 25 a 2500 μ g/l para la enrofloxacin en las que se representó la concentración (y) frente al área del pico obtenido (x). Se comprobó la linealidad del sistema en el intervalo de concentraciones estudiado mediante un análisis de regresión, obteniendo valores de R² que oscilaban entre 0.9973 y 0.9994.

Se realizaron pruebas de fortificación de ciprofloxacina y enrofloxacin (50-150 ppm) en pechuga, muslo e hígado de pollo y pavo, obteniéndose recuperaciones que oscilaban entre el 80% para la enrofloxacin y el 94% para la ciprofloxacina.

3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron analizados mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc., 2000). Se realizaron dos tipos de análisis: uno para los datos de los análisis químicos y otro para los de los sensoriales.

➤ *Datos análisis químicos*

Para cada tejido se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de dos factores incluyendo el tratamiento, el día de análisis y su interacción (en los casos en los que había medias repetidas). Puesto que la interacción resultó no significativa ($p > 0.05$) en todos los casos, se eliminó del modelo.

Para poder comparar las diferencias entre tejidos, y teniendo en cuenta que los distintos tejidos fueron analizados en días diferentes, se decidió efectuar los análisis sobre los residuos. Así, en primer lugar, se realizó un ANOVA de un factor para cada tejido en el que únicamente se incluyó como efecto fijo el día de análisis para eliminar su efecto. A los residuos obtenidos de este análisis se les sumó el correspondiente valor medio del tejido, constituyendo estos datos la base para la comparación entre tejidos. Posteriormente se realizaron dos ANOVAs de un factor (tratamiento o tejido) sobre estos valores (residuo+media).

➤ *Datos análisis sensorial*

Datos pechugas

Se consideró la pechuga como unidad experimental por lo que previamente al análisis de la varianza se realizó la media de las seis valoraciones (correspondientes a los seis catadores) sobre una misma pechuga.

Sobre estos valores medios se realizó un ANOVA de dos factores incluyendo el tratamiento y la sesión de cata como efectos fijos.

Paralelamente y también sobre los valores medios por pechuga, se realizó un ANOVA de un solo factor, incluyendo sesión como efecto fijo, con el fin de obtener los residuos (valores debidos únicamente al efecto tratamiento).

Datos muslos

Puesto que cada catador degustaba un muslo de cada tratamiento, se consideró el muslo, o lo que es lo mismo la medida de cada individuo, como una unidad experimental. Así, se realizó un ANOVA de tres factores incluyendo el tratamiento, el catador, la sesión anidada dentro del catador y la interacción catador*tratamiento.

La interacción catador*tratamiento se considera una medida de la concordancia entre los catadores (Guerrero y Guàrdia, 1997).

En este caso la interacción resultó no significativa para todos los atributos por lo que se eliminó del modelo final.

Al igual que en las pechugas se obtuvieron los residuos mediante un ANOVA de dos factores en este caso, que incluía el catador y la sesión dentro del catador como efectos fijos.

En todos los análisis descritos anteriormente se obtuvieron las medias por mínimos cuadrados y la comparación entre ellas se efectuó mediante el test de Duncan (SAS Institute Inc., 2000)

Finalmente, sobre todos los residuos obtenidos se efectuó un análisis de correlaciones para todas las variables dentro de cada tejido y cada tratamiento. En el anexo 1 se muestran todas las matrices de correlaciones obtenidas, mientras que en el apartado de resultados y discusión únicamente se comentan aquellas correlaciones que fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DEL ESTUDIO REALIZADO EN POLLOS

4.1 ACTIVIDAD DEL SISTEMA DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES

De forma general se admite que cuando los animales se exponen a una situación de estrés oxidativo reaccionan mediante la inducción compensatoria de la actividad de antioxidantes endógenos (Rojas *et al.*, 1996; Renerre *et al.*, 1999). Se desconoce en cambio, si la suplementación de antioxidantes exógenos en la dieta animal puede modificar la actividad del sistema celular de enzimas antioxidantes. Por este motivo y con el fin de comprobar además si la administración de enrofloxacin afectaba a este sistema, se determinaron las actividades enzimáticas glutatión peroxidasa (GSHPx), catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD).

4.1.1 ACTIVIDAD GLUTATIÓN PEROXIDASA (GSHPx)

De las distintas actividades GSHPx descritas (DeVore y Greene, 1982; DeVore *et al.*, 1983), se determinó la dependiente de selenio con el objetivo de comprobar si su actividad resultaba afectada por los tratamientos experimentales llevados a cabo. La actividad del enzima se analizó en pechuga, muslo e hígado de todos los tratamientos experimentales. Se determinó únicamente en el tejido crudo ya que está descrita la pérdida de actividad del enzima a temperaturas superiores a 70°C y su inactivación a partir de 90°C (Lin y Hultin 1978; Mei *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 1996b).

En la Tabla 4.1 se muestra la significación (valores p) de los distintos factores incluidos en el modelo para cada uno de los tejidos analizados.

Tabla 4.1 Significación de los factores incluidos en el modelo para la actividad GSHPx en pechuga, muslo e hígado de pollo

			FACTOR (valores p)		
			Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga	(n=80)	0.0029	0.0004	No estimable
	Muslo	(n=81)	0.4483	0.1307	0.0980
	Hígado	(n=80)	0.4612	<0.0001	0.3991

Observamos que el factor tratamiento experimental fue significativo ($p < 0.05$) únicamente en pechuga, mientras que el factor día de análisis lo fue en pechuga e hígado. Esta significación del factor día podría deberse a pequeñas variaciones en la preparación diaria de los reactivos o bien en las condiciones de análisis. A pesar de esto, el hecho de haber analizado cada día un mínimo de una muestra de cada tratamiento experimental, permitió incorporar el factor día en el modelo para corregir su efecto. Además, en muslo e hígado se disponía de repeticiones de un mismo tratamiento en un mismo día, lo que permitió estimar la interacción tratamiento*día de análisis. Esta interacción resultó ser no significativa ($p > 0.05$) y por lo tanto se eliminó del modelo.

Los valores de actividad GSHPx obtenidos para cada tratamiento y tejido, expresados en nmoles de NADPH oxidado por minuto y mg de proteína, se muestran en la Tabla 4.2.

Tabla 4.2 Valores de actividad GSHPx en pechuga, muslo e hígado de pollo¹.

		TEJIDO			
		Pechuga	Muslo	Hígado	RMSE
TRATAMIENTO	T1	4.38 ^{abC} (n=10)	8.41 ^A (n=10)	5.66 ^B (n=9)	0.74
	T2	3.70 ^{cc} (n=10)	8.11 ^A (n=9)	5.47 ^B (n=9)	0.69
	T3	4.16 ^{abcC} (n=10)	8.67 ^A (n=10)	6.15 ^B (n=10)	0.89
	T4	4.08 ^{bcC} (n=10)	8.48 ^A (n=10)	5.43 ^B (n=10)	0.77
	T5	4.20 ^{abcC} (n=10)	7.96 ^A (n=10)	5.56 ^B (n=10)	0.88
	T6	4.59 ^{abB} (n=10)	8.37 ^A (n=10)	5.07 ^B (n=10)	0.63
	T7	4.39 ^{abC} (n=10)	8.63 ^A (n=12)	5.65 ^B (n=12)	0.74
	T8	4.69 ^{aC} (n=10)	8.53 ^A (n=10)	5.56 ^B (n=10)	0.88
	RMSE	0.53	0.79	0.97	

¹Resultados expresados en nmoles NADPH/min*mg proteína.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{abc}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

^{ABC}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

T1: control; T2: 50 ppm enrofloxacina sin retirada; T3: 50 ppm enrofloxacina con retirada; T4: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacina sin retirada; T5: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacina con retirada; T6: 30 ppm vitamina E; T7: 10 ppm licopeno; T8: 30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno.

Los valores de actividad GSHPx obtenidos en este estudio oscilaron entre los 3.70 y los 8.67 nmoles NADPH/min*mg proteína. En diversos trabajos realizados con carne de pollo se describen valores similares de actividad (DeVore *et al.*, 1983; Maraschiello, 1998; Maraschiello *et al.*, 1999; Sárraga y García Regueiro, 2000; Avanzo *et al.*, 2001; Carreras, 2002).

Debe tenerse en cuenta que la actividad GSHPx depende de distintos factores. En primer lugar depende de la especie animal que se considere. En este sentido, Yamauchi *et al.* (1984) encontraron en músculo de pollo una actividad enzimática superior a la hallada en músculo de cerdo, Mei *et al.* (1994) obtuvieron actividades hasta seis veces mayores en ternera que en cerdo y Daun y Akesson (2004) describieron variaciones de más de cinco veces en la actividad GSHPx entre músculos de distintas especies: pato, pollo, pavo, cordero y avestruz, siendo la carne de pato la que presentaba una actividad más elevada.

El selenio es un elemento esencial para la actividad de la GSHPx dependiente de este elemento. Algunos estudios experimentales han demostrado que la actividad del enzima está afectada de forma significativa por el contenido de selenio en la dieta de los animales (DeVore y Greene, 1982; DeVore *et al.*, 1983; Avanzo *et al.*, 2001; Daun y Akesson, 2004).

Cabe destacar también que el tipo de grasa de la dieta animal influye en la actividad GSHPx. En general, se observa un incremento de actividad al aumentar el grado de insaturación de la grasa y por lo tanto la susceptibilidad a la oxidación del tejido animal (Maraschiello, 1998; Maraschiello *et al.*, 1999; Renerre *et al.*, 1999). Chow *et al.* (1973) observaron en ratas que la administración de dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados aumentaba hasta cuatro veces la actividad GSHPx, sugiriendo que los animales poseen esta vía enzimática para responder al estrés oxidativo y protegerse de él.

Finalmente, se han descrito variaciones en la actividad GSHPx dentro de una misma especie alimentada con una misma dieta en función del tejido estudiado (Hernández *et al.*, 2001; Daun y Akesson, 2004).

En este trabajo, para todos los tratamientos experimentales, se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tres **tejidos** analizados (Tabla 4.2). Los valores más elevados de actividad GSHPx se encontraron en muslo, llegando a ser el doble de los determinados en pechuga, mientras que el hígado presentó valores intermedios pero significativamente distintos a los de muslo y pechuga, exceptuando el tratamiento T6 (30 ppm de vitamina E) que no difirió significativamente de la pechuga.

DeVore *et al.* (1983) en carne de pollo, Hernández *et al.* (2001) en conejo, Lauridsen *et al.* (1999) en cerdo y Renerre *et al.* (1996) en ternera, entre otros autores, señalaron diferencias en la actividad GSHPx entre músculos de una misma especie. En todos los casos, la actividad GSHPx en músculos rojos y oxidativos fue superior a la de los músculos blancos y glicolíticos. En este estudio, el muslo de pollo presentó una actividad GSHPx superior a la de la pechuga, un músculo blanco compuesto mayoritariamente por fibras glicolíticas tipo II. Según Lauridsen *et al.* (1999), se produce una inducción de la actividad del enzima en los tejidos sensibles al estrés oxidativo. Estos datos conducen a señalar al enzima GSHPx como un mecanismo de protección celular frente al daño oxidativo.

Pechuga de pollo

Únicamente en la pechuga se observaron algunas diferencias significativas entre tratamientos experimentales (Tabla 4.2).

La suplementación de **vitamina E** en la dieta de los animales no tuvo ningún efecto sobre la actividad GSHPx; ni los tratamientos suplementados con 100 ppm de vitamina E (T4 y T5) ni los suplementados con 30 ppm de vitamina E (T6 y T8) difirieron significativamente del control (T1). En un estudio previo, la suplementación de 100 ppm de vitamina E en la dieta de broilers tampoco se tradujo en un cambio de actividad GSHPx en pechuga (Carreras, 2002). Estos resultados concuerdan con los descritos por Rojas *et al.* (1996) y Lauridsen *et al.* (1999) en cerdos.

No es de extrañar la falta de relación entre la actividad GSHPx y la vitamina E. De hecho, la vitamina E actúa en la fase lipídica de las membranas de las células musculares mientras que la GSHPx ejerce su efecto antioxidante en un entorno acuoso. Cheng *et al.* (1999) observaron que dosis muy elevadas de vitamina E (hasta 100 veces superiores a las necesidades diarias) añadidas a la dieta de ratones a los que se les había bloqueado el enzima GSHPx (*Knock out* para el gen de la GSHPx dependiente de selenio), no les protegían frente el estrés oxidativo inducido por herbicidas. Probablemente el estrés oxidativo generado en medio acuoso no podía ser evitado por la vitamina E en la fase lipídica. Los dos antioxidantes estarían protegiendo en un entorno distinto y por lo tanto un mayor nivel de vitamina E en las membranas no tendría porqué modificar la actividad citosólica de la GSHPx. Tampoco Chow *et al.* (1973) observaron cambios significativos en la actividad GSHPx de hígado, pulmón, riñón y testículos de ratas a las que se había administrado vitamina E. Por el contrario, Yamauchi *et al.* (1984) apreciaron una disminución de la actividad GSHPx tanto en músculo de pollo como de cerdo, en respuesta a un incremento de la concentración de vitamina E. Totalmente opuestos a estos resultados son los de Avanzo *et al.* (2001) que detectaron un incremento significativo de la actividad GSHPx en la fracción mitocondrial y citosólica de pechuga de pollos alimentados con dietas suplementadas con vitamina E. En este mismo trabajo, los autores indicaron que en los animales alimentados con dietas deficientes en vitamina E se producía una caída de la relación GSH/GSSG ya que, en ausencia de α -tocoferol, el GSH reaccionaba directamente con las especies reactivas derivadas del oxígeno y una parte se utilizaba en el reciclaje de la poca vitamina E presente; entonces, al disminuir la concentración de GSH, disminuía la actividad GSHPx.

La suplementación de 15 ppm de β -caroteno en la dieta animal no afectó a la actividad GSHPx en pechuga. No hubo diferencias significativas entre el tratamiento control (T1), el tratamiento que contenía vitamina E y β -caroteno (T8), y el tratamiento con la misma dosis de vitamina E, pero sin el carotenoide (T6).

En un ensayo anterior con pechugas de pollo, tampoco se observó ningún efecto de la administración de 1.5 ppm de β -caroteno, sólo o en combinación con 100 ppm de vitamina E, sobre la actividad del enzima (Carreras, 2002).

Las muestras de pechugas del tratamiento con **licopeno** (T7) no fueron significativamente diferentes a las controles en cuanto a la actividad de este enzima. Los resultados obtenidos concuerdan con los de Sárraga *et al.* (2001), en los que se utilizó una dosis de 0.1 ppm de licopeno, sólo o en combinación de 100 ppm de vitamina E. Existen pocos estudios acerca de la administración de licopeno en la dieta de animales. Estudios de administración de este carotenoide a dosis bajas (5 ppm), en ratas, mostraron un incremento de la actividad GSHPx en sangre, mientras que a dosis elevadas la actividad revirtió hacia los niveles control (Breinholt *et al.*, 2000). En este mismo estudio, el licopeno administrado a una dosis de 0.05g por Kg. de peso corporal y por día provocó la inducción de la actividad GSHPx.

Respecto a la administración del antibiótico **enrofloxacina**, se observó una ligera disminución de la actividad GSHPx en las muestras de pechuga de los animales a los que se había administrado el fármaco, la cual tendió a ser superior en los tratamientos con antibiótico en los que no se llevó a cabo la fase de retirada (T2 y T4). A pesar de esto, sólo el tratamiento T2 (50 ppm de enrofloxacina sin fase de retirada) fue significativamente inferior al control (T1). Estos resultados no pueden contrastarse con otros estudios ya que no se dispone de referencias acerca del efecto de la administración de antibióticos en producción animal sobre la actividad de los enzimas del sistema antioxidante.

Muslo de pollo

No se observó ningún efecto del tratamiento experimental sobre la actividad GSHPx (Tabla 4.2). Igual que en el caso de la pechuga, la **vitamina E** adicionada en la dieta no afectó a la actividad del enzima. Sin embargo, Maraschiello *et al.* (1999) describieron una disminución de la actividad GSHPx en muslo de pollos alimentados con dietas suplementadas con 200 ppm de vitamina E. Según Maraschiello (1998),

niveles superiores de vitamina E disminuían la sensibilidad a la oxidación y por lo tanto se producía un descenso de la actividad GSHPx; podría existir un mecanismo de regulación genética de forma que se produjera un incremento de la expresión del enzima en respuesta a un aumento del estrés oxidativo o bien la inhibición de la expresión en presencia de otros antioxidantes como la vitamina E.

Ninguno de los dos carotenoides, **licopeno** y **β -caroteno**, añadidos a las distintas dietas produjo un efecto en la actividad GSHPx. Los resultados obtenidos con 15ppm de β -caroteno (T8) concuerdan con el estudio de Sárraga y García Regueiro (2000) en el que se utilizó una dosis de 50 ppm. Por el contrario, Maraschiello (1998) describió una disminución de la actividad GSHPx en muslo de pollo al suplementar la dieta con 15 ppm de β -caroteno, mientras que cuando el carotenoide se suplementó a una dosis de 50 ppm, la actividad GSHPx no difirió del control pero fue superior a la obtenida con una dosis de 15 ppm. El autor propone un posible efecto prooxidante del β -caroteno a 50 ppm.

A diferencia de la pechuga, en muslo no se apreció ningún efecto de la **enrofloxacina** administrada sobre la actividad GSHPx, lo que sugiere que el resultado observado en la pechuga no puede explicarse por las propiedades pro o antioxidantes de las fluoroquinolonas, sino por la acción de más de un proceso.

Hígado de pollo

En las muestras de hígado analizadas no se apreció ningún efecto del tratamiento experimental sobre la actividad GSHPx (4.2). Los resultados coinciden con los de Young *et al.* (2003) que incorporaron una dosis de 200 ppm de vitamina E en la dieta de pollos. Klaus *et al.* (1995) investigaron la influencia de la incorporación de 10 y 100 ppm de vitamina E en la dieta de pollos, detectando solamente un pequeño incremento de la actividad GSHPx en el hígado de los animales a los que se había administrado la dosis mayor.

Suponiendo que la GSHPx protege a la carne del daño oxidativo, se podría correlacionar negativamente la actividad GSHPx con el grado de oxidación lipídica de

las muestras representado por los valores de TBARS. Lee *et al.* (1996b) describieron una correlación negativa entre la actividad de la GSHPx y la formación de TBARS en carne de cerdo y de ternera, sugiriendo que este enzima podía ser importante en la prevención de la oxidación lipídica. También DeVore *et al.* (1983) encontraron que al aumentar la actividad GSHPx disminuían los valores de TBARS en muslo y pechuga de pollo. En este estudio esta correlación fue únicamente significativa en el tratamiento T3 (50 ppm enrofloxacin con retirada) de pechugas ($r=-0.65$) y en el tratamiento T5 (100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada) de muslos ($r=-0.69$). El hecho de que la correlación sólo se observe en un tratamiento de cada tejido hace pensar que la protección que puede ejercer la GSHPx frente a la oxidación lipídica no es tan evidente como algunos autores sugieren.

Maraschiello *et al.* (1999) observaron una correlación positiva entre los valores de TBARS y la GSHPx además de una correlación negativa entre la actividad del enzima y los niveles de vitamina E en muslo de pollo, apuntando que la actividad GSHPx podría ser utilizada como un indicador de la estabilidad oxidativa de un tejido. Estos autores sugirieron que en condiciones en las que no hubiese suficiente vitamina E para proteger de la oxidación se produciría un incremento de la actividad GSHPx. También Yamauchi *et al.* (1984) observaron una tendencia a una menor actividad GSHPx en los músculos con mayor contenido en vitamina E, tanto en pollo como en cerdo, y apuntaron que podría existir una relación compensacional entre los niveles de vitamina E y la actividad GSHPx. En este caso, no se observó correlación significativa entre la GSHPx y los niveles de vitamina E en ninguno de los tratamientos experimentales ni de pechuga ni de muslo.

En ninguno de los dos tejidos musculares se obtuvieron correlaciones significativas entre la GSHPx y los otros dos enzimas analizados (CAT y SOD).

En los tratamientos T1 (control) y T3 (50 ppm enrofloxacin con retirada) de hígado, sí se observó una correlación positiva entre la GSHPx y la SOD ($r=0.70$ y $r=0.76$, respectivamente) que podría estar indicando la cooperación entre los enzimas para contribuir a la protección frente a la degradación oxidativa.

4.1.2 ACTIVIDAD CATALASA (CAT)

La actividad catalasa se determinó en todos los tejidos (pechuga, muslo e hígado) y para todos los tratamientos experimentales. Del mismo modo que la actividad GSHPx, no se analizó en carne cocida pues el enzima se inactiva a temperaturas superiores a 70°C (Mei *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 1996b).

Los valores p de los distintos factores incluidos en el modelo se detallan en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3 Significación de los factores incluidos en el modelo para la actividad CAT en pechuga, muslo e hígado de pollo

			FACTOR (valores p)		
			Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga	(n=80)	0.2066	<0.0001	No estimable
	Muslo	(n=81)	0.1967	<0.0001	P=0.0940
	Hígado	(n=80)	0.0013	<0.0001	P=0.0724

El factor tratamiento fue significativo ($p < 0.05$) únicamente en hígado mientras que el factor día de análisis lo fue en los tres tejidos analizados. Igual que en el caso de la GSHPx, cada día se analizó un mínimo de una muestra de cada tratamiento y, exceptuando la pechuga, hubo repeticiones de un mismo tratamiento en un mismo día lo que permitió estimar la interacción tratamiento*día. Al resultar no significativa, la interacción se eliminó del modelo dejando el factor día de análisis para corregir su efecto.

Los valores de actividad CAT, expresados en μmoles de H_2O_2 eliminados por minuto y miligramo de proteína, se muestran en la Tabla 4.4.

Tabla 4.4 Valores de actividad CAT en pechuga, muslo e hígado de pollo¹.

	TEJIDO						
	Pechuga		Muslo		Hígado		RMSE
TRATAMIENTO	T1	0.61 ^B (n=10)	1.23 ^A (n=10)	1.61 ^{bA} (n=9)	0.41		
	T2	0.57 ^C (n=10)	1.13 ^B (n=9)	1.77 ^{bA} (n=9)	0.31		
	T3	0.46 ^C (n=10)	1.04 ^B (n=10)	2.38 ^{aA} (n=10)	0.36		
	T4	0.52 ^C (n=10)	1.01 ^B (n=10)	1.70 ^{bA} (n=10)	0.30		
	T5	0.47 ^C (n=10)	1.08 ^B (n=10)	1.36 ^{bA} (n=10)	0.23		
	T6	0.55 ^C (n=10)	1.08 ^B (n=10)	1.56 ^{bA} (n=10)	0.31		
	T7	0.50 ^C (n=10)	1.00 ^B (n=12)	1.58 ^{bA} (n=12)	0.27		
	T8	0.48 ^C (n=10)	1.02 ^B (n=10)	1.49 ^{bA} (n=10)	0.35		
RMSE	0.14	0.21	0.50				

¹Resultados expresados en $\mu\text{moles}/\text{min} \cdot \text{mg}$ proteína.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{ab}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

^{ABC}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

T1: control; T2: 50 ppm enrofloxacina sin retirada; T3: 50 ppm enrofloxacina con retirada; T4: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacina sin retirada; T5: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacina con retirada; T6: 30 ppm vitamina E; T7: 10 ppm licopeno; T8: 30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno.

Los valores de actividad oscilaron entre los 0.46 y los 2.38 μmoles $\text{H}_2\text{O}_2/\text{min} \cdot \text{mg}$ proteína y fueron similares a los obtenidos en otros estudios (Avanzo *et al.*, 2001; Carreras, 2002).

La bibliografía acerca de la actividad antioxidante de la catalasa es escasa a pesar de que se trata de un enzima crítico que se mantiene estable durante el almacenamiento de la carne fresca refrigerada (Pradhan *et al.*, 2000).

En realidad, la GSHPx posee mucha más afinidad por el H_2O_2 que la CAT, sugiriendo que en condiciones normales la mayor parte del H_2O_2 es degradado por la GSHPx (Avanzo *et al.*, 2001). En general, se considera que bajas concentraciones de H_2O_2 estimulan la actividad GSHPx mientras que altas concentraciones son preferentemente catalizadas por la CAT (Chihuailaf *et al.*, 2002). Además, el hecho de que las ROS se generen principalmente en las mitocondrias, las cuales no poseen

actividad CAT, indica el importante papel de la GSHPx en la reducción del H₂O₂ (Avanzo *et al.*, 2001).

Del mismo modo que la actividad GSHPx, la actividad CAT depende en gran medida de la especie animal considerada. Renerre *et al.* (1999) y Lee *et al.* (1996a) observaron una actividad inferior en carne de pavo en comparación con otras carnes como la de cerdo o la de ternera y de acuerdo con Mei *et al.* (1994), la actividad CAT en músculo de cerdo es el doble que en músculo de ternera.

Por otro lado, esta actividad enzimática se ve también influida por el tipo de grasa de la dieta animal, de forma que al aumentar el grado de insaturación de esta se observa un incremento de la actividad CAT (Renerre *et al.*, 1999).

También se han descrito diferencias en la actividad según el tejido estudiado (Rhee *et al.*, 1996).

Comparando de forma global los tres tejidos analizados (Tabla 4.4), los valores de actividad más elevados se obtuvieron en hígado y los inferiores en pechuga. Las diferencias significativas ($p < 0.05$) se dieron entre los tres tejidos en todos los tratamientos excepto en el control (T1). Respecto a las muestras del tratamiento control (T1), los resultados en muslo no presentaron diferencias significativas en relación a los de hígado; al mismo tiempo que en pechuga, dicho tratamiento no difirió de la mayoría de los resultados obtenidos en muslo.

La mayor actividad CAT detectada en hígado y muslo podría estar relacionada con el contenido en pigmentos de estos dos tejidos. Según Rhee *et al.* (1996), la autooxidación de la oximioglobina genera metamioglobina y O₂^{-•}, el cuál a su vez puede dar lugar a H₂O₂; esto explicaría el porqué los músculos más pigmentados como el muslo de pollo presentarían, como mecanismo de protección, una mayor actividad CAT en comparación con los músculos con menor contenido en pigmentos como la pechuga. También Hernández *et al.* (2001) describieron actividades del enzima superiores en muslo que en *M. Longissimus dorsi* de conejo.

Pechuga de pollo

En las muestras de pechuga no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 4.4). Los antioxidantes adicionados en las condiciones descritas no afectaron la actividad catalasa. Tampoco se observó ningún efecto relacionado con la administración de enrofloxacin a los animales.

Carreras (2002) indica una tendencia al incremento de la actividad CAT con 100 ppm de vitamina E suplementada a la dieta, sola o junto a 1.5 ppm de β -caroteno. Renerre *et al.* (1999) en cambio, no encontraron ningún efecto de la vitamina E sobre la actividad CAT en pechuga de pollo.

Muslo de pollo

Igual que en la pechuga, no se apreció ningún efecto de los antioxidantes utilizados ni de la administración de enrofloxacin sobre la actividad CAT (Tabla 4.4).

Tampoco Renerre *et al.* (1999) observaron efecto de la vitamina E sobre la actividad CAT en el muslo cuando esta se adicionó en la dieta de pollos.

Hígado de pollo

Como muestra la Tabla 4.4, el tratamiento T3 (50 ppm **enrofloxacin** con fase de retirada) fue significativamente superior al resto de tratamientos experimentales. Este incremento en la actividad CAT podría deberse, como describieron Avanzo *et al.* (2001), a un intento de contrarrestar una disminución en la actividad GSHPx, pero como puede observarse en la Tabla 4.2, la actividad GSHPx de las muestras de hígado del tratamiento T3 resultó ser la más elevada de todos los tratamientos. Debe tenerse en cuenta que los resultados obtenidos en este tejido presentaron una dispersión considerable. El hecho de no observarse efecto de la enrofloxacin en ninguno de los demás tratamientos en los que se administró y dada la variabilidad de los resultados obtenidos, sería necesario aumentar el número de muestras a analizar para poder extraer conclusiones acerca de la influencia de la administración del fármaco sobre este enzima.

La suplementación de **vitamina E** no afectó a la actividad CAT en concordancia con los estudios de Klaus *et al.* (1995) y Young *et al.* (2003) en carne de pollo, de Renerre *et al.* (1999) en pavo y de Rojas *et al.* (1996) en cerdo.

Ni el **β -caroteno** ni el **licopeno**, en las dosis suministradas, ejercieron ningún efecto significativo sobre la catalasa.

4.1.3 ACTIVIDAD SUPERÓXIDO DISMUTASA (SOD)

La actividad superóxido dismutasa se evaluó en el tejido crudo, a pesar de que este enzima se inactiva a temperaturas superiores a las de la GSHPx y CAT (Lee *et al.*, 1996b). Según algunos autores, el hecho de que se inactiva a temperaturas superiores al resto de enzimas parecería indicar que la SOD tendría un papel importante en la prevención de la oxidación lipídica en las carnes cocidas (Mei *et al.*, 1994).

La significación de los factores incluidos en el modelo se muestra en la Tabla 4.5.

Tabla 4.5 Significación de los factores incluidos en el modelo para la actividad SOD en pechuga, muslo e hígado de pollo

		FACTOR (valores p)			
		Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis	
TEJIDO	Pechuga	(n=80)	<0.0001	<0.0001	No estimable
	Muslo	(n=81)	0.7568	<0.0001	0.2835
	Hígado	(n=80)	0.5753	<0.0001	0.8235

En este caso, el factor tratamiento resultó significativo ($p < 0.0001$) únicamente en pechuga. Igual que en los casos anteriores, se corrigió el efecto del día de análisis y se estimó la interacción tratamiento*día de análisis en los casos posibles (muslo e hígado) que, al resultar no significativa ($p > 0.05$), se eliminó del modelo.

La actividad SOD expresada en unidades de SOD por miligramo de proteína queda reflejada en la Tabla 4.6.

Tabla 4.6 Valores de actividad SOD en pechuga, muslo e hígado de pollo¹.

		TEJIDO						
		Pechuga		Muslo		Hígado		RMSE
TRATAMIENTO	T1	1.58 ^{cdB}	(n=10)	2.78 ^A	(n=10)	3.03 ^A	(n=9)	0.73
	T2	1.54 ^{dB}	(n=10)	2.81 ^A	(n=9)	1.84 ^B	(n=9)	0.77
	T3	1.78 ^{bB}	(n=10)	2.81 ^A	(n=10)	3.09 ^A	(n=10)	0.86
	T4	1.71 ^{bcdB}	(n=10)	2.77 ^A	(n=10)	2.60 ^A	(n=10)	0.78
	T5	1.76 ^{bcB}	(n=10)	2.69 ^A	(n=10)	2.97 ^A	(n=10)	0.88
	T6	1.98 ^{aB}	(n=10)	2.85 ^A	(n=10)	2.87 ^A	(n=10)	0.86
	T7	1.98 ^{aB}	(n=10)	2.97 ^A	(n=12)	2.88 ^A	(n=12)	0.81
	T8	1.97 ^a	(n=10)	2.76	(n=10)	2.61	(n=10)	0.84
RMSE	0.20		0.34		1.36			

¹Resultados expresados en unidades SOD/mg proteína.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{abcd}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

^{AB}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

T1: control; T2: 50 ppm enrofloxacina sin retirada; T3: 50 ppm enrofloxacina con retirada; T4: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacina sin retirada; T5: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacina con retirada; T6: 30 ppm vitamina E; T7: 10 ppm licopeno; T8: 30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno.

Igual que en los otros dos enzimas antioxidantes se ha descrito una variación de la actividad SOD entre especies animales (siendo dos veces superior en ternera que en cerdo (Mei *et al.*, 1994)), un aumento de actividad al aumentar el grado de insaturación de la grasa de la dieta animal (Renerre *et al.*, 1999) y diferencias entre tipos musculares dentro de un mismo animal (Renerre *et al.*, 1996).

También parece haber un componente genético responsable de la variabilidad de la actividad del enzima; Hernández *et al.* (2004) encontraron grandes diferencias en las actividades SOD y CAT en carne de cerdos de distintos genotipos. Estas variaciones sugieren que la selección genética de animales con elevada actividad de

este u otros enzimas antioxidantes podría utilizarse para mejorar la estabilidad oxidativa del músculo esquelético (Lee *et al.*, 1996b; Hernández *et al.*, 2001).

Además, la biosíntesis del enzima parece encontrarse fuertemente regulada por la concentración del sustrato sobre el cual actúa. Según algunos investigadores esta es una ventaja frente a los compuestos antioxidantes añadidos en la dieta ya que la actividad del enzima antioxidante endógeno puede regularse de acuerdo con las necesidades celulares siendo inducido, inhibido o activado por efectores endógenos (Chihuailaf *et al.*, 2002).

McKersie (1996) sugirió que cada isoenzima SOD esta regulado independientemente de acuerdo con el grado de estrés oxidativo del compartimiento subcelular en el que se encuentra. Aunque el mecanismo a escala molecular es aún desconocido, podría ser que algunos productos de oxidación lipídica actuaran sobre la transcripción de genes SOD específicos.

En las muestras de pechuga, muslo e hígado de pollo analizadas, la actividad del enzima osciló entre 1.54 y 3.09 unidades SOD/mg proteína (Tabla 4.6). Los valores más elevados se obtuvieron en hígado y muslo, no habiendo diferencias significativas entre estos dos tejidos, excepto para el tratamiento T2 (50 ppm enrofloxacin sin retirada) que fue significativamente superior en muslo. Los valores obtenidos en pechuga fueron significativamente inferiores a los de muslo e hígado exceptuando los del tratamiento T8 (30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno) que no difirieron en los tres tejidos estudiados.

En relación con estos resultados, Renerre *et al.* (1999) obtuvieron valores de actividad SOD en muslo de pavo 1.5 veces superiores a los de pechuga. Lauridsen *et al.* (1999) describieron una mayor actividad SOD en el músculo *psaos major* (PM) que en el *longissimus dorsi* (LD) de cerdos. Según estos autores, la mayor proporción de ácidos grasos monoinsaturados en los triglicéridos y fosfolípidos del músculo blanco LD explicaría la menor actividad SOD si se compara con el músculo rojo y más oxidativo PM, pues al ser estos ácidos grasos menos propensos al ataque oxidativo, las defensas antioxidantes podrían disminuir.

Pechuga de pollo

Las muestras de los tratamientos suplementados únicamente con antioxidantes (T6, T7 y T8) presentaron valores de SOD significativamente superiores al resto de tratamientos experimentales, incluyendo el control (T1). Según Lauridsen *et al.* (1999), 100 y 200 ppm de vitamina E adicionados en la dieta de cerdos no afectaron la actividad SOD. Tampoco Rojas *et al.* (1996) observaron cambios en la actividad con la suplementación de 15 a 1500 ppm de vitamina E a cerdos. En otro trabajo previo a este estudio, la suplementación de 100 ppm de vitamina E o 0.1 ppm de licopeno no modificaron la actividad SOD en pechuga de pollos respecto al control, en cambio, 1.5 ppm de β -caroteno disminuyeron significativamente dicha actividad (Carreras, 2002).

De los grupos a los que se había administrado antibiótico, el tratamiento T3 (50 ppm enrofloxacin con retirada) fue el único significativamente distinto (superior) al control. Este tratamiento también fue significativamente superior al tratamiento T2, al que se había administrado la misma dosis de enrofloxacin pero sin fase de retirada.

Muslo de pollo

Del mismo modo que con la GSHPx y la CAT, no se apreciaron diferencias significativas entre tratamientos en este tejido para la SOD (Tabla 4.6).

Hígado de pollo

Tampoco en el hígado se encontraron diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 4.6), aunque ello pudo estar influenciado por la elevada dispersión de los resultados obtenidos en este tejido. Carreras (2002) tampoco observó ningún efecto de los antioxidantes suplementados (vitamina E, β -caroteno y licopeno) sobre la actividad SOD en hígado de pollos.

A partir de los resultados obtenidos en las muestras de carne de pollo se puso de manifiesto que los antioxidantes utilizados, a las dosis testadas, no influían de forma significativa sobre la actividad de los enzimas antioxidantes determinados. Únicamente se observó un efecto significativo sobre la actividad SOD en las muestras de pechuga. En este sentido, no se pudo establecer una relación entre los antioxidantes adicionados en la dieta animal y la actividad de los antioxidantes endógenos, bien sea por la concentración de antioxidantes naturales utilizada, por la biodisponibilidad y acumulación de estos en los tejidos o por el diferente entorno de actuación de estos antioxidantes en relación a la GSHPx, CAT y SOD.

Los datos obtenidos acerca de la administración de enrofloxacin a los animales muestran que el fármaco afectó en determinados casos la actividad de los enzimas antioxidantes endógenos. Así, la administración del antibiótico sin período de retirada disminuyó la actividad GSHPx de pechuga, mientras que respetando el período de retirada aumentó la actividad CAT y SOD en hígado y pechuga, respectivamente. Sin embargo, con los resultados disponibles no es posible determinar de forma clara el mecanismo de las interacciones que se producen entre estos compuestos.

4.2 NIVELES DE VITAMINA E EN MÚSCULO

Con el fin de verificar si el α -tocoferol suplementado en la dieta de los pollos se acumulaba a nivel muscular, se determinaron las concentraciones de vitamina E en pechuga y muslo de todos los tratamientos experimentales.

En la Tabla 4.7 se muestra la significación (valores p) de cada uno de los factores incluidos en el modelo para los dos tejidos analizados.

Tabla 4.7 Significación de los factores incluidos en el modelo para la vitamina E en pechuga y muslo de pollo

			FACTOR (valores p)		
			Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga	(n=79)	<0.0001	0.3078	No estimable
	Muslo	(n=79)	<0.0001	0.2941	0.8919

El factor tratamiento experimental fue claramente significativo ($p < 0.0001$) en ambos tejidos. También lo fue el factor tejido para cada uno de los tratamientos experimentales (valores p no mostrados). El factor día de análisis no resultó significativo ni en pechuga ni en muslo. La interacción tratamiento*día de análisis pudo estimarse únicamente en muslo donde se disponía de repeticiones de un mismo tratamiento en un mismo día y, al resultar no significativa, se eliminó del modelo.

En la Tabla 4.8 se muestran los valores de concentración de vitamina E, expresados en μ gramos de vitamina E por gramo de tejido, de los distintos tratamientos experimentales y en los dos tejidos analizados.

Tabla 4.8 Niveles de vitamina E en pechuga y muslo de pollo¹

		TEJIDO				
		Pechuga		Muslo		RMSE
TRATAMIENTO	T1	0.72 ^{bB}	(n=10)	2.08 ^{cA}	(n=10)	0.55
	T2	0.81 ^{bB}	(n=10)	2.30 ^{cA}	(n=9)	0.60
	T3	1.06 ^{bB}	(n=10)	2.39 ^{cA}	(n=10)	0.89
	T4	2.07 ^{aB}	(n=10)	6.30 ^{aA}	(n=10)	1.14
	T5	1.81 ^{aB}	(n=9)	5.58 ^{aA}	(n=9)	1.24
	T6	0.96 ^{bB}	(n=10)	4.32 ^{bA}	(n=10)	1.53
	T7	0.92 ^{bB}	(n=10)	2.19 ^{cA}	(n=12)	0.81
	T8	0.93 ^{bB}	(n=10)	2.42 ^{cA}	(n=9)	0.54
	RMSE	0.68		1.19		

¹Resultados expresados en μg de vitamina E/g tejido.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{abc}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

^{AB}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

T1: control; T2: 50 ppm enrofloxacin sin retirada; T3: 50 ppm enrofloxacin con retirada; T4: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada; T5: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada; T6: 30 ppm vitamina E; T7: 10 ppm licopeno; T8: 30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno.

De forma general, los niveles de vitamina E presentes en el tejido animal dependen de diversos factores:

- En primer lugar dependen del modo de suplementación de la vitamina. La adición *postmortem* del α -tocoferol en la carne resulta en un contacto extensivo superficial y no intramembranal. Únicamente la suplementación dietética permite la incorporación del α -tocoferol en los compartimientos subcelulares en una posición óptima para su actuación frente a la peroxidación (Arnold *et al.*, 1993; Fernández-Ginés *et al.*, 2001). Higgins *et al.* (1998) comprobaron mediante la suplementación de 600 ppm de vitamina E en la dieta de pavos que cuando se adicionó la vitamina en condiciones *postmortem* las concentraciones presentes en la carne fueron superiores que cuando la vitamina E se suplementó en la dieta animal, pero el efecto antioxidante de la vitamina no se manifestó.

- Cuando se incorpora la vitamina en la dieta animal, son muy importantes tanto la dosis como la duración del período de suplementación. Estos deberán ajustarse según el objetivo que se persiga: estabilizar frente a la oxidación o aumentar el depósito de vitamina E en la carne. En general, cuanto más vitamina E se suplementa y/o más largo es el período de suplementación, superiores son las concentraciones de la vitamina en el tejido (Arnold *et al.*, 1993; Barroeta y Cortinas, 2002a). En este sentido, Sheehy *et al.* (1991) observaron que los niveles dietéticos de vitamina E y los encontrados en los tejidos de broiler estaban muy interrelacionados.
- Un factor importante es el tipo de grasa incorporada en la dieta animal. Por un lado, el tipo de grasa con el que se encuentra la vitamina E a nivel intestinal es fundamental: un alto contenido en AGPI puede reducir la eficiencia de la síntesis de quilomicrones y VLDL y, a la vez, disminuir la tasa de difusión de las micelas a través de la membrana celular de la mucosa intestinal debido al incremento del tamaño y al número de cargas negativas de las superficie de estas lo que provoca un descenso en la absorción de la vitamina (Bramley *et al.*, 2000).

Por otro lado, cuando se adicionan grasas insaturadas en la dieta con el fin de aumentar el contenido en AGPI de la carne, deben ajustarse las concentraciones de vitamina E para compensar el estrés oxidativo impuesto por las grasas de la dieta (Galvin *et al.*, 1997). Se ha observado que el tejido muscular de animales alimentados con grasas insaturadas acumula menos vitamina E (Mercier *et al.*, 1998; Renerre *et al.*, 1999; Russell *et al.*, 2001). Maraschiello *et al.* (1999) observaron que mediante la suplementación de 200 ppm de vitamina E en la dieta de broilers se producía un incremento de hasta seis veces los niveles de vitamina E del muslo cuando la grasa de la dieta era manteca de cerdo, mientras que el incremento era sólo de dos o tres veces cuando la grasa era aceite de girasol o de oliva. Mercier *et al.* (2001) sugirieron que alimentar animales con grasas más insaturadas inducía una

mayor oxidación de la vitamina E adicionada, disminuyendo el contenido de esta en las membranas musculares. Por lo tanto, en general, la incorporación de la vitamina E necesaria para prevenir la oxidación de la carne aumenta con la inclusión de AGPI en el pienso (Barroeta y Cortinas, 2002b).

Tampoco debe despreciarse el contenido de vitamina E endógena que aportan determinadas grasas utilizadas en nutrición animal, como el aceite de girasol o el aceite de oliva (Ruiz *et al.* 1999).

- Las concentraciones de vitamina E dependen de la especie animal que se considere. El pavo, por ejemplo, acumula menos α -tocoferol a través de la dieta que el pollo, de modo que se requieren concentraciones superiores de vitamina E y/o prolongar el período de suplementación para conseguir efectos similares (Bartov *et al.*, 1983; Sklan *et al.*, 1983; Morrissey *et al.*, 1998). Sklan *et al.* (1983) sugirieron que los niveles inferiores de vitamina E encontrados en carne de pavo en comparación con otras especies eran debidos, en parte, a la mayor producción y excreción de tocoferil glucorónidos en estos animales.
- Finalmente los niveles de vitamina E varían en función del tejido animal que se estudie ya que los tejidos responden de forma distinta al α -tocoferol ingerido por el animal. Sheehy *et al.* (1991) encontraron que los niveles de α -tocoferol en los tejidos de broiler respondían al aporte dietético en el siguiente orden: corazón≈pulmón > hígado > muslo > cerebro. Lo Fiego *et al.* (2004) observaron en tejidos de conejo niveles superiores de vitamina E en hígado seguido de riñón, muslo y lomo. Además, existen diferencias dentro del tejido muscular en función del tipo de fibras musculares y las características metabólicas del músculo (Jensen *et al.*, 1998).

En este trabajo, las concentraciones de vitamina E encontradas en el tejido muscular estuvieron estrechamente relacionadas con la dosis adicionada en la dieta (Tabla 4.8). Además se observó una clara diferencia en los niveles de vitamina E entre los dos **tejidos** analizados; para todos los tratamientos experimentales, ya fuesen los suplementados con niveles supranutricionales de vitamina E (T4, T5, T6 y T8) o sólo contuviesen la concentración basal (T1, T2, T3 y T7), los niveles fueron significativamente superiores ($p < 0.0001$) en muslo que en pechuga. Los resultados obtenidos en diversos estudios de suplementación de vitamina E a la dieta de pollos coinciden con este resultado. De Wiinne y Dirinck (1996) obtuvieron niveles de vitamina E 1.6 veces más elevados en muslo que en pechuga de pollos alimentados con dietas que contenían 200 ppm del antioxidante. Mercier *et al.* (1998) encontraron aproximadamente el doble de vitamina E en muslo que en pechuga de pavos, independientemente de la dosis de vitamina añadida en la dieta. También Renerre *et al.* (1999) y Gatellier *et al.* (2000) observaron niveles el doble de elevados en muslo que en pechuga de pavos a los que se había adicionado 200 ppm de vitamina E en la dieta. Este fenómeno ha sido también observado en otras especies animales como cerdos (Yamauchi *et al.*, 1984; Kingston *et al.*, 1998; Lauridsen *et al.*, 1999; Phillips *et al.*, 2001), terneras (Chan *et al.*, 1996), corderos (Guidera *et al.*, 1997) o patos (Russell *et al.*, 2001), donde en todos los casos la concentración de vitamina E era más elevada en los músculos más oxidativos.

Jensen *et al.* (1988) mostraron que los músculos esqueléticos con más capacidad oxidativa, ricos en fibras del tipo I y IIA poseían una mayor capacidad de acumular vitamina E. Los principales motivos serían:

- La presencia de una red más compleja de capilares sanguíneos a través de los cuales se aporta la vitamina E. En este sentido, Sosnicki *et al.* (1991) observaron que el número de capilares del *m. femoris* de pavo era el doble en comparación con el *m. pectoralis*.
- El contenido lipídico superior de estos músculos, el cual les proporciona una mayor capacidad para acumular α -tocoferol.

- El hecho de poseer un mayor número de mitocondrias dado que supone un mayor volumen de membrana donde retener el α -tocoferol (Liu *et al.*, 1995).

En resumen, independientemente de la suplementación de α -tocoferol a la dieta, el muslo de pollo contiene más vitamina E endógena que la pechuga, aunque, como se ha comentado anteriormente, presenta una mayor susceptibilidad a la oxidación debido a su mayor proporción de AGPI y especies prooxidantes.

Pechuga de pollo

La suplementación de 100 ppm de α -tocoferol en la dieta (T4 y T5) provocó un incremento significativo de los niveles de vitamina E respecto al resto de tratamientos experimentales, en los cuales los animales solo habían recibido 20 ppm de vitamina E contenidos en la dieta basal o una dosis de 30 ppm (Tabla 4.8). Los niveles fueron unas dos veces y media superiores en estos tratamientos que en el control (T1) (Figura 4.1).

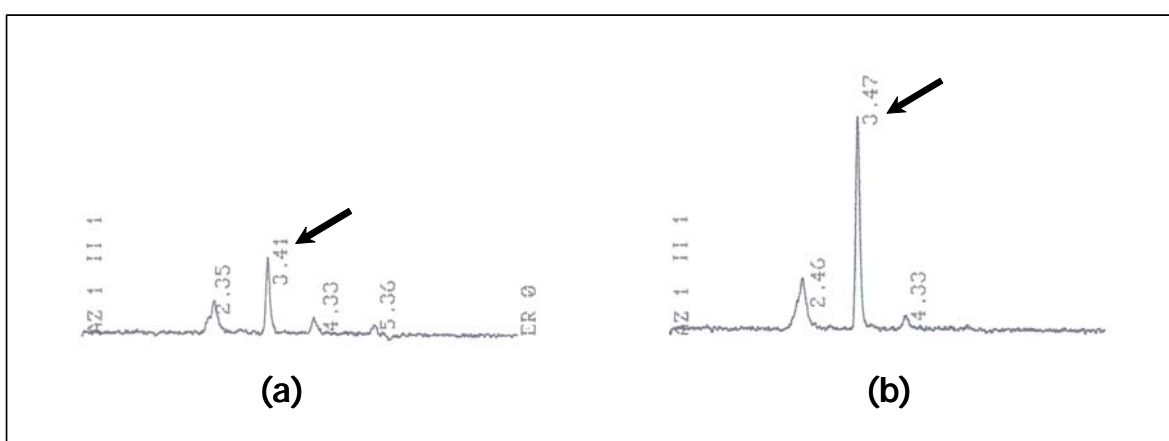


Figura 4.1 Cromatogramas de la vitamina E en muestras de pechuga del tratamiento control (a) y del tratamiento T4 (b).

Carreras *et al.* (2004) observaron un incremento del doble en los niveles de vitamina E en pechuga de pollos a los que se había administrado la misma dosis. Tang *et al.* (2002) y Young *et al.* (2003) con un suplemento de 200 ppm obtuvieron, en pechuga, niveles tres veces superiores a los respectivos controles. Gatellier *et al.* (2000) y Renerre *et al.* (1999) obtuvieron, adicionando 200 ppm de α -tocoferol a la dieta de pavos, niveles en pechuga hasta cinco veces superiores al control. Mercier *et al.* (1998) encontraron concentraciones hasta seis veces mayores al control con una dosis de 400 ppm de la vitamina.

Las diferencias existentes entre los distintos estudios se deben a la dosis de vitamina E añadida en la dieta, al contenido de vitamina E de la dieta basal y también al tipo de grasa administrada. En cualquier caso, todos coinciden en que la suplementación de vitamina E por encima de los requerimientos nutricionales en la dieta de los animales provoca un incremento de los niveles de vitamina E en el tejido muscular.

La utilización de 30 ppm de vitamina E (T6) en cambio, daba lugar a niveles del antioxidante que no diferían del tratamiento control (T1). Debe tenerse en cuenta que la dieta basal de todos los tratamientos contenía 20 ppm de α -tocoferol que, según las recomendaciones nutricionales, sería la dosis óptima para la cría de broilers en condiciones normales (Jensen *et al.*, 1998). Por lo tanto, una dosis de 30 ppm es muy cercana a los requerimientos nutricionales y a la dosis recibida por todos los animales; este podría ser el motivo por el que no se apreciaban diferencias. A pesar de esto, esta dosis de vitamina E resultó efectiva como antioxidante en este tejido, como se comprobó posteriormente mediante los valores de TBARS (ver Tabla 4.16). Galvin *et al.* (1997) comprobaron también la eficacia de la suplementación de 30 ppm de vitamina E a la dieta de broilers sobre la estabilidad oxidativa del músculo de pechuga.

No se detectaron diferencias significativas entre la suplementación de 30 ppm de vitamina E (T6) y la combinación de 30 ppm de vitamina E junto a 15 ppm de β -caroteno (T8). La suplementación del β -caroteno no afectó de forma significativa a

los niveles de vitamina E. En un estudio previo con pollos se observó que 1.5 ppm de β -caroteno suplementados junto a 100 ppm de vitamina E tendían a disminuir los niveles de vitamina E respecto a cuando se administraba la misma dosis de vitamina E sola, a pesar de que las diferencias no eran significativas. También se observó que la suplementación de 1.5 ppm de β -caroteno tendía a disminuir los niveles de vitamina E proporcionados por la dieta basal en comparación con el control (Carreras *et al.*, 2004). A pesar de que el efecto del β -caroteno no se reflejó en este caso en los niveles de vitamina E, sí se observaron diferencias entre los tratamientos T6 y T8 en los valores de TBARS, como se verá posteriormente en la Tabla 4.16.

El **licopeno** no afectó significativamente los niveles de vitamina E, coincidiendo con el resultado obtenido por Carreras (2002) anteriormente en la misma matriz, pero con una dosis de 0.1 ppm del carotenoide.

En cuanto a la administración de la **enrofloxacina**, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos sin y con período de retirada (T2 y T3, respectivamente) y el grupo control (T1). Por otro lado, se observaron tendencias opuestas entre tratamientos en relación a la suplementación de vitamina E y a la retirada o no del antibiótico. Así, el nivel de vitamina E en el tratamiento T3 (50 ppm enrofloxacina con retirada) tendió a ser superior al detectado en el tratamiento T2 (50 ppm enrofloxacina sin retirada), al contrario de lo que ocurrió entre los tratamientos en que se suplementó la dieta con 100 ppm de la vitamina (T4 y T5). Estas diferentes tendencias entre tratamientos, dentro de una misma concentración de vitamina E en la dieta, podrían ser debidas al efecto de la enrofloxacina. Sin embargo, el diseño experimental llevado a cabo no permite discernir cuál es el mecanismo implicado en las diferencias observadas. Los residuos de enrofloxacina podrían causar un incremento del estrés oxidativo que requiriese una concentración superior de vitamina E para combatirlo. Sin embargo, y como se verá más adelante, no se apreciaron diferencias entre los tratamientos T2 y T3 ni entre los tratamientos T4 y T5 en cuanto al grado de oxidación lipídica expresada como TBARS (Tabla 4.16).

Muslo de pollo

La suplementación de 100 ppm de α -tocoferol (T4 y T5) provocó un incremento significativo de los niveles en comparación con el control y el resto de tratamientos experimentales (Tabla 4.8). En este caso, el incremento de los niveles de vitamina E llegó a ser de tres veces el del control. La dosis de 30 ppm (T6) aumentó también, pero en menor medida, los niveles respecto al control, a diferencia de lo observado en pechuga. Tang *et al.* (2002) apreciaron un aumento de cuatro veces en los niveles de vitamina E en muslo respecto al control al suplementar la dieta de pollos con 200 ppm de vitamina E, mientras que Ruiz *et al.* (1999) observaron un incremento entre cuatro y siete veces con la misma dosis de vitamina E.

Al combinar 30 ppm de vitamina E con 15 ppm de β -caroteno (T8), los niveles detectados en muslo no fueron significativamente distintos a los controles (T1), pero fueron inferiores al tratamiento T6, que contenía la misma dosis de vitamina E pero sin el carotenoide.

Aunque no se dispone de referencias acerca de estudios de suplementación conjunta de estos dos antioxidantes, algunos trabajos analizaron el efecto de la suplementación de β -caroteno sobre los niveles de vitamina E proporcionados por la dieta basal. Ruiz (1999) observó en muslo de pollo que, en dietas con manteca de cerdo, cuando el β -caroteno se incorporaba a niveles de 15 ppm no ejercía ninguna influencia sobre el contenido de vitamina E del tejido, sin embargo cuando el β -caroteno se suplementaba en 50 ppm, los niveles de α -tocoferol se reducían significativamente. Propuso que si la relación vitamina E/ β -caroteno era baja se producía una disminución de la concentración de vitamina E en el tejido. Por otro lado, King *et al.* (1995) adicionaron 25 ppm de β -caroteno a una dieta basal de broilers que contenía 25 ppm de α -tocoferol, observando una reducción del 37% de la concentración de vitamina E en el tejido. Parecía que el α -tocoferol y el β -caroteno competían durante su absorción in vivo, ya que ambos requieren la unión a lipoproteínas para su transporte. En otros estudios, en cambio, no se ha detectado

este efecto del β -caroteno sobre la absorción de vitamina E de la dieta basal (Maraschiello, 1998; Muramoto *et al.*, 2003).

En este estudio, el efecto del β -caroteno sobre los niveles de vitamina E depositados en el tejido muscular se manifestaba en muslo pero no en pechuga. No se dispone de datos sobre la acumulación del β -caroteno en el tejido muscular pero podría haberse producido una mayor acumulación en el muslo o quizá fuera necesaria una mayor concentración de vitamina E en el tejido muscular para observar los efectos del β -caroteno.

El **licopeno** (T7) en cambio, no afectó de forma significativa los niveles de vitamina E depositados en el muslo.

Debe considerarse que los carotenoides y los α -tocoferoles se absorben por las mismas vías y pueden interferir mutuamente en su biodisponibilidad, en particular cuando se toman en dosis elevadas. Asimismo, se ha observado que la presencia de carotenoides en la dieta basal podría influir en la biodisponibilidad de los carotenoides suplementados, ya que si son de distintas fuentes compiten en la absorción (Farré y Frasquet, 2002). La falta de efecto del licopeno pudo ser debida a que la dosis administrada fue demasiado pequeña o a que no se produjo una buena absorción y acumulación de este carotenoide.

La administración de **enrofloxacina** tampoco tuvo un efecto significativo sobre los niveles de vitamina E en muslo. Los tratamientos a los que se había administrado únicamente el antibiótico (T2 y T3) no fueron diferentes del control (T1). Tampoco hubo diferencias entre los tratamientos con período de retirada del antibiótico o sin él, tanto si se adicionaba (T4 vs. T5) o no (T2 vs. T3) vitamina E. A pesar de esto, se observaron las mismas tendencias que en la pechuga; con la administración del antibiótico solamente, el tratamiento en el que hubo periodo de retirada (T3) tendió a presentar un nivel superior de vitamina E en comparación con el tratamiento sin retirada (T2). Con la combinación de vitamina E y antibiótico, el resultado tendió a ser

el contrario, es decir, hubo una mayor acumulación de antioxidante en el tejido muscular cuando no se practicó la retirada del fármaco (T4).

En el tratamiento T3 (50 ppm enrofloxacin con retirada) de muslo se observó además una correlación negativa significativa entre la vitamina E y la concentración de enrofloxacin ($r=-0.61$).

En resumen, la suplementación de 100 ppm de vitamina E en la dieta de los pollos provocaba un incremento significativo de los niveles de antioxidantes acumulados en el tejido muscular. Una dosis de 30 ppm aumentaba también la deposición del antioxidante, aunque solamente de forma significativa en el muslo debido a que, como ya se ha comentado anteriormente, se trata de un músculo con mayor capacidad de almacenaje de la vitamina.

La adición del β -caroteno junto a la vitamina E reducía la vitamina depositada en el tejido muscular, quizá por una competencia durante la absorción o bien por la destrucción de la vitamina E, una vez acumulada. El licopeno, por su parte, no provocaba variaciones en los niveles de vitamina E proporcionados a través de la dieta basal.

Por otro lado, se apreciaron pequeñas tendencias a que la enrofloxacin administrada afectase a los niveles de vitamina E acumulados en el tejido muscular. Las tendencias eran distintas según si la enrofloxacin se administraba sola o bien se suplementaba además vitamina E en la dieta, indicando que probablemente la naturaleza de la interacción entre los dos compuestos dependía del nivel de antioxidantes presente en el tejido.

4.3 GRADO DE OXIDACIÓN LIPÍDICA

Los métodos utilizados en la determinación del grado de oxidación lipídica de los tejidos animales se han clasificado tradicionalmente en aquellos que miden cambios primarios y los que miden cambios secundarios:

➤ Métodos que miden cambios primarios.

Se basan en cuantificar la pérdida de sustratos (ácidos grasos insaturados y oxígeno) o la formación de productos primarios de oxidación (hidroperóxidos).

➤ Métodos que miden cambios secundarios.

Los productos primarios de oxidación se descomponen rápidamente generando productos secundarios estables, por lo que resulta más apropiado medir estos productos secundarios como índice de oxidación.

Dentro de los métodos que miden cambios secundarios, uno de los tests más utilizados, es el test del ácido tiobarbitúrico (TBA). El test, utilizado en este trabajo, presenta una serie de inconvenientes.

En primer lugar, debe tenerse en cuenta que otros aldehídos, azúcares y aminoácidos formados durante la peroxidación lipídica reaccionan también con el TBA generando complejos con un máximo de absorción próximo al del complejo malondialdehído (MDA)-TBA. Esto puede provocar una sobreestimación de la cantidad de MDA presente en el tejido estudiado (Sánchez-Moreno y Larrauri, 1998). Por lo tanto, el test debería utilizarse para valorar el grado de oxidación lipídica en general, más que para cuantificar el MDA. Además el MDA en sí puede provenir, a parte de los hidroperóxidos lipídicos, de endoperóxidos involucrados en la síntesis de prostaglandinas o incluso de la degradación de carbohidratos complejos, pentosas y hexosas (Fernández *et al.*, 1997). Por este motivo, habitualmente se utiliza el término

TBARS en referencia a aquellas sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico ("*thiobarbituric acid reactive substances*") y los resultados se expresan como equivalentes de MDA.

En segundo lugar, iones metálicos contaminantes de los reactivos utilizados, agentes quelantes u otros compuestos presentes en el sistema pueden ocasionar interferencias. Por este motivo, en algunas variantes del método se utilizan antioxidantes con el fin de bloquear la oxidación durante la realización del test, o por el contrario, se añade hierro para facilitar la completa descomposición de los peróxidos.

Finalmente, algunos autores sugieren que el ensayo es altamente dependiente del operador, el método y las condiciones (Gray y Monahan, 1992).

A pesar de todas estas limitaciones, el test del TBA nos proporciona información útil sobre el grado de oxidación lipídica de las muestras. Si todos los valores de TBARS son determinados mediante un único método y en unas mismas condiciones, las diferencias obtenidas indicaran variaciones en el grado de oxidación de las muestras. Esto permite, como en este estudio, evaluar la eficacia de distintos antioxidantes sobre la estabilidad oxidativa del producto. Sin embargo, si el objetivo fuese cuantificar el grado exacto de oxidación deberían utilizarse procedimientos analíticos complementarios.

Por otro lado, sería también deseable disponer de un método que permitiera la predicción, a partir de medidas químicas o físicas, del momento en que el producto pasa a ser inaceptable desde un punto de vista sensorial (Gray y Monahan, 1992); por este motivo, uno de los objetivos del estudio era relacionar los resultados de oxidación de las muestras crudas con los obtenidos mediante el análisis sensorial de las muestras cocidas. El test se realizó únicamente sobre las muestras crudas de pechuga y muslo de los ocho tratamientos experimentales ya que, en pruebas realizadas previamente (datos no mostrados) se observó que, a pesar de que los valores de TBARS incrementaban con la cocción de las muestras, las diferencias entre tratamientos seguían siendo las mismas.

Debido a que se utilizó el método del TBA inducido por Fe (descrito en el apartado 3.4), los valores de TBARS se determinaron a cuatro tiempos de incubación: 0, 50, 100 y 150 minutos.

El grado de significación de los distintos factores incluidos en el modelo, para cada uno de los tiempos de incubación, queda reflejada en las Tablas 4.9- 4.12.

Tabla 4.9 Significación de los factores incluidos en el modelo para los TBARS en pechuga y muslo de pollo a 0 min. de incubación.

			FACTOR (valores p)		
			Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga	(n=78)	<0.0001	<0.0001	No estimable
	Muslo	(n=80)	<0.0001	<0.0001	0.6612

Tabla 4.10 Significación de los factores incluidos en el modelo para los TBARS en pechuga y muslo de pollo a 50 min. de incubación.

			FACTOR (valores p)		
			Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga	(n=78)	0.0010	<0.0001	No estimable
	Muslo	(n=80)	<0.0001	<0.0001	0.4761

Tabla 4.11 Significación de los factores incluidos en el modelo para los TBARS en pechuga y muslo de pollo a 100 min. de incubación.

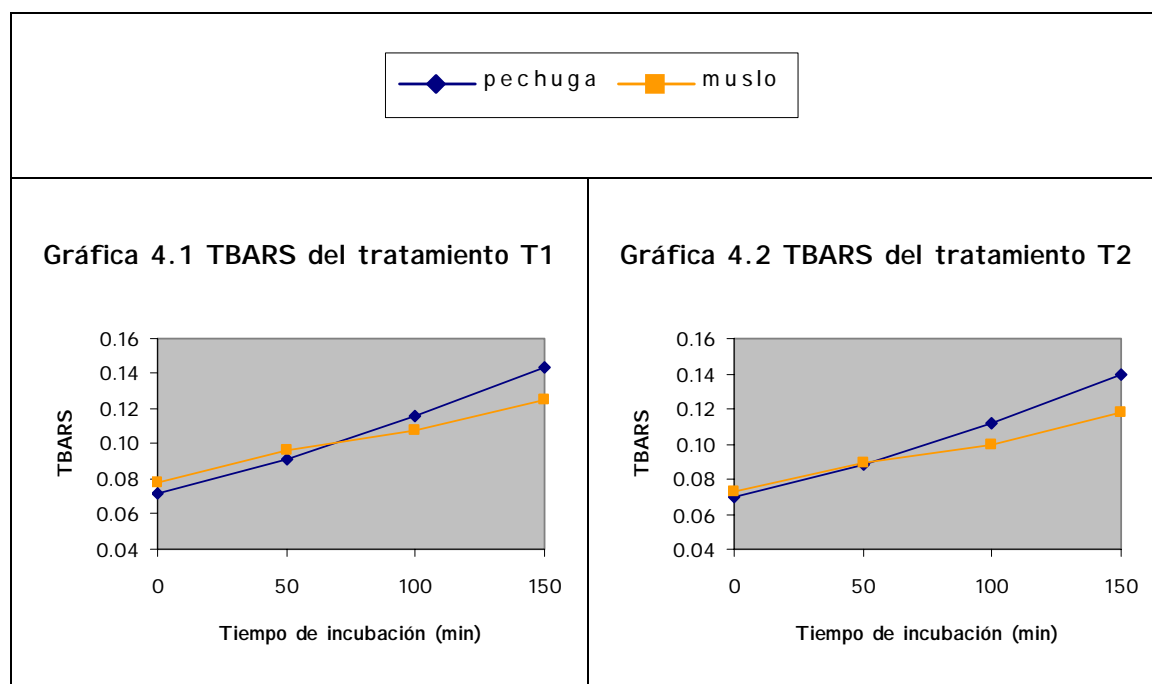
			FACTOR (valores p)		
			Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga	(n=78)	<0.0001	<0.0001	No estimable
	Muslo	(n=80)	0.0079	0.0008	0.3400

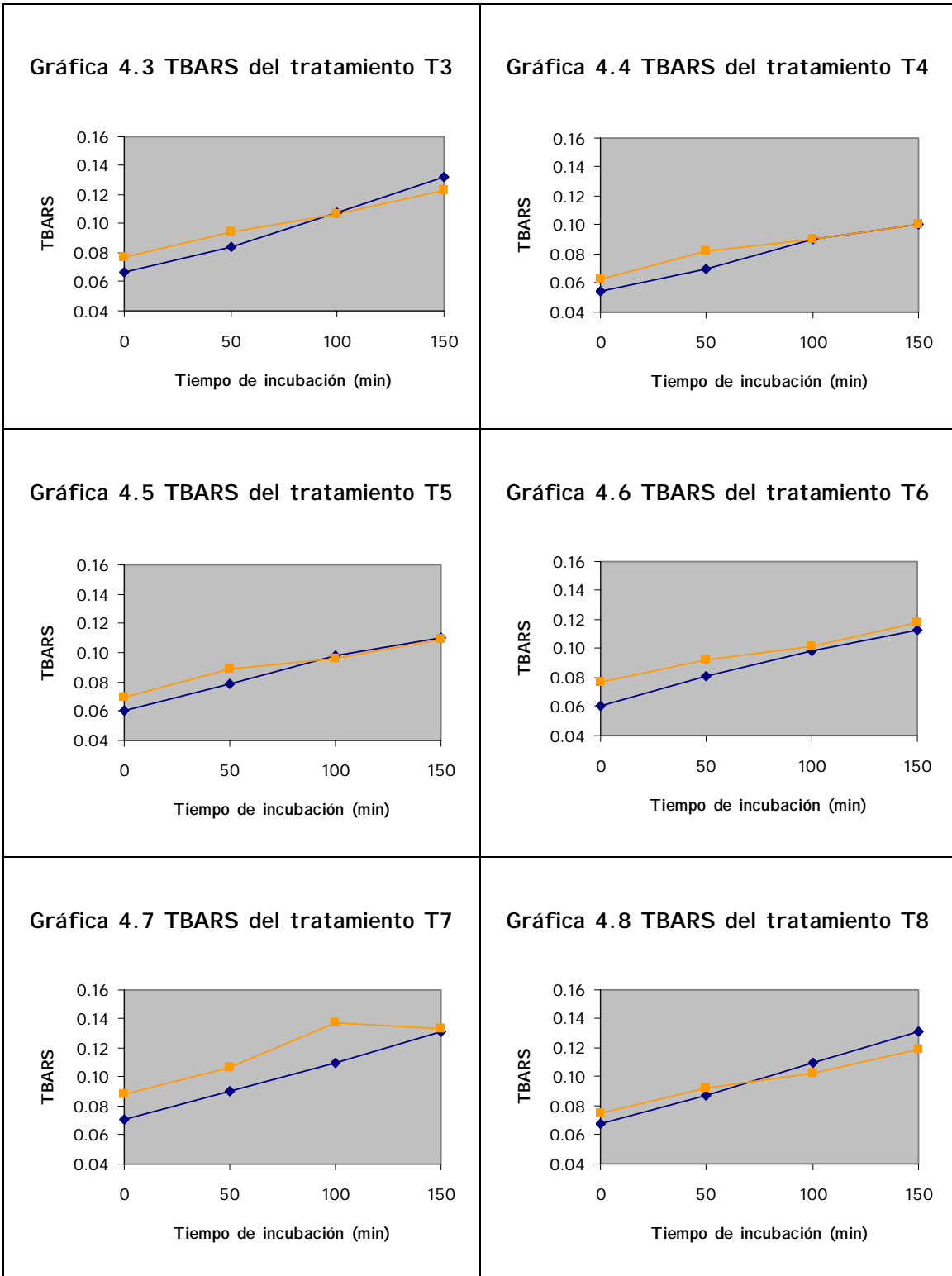
Tabla 4.12 Significación de los factores incluidos en el modelo para los TBARS en pechuga y muslo de pollo a 150 min. de incubación.

		FACTOR (valores p)		
		Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga (n=78)	<0.0001	<0.0001	No estimable
	Muslo (n=80)	0.0079	0.0008	0.3400

Como puede observarse en la tablas anteriores, el factor tratamiento fue significativo ($p < 0.05$) para ambos tejidos, en todos los tiempos de incubación. También resultó significativo en todos los casos el factor día de análisis. En muslo, donde pudo estimarse la interacción tratamiento*día, esta fue no significativa, por lo que se eliminó del modelo. El factor tejido no fue significativo en algunos casos, cómo se comentará posteriormente.

En las gráficas 4.1 - 4.8, se ilustra la evolución de los valores de TBARS en función del tiempo de incubación, para cada uno de los tratamientos experimentales.





¹Valores de TBARS representados en nmoles de equivalentes de MDA/mg tejido.

T1: control; T2: 50 ppm enrofloxacin sin retirada; T3: 50 ppm enrofloxacin con retirada; T4: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada; T5: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada; T6: 30 ppm vitamina E; T7: 10 ppm licopeno; T8: 30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno.

Se observó, tanto en pechuga como en muslo de todos los tratamientos experimentales, un incremento en los valores de TBARS con el tiempo de incubación. Este incremento se daba desde el inicio del período de incubación. Ruiz (1999) observó, al suplementar manteca de cerdo en la dieta de broilers, que los valores de TBARS obtenidos mediante el mismo procedimiento aumentaban mayoritariamente a partir de los 100 minutos de incubación, a excepción del tratamiento con 50 ppm de β -caroteno que incrementó desde el primer momento. Otros trabajos describieron también aumentos en los valores de TBARS con el período de incubación (Galvin *et al.*, 1997; Wen *et al.*, 1997; Avanzo *et al.*, 2001).

Los valores de TBARS se ven afectados de forma general por todos aquellos factores que influyen sobre el grado de oxidación lipídica de la carne. Estos valores dependen, en primer lugar, de la especie animal que se considere. En músculo crudo, las carnes rojas presentan valores de TBARS superiores a las carnes blancas debido a su mayor contenido en pigmentos hemo. Rhee *et al.* (1987) por ejemplo, encontraron que los valores de TBARS en carne cruda de ternera, pollo y cerdo almacenada a 4°C estaban muy correlacionados con el contenido en pigmentos totales de estas carnes. En músculo cocido en cambio, las diferencias entre especies pasaban a ser debidas principalmente al contenido en AGPI, ya que las hemoproteínas sufrían una desnaturalización. Entonces, carnes blancas como la de pollo o pavo una vez cocidas presentaban valores superiores de TBARS que las rojas (Rhee *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 2002).

Por otro lado, el tipo de grasa suministrada en la dieta del animal tiene una fuerte influencia sobre la susceptibilidad a la oxidación de la carne y por lo tanto sobre los valores de TBARS. Grasa o aceites más ricos en AGPI, como el aceite de soja o de girasol, dan lugar a valores superiores de TBARS en la carne en comparación con grasas más saturadas, como la manteca de cerdo (Maraschiello, 1998; Mercier *et al.*, 1998; Maraschiello *et al.*, 1999; Ruiz, 1999; Gatellier *et al.*, 2000; Sárraga y García Regueiro, 2000; Mercier *et al.*, 2001; Russell *et al.*, 2001; Gatellier *et al.*, 2001; Grau *et al.*, 2001). Algunos autores han postulado que la cantidad de AGPI es un

factor más determinante en la estabilidad oxidativa de carne de cerdos y broilers que la cantidad de α -tocoferol (Yamauchi *et al.*, 1982; Jensen *et al.*, 1997). De hecho, si se añaden grasas insaturadas a la dieta, la concentración de vitamina E debe ajustarse para compensar el estrés oxidativo generado por estas grasas (Galvin *et al.*, 1997).

La cocción de la carne también provoca un incremento de la oxidación que se refleja en los valores de TBARS (King *et al.*, 1995; Rhee *et al.*, 1996; Maraschiello *et al.*, 1999; Ruiz *et al.*, 1999; Grau *et al.*, 2001). Maraschiello (1998) observó, con la cocción de muestras de muslo de pollo, un incremento de hasta diez veces en los valores de TBARS. Los motivos de este incremento son diversos: la desnaturalización de proteínas que puede provocar la inactivación de enzimas antioxidantes, la liberación de hierro catalíticamente activo de metaloproteínas, la disrupción de membranas celulares que pone en contacto los AGPI con prooxidantes y por último, la descomposición de hidroperóxidos en especies prooxidantes como los radicales alcoxilo e hidroxilo (Grau *et al.*, 2001).

Finalmente, se ha descrito un incremento de los valores de TBARS durante el almacenamiento de la carne (Mei *et al.*, 1994; Higgins *et al.*, 1998; Mercier *et al.*, 1998; Higgins *et al.*, 1999; Ruiz, 1999; Formanek *et al.*, 2001; Young *et al.*, 2003).

En este estudio, debido a que se considera una única especie animal alimentada con un solo tipo de grasa, las diferencias entre tratamientos deberían relacionarse con la suplementación de antioxidantes en la dieta del animal o con la administración del antibiótico.

Las Tablas 4.13-4.16, muestran los valores de TBARS para cada tratamiento experimental, tejido y tiempo de incubación.

Tabla 4.13 Valores de TBARS¹ en pechuga y muslo de pollo a 0 minutos de incubación.

TEJIDO						
		Pechuga		Muslo		RMSE
TRATAMIENTO	T1	0.072 ^a	(n=10)	0.078 ^b	(n=10)	0.008
	T2	0.070 ^a	(n=10)	0.073 ^{bc}	(n=9)	0.006
	T3	0.067 ^{abcB}	(n=10)	0.077 ^{bcA}	(n=10)	0.009
	T4	0.054 ^{dB}	(n=10)	0.063 ^{dA}	(n=10)	0.007
	T5	0.060 ^{cdB}	(n=8)	0.069 ^{cdA}	(n=9)	0.006
	T6	0.061 ^{bcdB}	(n=10)	0.077 ^{bcA}	(n=10)	0.009
	T7	0.071 ^{aB}	(n=10)	0.088 ^{aA}	(n=12)	0.010
	T8	0.068 ^{abB}	(n=10)	0.075 ^{bcA}	(n=10)	0.008
	RMSE	0.008		0.009		

¹Valores de TBARS expresados en nmoles de equivalentes de MDA/mg tejido.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{abcd}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

^{AB}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

T1: control; T2: 50 ppm enrofloxacin sin retirada; T3: 50 ppm enrofloxacin con retirada; T4: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada; T5: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada; T6: 30 ppm vitamina E; T7: 10 ppm licopeno; T8: 30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno.

Tabla 4.14 Valores de TBARS¹ en pechuga y muslo de pollo a 50 minutos de incubación.

TEJIDO						
		Pechuga		Muslo		RMSE
TRATAMIENTO	T1	0.091 ^a	(n=10)	0.096 ^b	(n=10)	0.009
	T2	0.088 ^{ab}	(n=10)	0.089 ^{bc}	(n=9)	0.008
	T3	0.084 ^{abB}	(n=10)	0.094 ^{bA}	(n=10)	0.009
	T4	0.070 ^{cB}	(n=10)	0.082 ^{cA}	(n=10)	0.008
	T5	0.079 ^{bc}	(n=8)	0.089 ^{bc}	(n=9)	0.011
	T6	0.081 ^{ab}	(n=10)	0.092 ^b	(n=10)	0.013
	T7	0.090 ^{aB}	(n=10)	0.107 ^{aA}	(n=12)	0.012
	T8	0.087 ^{ab}	(n=10)	0.092 ^b	(n=10)	0.010
	RMSE	0.011		0.009		

¹Valores de TBARS expresados en nmoles de equivalentes de MDA/mg tejido.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{abc}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

^{AB}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

T1: control; T2: 50 ppm enrofloxacin sin retirada; T3: 50 ppm enrofloxacin con retirada; T4: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada; T5: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada; T6: 30 ppm vitamina E; T7: 10 ppm licopeno; T8: 30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno.

Tabla 4.15 Valores de TBARS¹ en pechuga y muslo de pollo a 100 minutos de incubación.

TEJIDO						
		Pechuga		Muslo		RMSE
TRATAMIENTO	T1	0.116 ^a	(n=10)	0.108 ^b	(n=10)	0.012
	T2	0.112 ^a	(n=10)	0.100 ^b	(n=9)	0.015
	T3	0.108 ^{ab}	(n=10)	0.107 ^b	(n=10)	0.011
	T4	0.090 ^c	(n=10)	0.090 ^b	(n=10)	0.010
	T5	0.098 ^{bc}	(n=8)	0.096 ^b	(n=9)	0.012
	T6	0.098 ^{bc}	(n=10)	0.102 ^b	(n=10)	0.016
	T7	0.110 ^{ab}	(n=10)	0.137 ^a	(n=12)	0.047
	T8	0.110 ^{ab}	(n=10)	0.103 ^b	(n=10)	0.014
RMSE		0.012		0.027		

¹Valores de TBARS expresados en nmoles de equivalentes de MDA/mg tejido.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{abc}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

T1: control; T2: 50 ppm enrofloxacin sin retirada; T3: 50 ppm enrofloxacin con retirada; T4: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada; T5: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada; T6: 30 ppm vitamina E; T7: 10 ppm licopeno; T8: 30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno.

Tabla 4.16 Valores de TBARS¹ en pechuga y muslo de pollo a 150 minutos de incubación.

TEJIDO						
		Pechuga		Muslo		RMSE
TRATAMIENTO	T1	0.144 ^{aA}	(n=10)	0.125 ^{abB}	(n=10)	0.010
	T2	0.140 ^{aA}	(n=10)	0.118 ^{bcB}	(n=9)	0.013
	T3	0.132 ^a	(n=10)	0.123 ^b	(n=10)	0.013
	T4	0.101 ^b	(n=10)	0.101 ^d	(n=10)	0.009
	T5	0.110 ^b	(n=8)	0.109 ^{cd}	(n=9)	0.013
	T6	0.113 ^b	(n=10)	0.118 ^{bc}	(n=10)	0.015
	T7	0.131 ^a	(n=10)	0.133 ^a	(n=12)	0.015
	T8	0.131 ^a	(n=10)	0.119 ^b	(n=10)	0.014
RMSE		0.016		0.010		

¹Valores de TBARS expresados en nmoles de equivalentes de MDA/mg tejido.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{abc}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

^{AB}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

T1: control; T2: 50 ppm enrofloxacin sin retirada; T3: 50 ppm enrofloxacin con retirada; T4: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada; T5: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada; T6: 30 ppm vitamina E; T7: 10 ppm licopeno; T8: 30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno.

El comportamiento de los distintos tratamientos experimentales seguía la misma tendencia para cada uno de los tiempos de incubación. Por ello, la siguiente discusión se basa en los resultados obtenidos a los 150 minutos de incubación (Tabla 4.16).

No se observaron diferencias claras entre **tejidos**, exceptuando en algunos tratamientos experimentales y en determinados tiempos de incubación, aunque sin una pauta definida. Algunos autores (Lauridsen *et al.*, 1997; Jensen *et al.*, 1998; Tang *et al.*, 2002) describieron valores de TBARS superiores en muslo que en pechuga de pollo, ya que el muslo a pesar de su mayor capacidad de almacenaje de vitamina E posee un mayor contenido en AGPI, pigmentos y especies prooxidantes y por lo tanto es más susceptible a la oxidación. Lauridsen *et al.* (1997) a su vez, observaron que fracciones subcelulares (mitocondrias y microsomas) aisladas de muslo de pollo resultaban más susceptibles a la oxidación que las de pechuga.

Pechuga de pollo

Considerando cada uno de los tejidos analizados, en las muestras de pechuga se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos experimentales (Tabla 4.16). La adición de 100 ppm de **vitamina E** a la dieta (T4 y T5) provocaba la disminución de los valores de TBARS respecto al control (T1), demostrando el efecto antioxidante de esta vitamina. Diversos estudios de suplementación de vitamina E en animales por encima de los requerimientos nutricionales han obtenido resultados similares (Galvin *et al.*, 1997; Maraschiello, 1998; Ruiz 1999; Tang *et al.*, 2001; Young *et al.*, 2003; Carreras *et al.*, 2004). El efecto beneficioso de la vitamina E sobre la estabilidad oxidativa de la carne ha sido también demostrado en otras especies animales; Mercier *et al.* (1998) y Batifoulier *et al.* (2002) describieron un aumento de la estabilidad oxidativa de la carne de pavo tras la suplementación de 400 ppm de vitamina E en la dieta de estos animales. Kingston *et al.* (1998), Phillips *et al.* (2001) y Wen *et al.* (1997) estudiaron el efecto de la suplementación en cerdos, obteniendo también resultados positivos. Guidera *et al.* (1997) y Kasapidou *et al.* (2001)

mostraron que los valores de TBARS en carne de corderos suplementados con vitamina E eran superiores cuanto menor era la concentración de vitamina E en la carne.

En este caso, la acción protectora ejercida por la vitamina E fue debida a su acumulación en el tejido muscular (ver apartado 4.2). Los niveles de vitamina E proporcionados a través de la dieta basal (20mg/Kg.), no fueron suficientes para mantener la estabilidad oxidativa de la carne, como se verá posteriormente en el apartado 4.4.2.

La suplementación de 30 ppm de vitamina E (T6) resultó también efectiva en pechuga, tal como indican los valores de TBARS significativamente inferiores al control (T1). Sin embargo, cuando esta misma dosis de vitamina E se suplementó junto a 15 ppm de β -caroteno (T8), los valores de TBARS ya no fueron significativamente distintos a los del control (T1). La combinación de los dos antioxidantes se investigó en parte, con el fin de comprobar si se producía un efecto sinérgico entre los dos. En algunos casos, la utilización conjunta de dos o más antioxidantes resulta en un incremento del potencial antioxidante superior al que se esperaría de un mero efecto aditivo. Otras veces, en cambio, la presencia simultánea de los dos compuestos puede disminuir la capacidad antioxidante esperada, produciéndose efectos antagonistas (Moure *et al.*, 2001). No se dispone de referencias acerca de la utilización conjunta de estos dos antioxidantes. Únicamente en un estudio anterior se observó, con la suplementación de 100 ppm de vitamina E junto a 1.5 ppm de β -caroteno, el efecto descrito en este caso, es decir, los valores de TBARS no fueron significativamente distintos a los del control (Carreras *et al.*, 2004). Se podría decir que el β -caroteno afecta de algún modo a la capacidad antioxidante de la vitamina E pues los niveles de vitamina E detectados en el tratamiento T8 (vitamina E+ β -caroteno) no diferían significativamente a los del tratamiento T6 (vitamina E únicamente) (Tabla 4.8).

Los resultados obtenidos sugieren que el β -caroteno se acumula en el tejido muscular ejerciendo un efecto, aunque no antioxidante. Existen algunos estudios *in vitro* y con modelos experimentales sobre la capacidad antioxidante del β -caroteno.

Vile y Winterbourn (1988) estudiaron la peroxidación lipídica en microsomas hepáticos de rata, observando que el β -caroteno era mejor antioxidante que el α -tocoferol a bajas presiones de O_2 (4mm Hg.). Burton (1989) estudió los efectos de la variación de la presión parcial de O_2 y la concentración del carotenoide sobre la oxidación inducida del cetil linoleato; observó que a bajas pO_2 (15 Torr), el β -caroteno era un eficaz antioxidante, mientras que a elevadas pO_2 (760 Torr) se comportaba como prooxidante. Palozza y Krinsky (1991), utilizando una solución de lípidos aislados de membranas microsomales de hígado de rata, observaron que el α -tocoferol era entre 40 y 50 veces mejor antioxidante que el β -caroteno en aire (150 Torr); cuando la pO_2 se reducía por debajo de 20 Torr, la diferencia de efectividad entre los dos compuestos disminuía ya que incrementaba la eficacia del β -caroteno. Como las pO_2 que se encuentran en los tejidos animales están habitualmente por debajo de los 20 Torr, los autores propusieron que el β -caroteno podía tener un importante papel como antioxidante. Los mismos autores demostraron que en membranas microsomales existía un sinergismo entre el β -caroteno y el α -tocoferol y apuntaron que el α -tocoferol inhibía los efectos prooxidantes del radical β -car-OO \cdot generado durante la actuación del β -caroteno como antioxidante (Palozza y Krinsky, 1992). Subagio y Morita (2001) estudiaron el efecto del β -caroteno sobre la oxidación lipídica de triacilglicéridos purificados y encontraron que, al incrementar la concentración del carotenoide, se producía un aumento de la formación de hidroperóxidos. Sugirieron que la conducta antioxidante de los carotenoides estaría relacionada con su propia oxidación; debido a su estructura de dobles enlaces conjugados, los carotenoides son muy reactivos frente al O_2 y los productos de oxidación pueden reaccionar con los lípidos acelerando así su oxidación. Observaron que la incorporación de vitamina E en el experimento suprimía la oxidación inducida por el β -caroteno y mediante la utilización conjunta de los dos se producía un efecto sinérgico.

Por último, Anguelova y Warthesen (2000) observaron que el β -caroteno a una concentración de $160\mu\text{g/g}$, no manifestaba efecto antioxidante sobre la oxidación del metilo linoleato, debido a la formación de radicales β -car \cdot . Con la adición de α -

tocoferol, la degradación del carotenoide disminuía y se reducía de forma eficaz la formación de hidroperóxidos.

La suplementación de 10 ppm de **licopeno** (T7) no disminuyó de forma significativa los valores de TBARS. En un estudio previo tampoco se observó un efecto antioxidante del licopeno a 0,1 ppm, pero a diferencia del β -caroteno, este no afectó la actividad antioxidante de la vitamina E (Carreras, 2002).

Tampoco la administración del antibiótico **enrofloxacina** a los animales ya fuese sin (T2) o con (T3) periodo de retirada parecía afectar el grado de oxidación lipídica de las muestras de pechuga. Tampoco se observó ningún efecto cuando se administró junto con la vitamina E (T4 y T5).

Muslo de pollo

Respecto al otro tejido analizado, el muslo, se encontraron también diferencias significativas en los valores de TBARS entre tratamientos experimentales (Tabla 4.16).

La suplementación de 100 ppm de **vitamina E** (T4 y T5) resultó también efectiva en muslo, tal y como demostró la disminución de los niveles de TBARS respecto al control. Maraschiello (1998) comprobó la eficacia de la suplementación de 200 ppm de vitamina E en la dieta de broilers en el mantenimiento de la estabilidad oxidativa de la carne de muslo; sin embargo, cuando la grasa suministrada en la dieta aportaba muchos AGPI, como en el caso del aceite de girasol, esta dosis de antioxidante no fue suficiente para proteger frente a la oxidación. Un caso similar fue descrito por Galvin *et al.* (1997) al constatar que 200 ppm de vitamina E resultaban suficientes en pechuga pero no en muslo para proteger frente a los efectos prooxidantes del aceite de girasol oxidado que se administró a los animales. Ruiz (1999) obtuvo una disminución de la oxidación lipídica en carne fresca de muslo de pollo de entre un 44 y un 66% al suplementar 200 ppm de vitamina E en la dieta de

los animales. O'Neill *et al.* (1998) y Grau *et al.* (2001) comprobaron también la eficacia de la suplementación de vitamina E en la dieta de pollos, en este caso a una dosis de 200 y 225 ppm, respectivamente.

En este caso, la reducción de los valores de TBARS respecto al tratamiento control (T1) no resultó superior que en pechuga a pesar de que la acumulación de vitamina E en muslo fue superior (Tabla 4.8), probablemente debido a la mayor susceptibilidad a la oxidación del muslo. Sin embargo, Mercier *et al.* (1998) y Renerre *et al.* (1999) observaron una disminución mayor en los niveles de TBARS de muestras de muslo de pavo que en las de pechuga, lo que atribuyeron al mayor contenido de vitamina E del tejido muscular del muslo.

A diferencia de la pechuga, en este caso 30 ppm de vitamina E (T6) no fueron suficientes para proteger la carne frente a la oxidación, como reflejan los valores de TBARS que no difirieron significativamente de los del control (T1).

En el tratamiento con β -caroteno y vitamina E (T8) tampoco se observaron valores de TBARS significativamente inferiores al control (T1). Por un lado, ya se había comprobado que esta dosis de vitamina E (30 ppm) no era suficiente, pero además, como se mostró en la Tabla 4.8, los niveles de vitamina E en las muestras del tratamiento (T8) eran aproximadamente la mitad de los encontrados en el tratamiento T6, con la misma dosis de vitamina E pero sin el carotenoide.

Existen algunos estudios sobre el efecto del β -caroteno en la estabilidad oxidativa del muslo de pollo. Ruiz *et al.* (1999) estudiaron el efecto del β -caroteno sobre la estabilidad oxidativa de carne de broilers y encontraron que este era dependiente del tipo de grasa suministrada en la dieta y de la concentración a la que se adicionaba. Con manteca de cerdo, el β -caroteno a 15 ppm no afectó la susceptibilidad oxidativa de las muestras, en comparación con el tratamiento basal, mientras que a 50 ppm actuó como prooxidante causando a su vez una reducción del contenido de vitamina E del tejido.

Por otro lado, Maraschiello (1998) observó en broilers que la suplementación de 15 ppm de β -caroteno mostraba un efecto antioxidante en comparación con el

grupo basal, mientras que a 50 ppm producía un incremento de dos veces en los valores de TBARS, mostrando un efecto prooxidante. King *et al.* (1995) utilizando una dosis de 25 ppm de β -caroteno en la dieta de pollos observaron un aumento significativo de los valores de TBARS. En todos estos estudios se demuestra que el efecto del β -caroteno depende claramente de la concentración a la que este se suplemente en la dieta animal.

Igual que en el caso anterior, el **licopeno** no mostró efecto antioxidante en muslo. No obstante, no puede descartarse que la falta de efectividad del carotenoide pudiera ser debida a la falta de absorción y/o acumulación de este, puesto que no se dispone de las concentraciones presentes en el tejido muscular.

Parece haber una cierta influencia del modo de administración de la **enrofloxacina** sobre los valores de TBARS. Cuando se administró únicamente el antibiótico, al respetarse el período de retirada del mismo (T3), se observó una tendencia a valores de TBARS superiores a cuando no se practicó la retirada (T2), aunque en ninguno de los dos casos se obtuvieron diferencias significativas en comparación con el control (T1). Este mismo fenómeno tuvo lugar cuando se combinó la administración del antibiótico con la suplementación de 100 ppm de vitamina E (T4 y T5).

Se ha observado que como consecuencia del metabolismo a nivel hepático de las fluoroquinolonas, en el que tiene un papel importante el sistema del citocromo P450, se generan radicales libres que podrían provocar un incremento de la oxidación lipídica (Schwimmer, 1981b). Trush *et al.* (1982) observaron que la formación de radicales libres a partir de los fármacos administrados estaba catalizada mayoritariamente por la NAD(P)H-citocromo P450 reductasa, una flavoproteína que mediante el consumo de NAD(P)H y oxígeno generaba diversas especies reactivas de oxígeno, pudiendo conducir a una situación de estrés oxidativo. Gürbay *et al.* (2001) investigaron la formación de radicales libres durante el metabolismo de la ciprofloxacina en microsomas hepáticos; observaron que durante el metabolismo se

generaba un radical libre y que este proceso era dependiente de NADPH; al incorporar al ensayo un inhibidor del citocromo P450 dejaba de generarse el radical, por lo tanto la producción dependía de una reacción catalizada por este sistema; además, la adición de un análogo de la vitamina E al sistema, proporcionaba protección frente a los radicales libres producidos.

En este caso no se observó aparentemente un incremento del estrés oxidativo en aquellas muestras de los tratamientos a los que se había administrado enrofloxacin (T2 y T3) ya que los valores de TBARS no fueron significativamente distintos del control.

Valorando los resultados obtenidos en los dos tejidos musculares, se ponía de manifiesto la eficacia de la vitamina E como antioxidante. Si bien, una dosis de 100 ppm resultó claramente efectiva reduciendo la oxidación lipídica de las muestras de pechuga y muslo, 30 ppm fueron efectivos únicamente en pechuga, pero no en muslo, debido a las características metabólicas de este tejido que le hacen especialmente susceptible a la oxidación.

Al combinar la suplementación de vitamina E con β -caroteno, se perdía la eficacia antioxidante de la vitamina ya que, como se había observado, los niveles de α -tocoferol acumulados en el tejido disminuían.

Los valores de TBARS reflejaban la falta de eficacia antioxidante del licopeno a la dosis suplementada. Por este motivo, junto con las dificultades de adquisición del producto, sumados a la necesidad de testar dosis mayores, se decidió suprimir el tratamiento con licopeno en el experimento posterior con pavos.

La administración de enrofloxacin no se vio reflejada en el grado de oxidación lipídica de las muestras de pollo aunque en muslo, al respetarse el período de retirada del fármaco, se observó una tendencia a aumentar los valores de TBARS.

4.4 ANÁLISIS SENSORIAL

Según la bibliografía consultada sobre el análisis sensorial de carne de pollo, existen una gran diversidad de procedimientos de preparación de las muestras, presentación y condiciones de análisis, lo que dificulta la comparación de los resultados obtenidos en diferentes estudios (Poste, 1990). Así, las condiciones de iluminación durante la valoración visual de las muestras, el método utilizado, la temperatura y tiempo de cocción de estas, los atributos y escalas seleccionados, entre otros, harán que los resultados obtenidos varíen de forma importante por lo que todo esto debería tenerse en cuenta a la hora de comparar las conclusiones obtenidas en los distintos trabajos.

En este estudio, el análisis sensorial de las muestras de pollo se llevó a cabo únicamente con las muestras de pechuga y muslo pertenecientes a los tratamientos experimentales en los que no se había administrado antibiótico, es decir las de los tratamientos T1, T6, T7 y T8 (ver apartado 3.1.3).

4.4.1 PECHUGA DE POLLO CRUDA

Los resultados obtenidos tras la valoración sensorial de las muestras de pechuga crudas se muestran en la Tabla 4.17.

Tabla 4.17 Atributos visuales y atributos de olor sobre muestras de pechuga de pollo crudas¹.

	ATRIBUTOS VISUALES		ATRIBUTOS DE OLOR	
	Color claro/oscuro	Hematomas	Intensidad olor	Olor hígado
T1 (n=8)	4.7	1.3	3.5	1.8
T6 (n=8)	5.2	2.1	3.7	2.4
T7 (n=8)	5.5	2.1	3.5	2.0
T8 (n=8)	5.4	1.4	3.2	1.4
RMSE	1.2	1.5	0.7	1.0

¹Valores que hacen referencia a las puntuaciones de los catadores en una escala de 1 a 10.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

T1: control; T6: 30 ppm vitamina E; T7: 10 ppm licopeno; T8: 30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno.

No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para ninguno de los atributos visuales ni de olor valorados sobre las muestras de pechuga de pollo crudas.

Atributos visuales

La apariencia de la carne es un atributo crucial que determina la aceptación de esta por parte del consumidor (Armstrong y McIlveen, 2000). Por otro lado, la aceptación visual de la carne está frecuentemente correlacionada de forma negativa con la decoloración de su superficie (Chan *et al.*, 1996) por lo que una reducción en la velocidad de decoloración como consecuencia de los antioxidantes suplementados hubiera sido deseable.

Entre los atributos visuales evaluados, se observó una tendencia a que las muestras de los tratamientos que incluían antioxidantes (T6, T7 y T8) presentasen una carne más oscura que las muestras control (T1), aunque las diferencias no fueron significativas ($p > 0.05$) (Tabla 4.17). En un estudio anterior, tampoco se observó ningún efecto significativo de la suplementación de vitamina E (100 ppm), β -caroteno (1.5 ppm) o licopeno (0.1 ppm) en la dieta de pollos sobre los parámetros de color instrumental (L^* , a^* y b^*) determinados en pechuga (Carreras, 2002).

De forma general, en estudios realizados con carnes blancas como la de pollo, no se observa ningún efecto de la suplementación de vitamina E sobre el color de la carne. Por contra, el efecto de la incorporación de este antioxidante en la dieta animal sobre el color de la carne es más evidente en carnes rojas con niveles superiores de pigmentos musculares. Así, Chan *et al.* (1996) observaron que músculos de terneras tratadas con vitamina E (2000mg/día) presentaban una menor transformación de mioglobina en metamioglobina, aumentando así la vida media del color rojo de la carne. En este mismo estudio, las muestras control presentaban una disminución de los valores de a^* (tendencia al rojo) superior que las muestras de animales tratados con vitamina E, reflejando una menor estabilidad de color. Robbins *et al.* (2003) apreciaron también un incremento de la vida media del color y una disminución de la velocidad de decoloración de la carne de ternera como resultado de

la suplementación de vitamina E (1000UI/día) en la dieta animal y Guidera *et al.* (1997) observaron el mismo efecto incorporando 1000 ppm de vitamina E, en este caso, en la dieta de corderos.

En cuanto a la presencia de hematomas, tampoco se observaron diferencias significativas entre tratamientos a pesar de que los valores de los grupos con 30 ppm de **vitamina E** (T6) y con 10 ppm de **licopeno** (T7) tendieron a ser superiores al resto. En estos dos grupos se observó además, una correlación positiva entre la presencia de hematomas y la oscuridad de la carne, aunque fue únicamente significativa ($r=0.76$) para el tratamiento T6 (30 ppm vitamina E). La mayor oscuridad de la carne detectada en estos dos tratamientos podría ser debida en gran parte a la presencia de hematomas en su superficie, más que a un efecto del antioxidante suplementado.

Las petequias, equimosis y hematomas constituyen un porcentaje elevado de los defectos presentes en la carne de ave. Según su apariencia (color, % de sangre o tamaño) puede llegar a detectarse si la herida se ha producido durante la cría/transporte del animal o bien durante el procesado de la carne (Northcutt, 2003). En el presente estudio únicamente se valoró la presencia o ausencia de estas, no encontrándose ninguna relación clara con los tratamientos experimentales llevados a cabo.

Atributos de olor

La intensidad de olor detectado en las muestras de los cuatro tratamientos experimentales fue prácticamente igual, mientras que los tratamientos con 30 ppm de **vitamina E** (T6) y 10 ppm de **licopeno** (T7) presentaron una intensidad superior, aunque no significativa, de olor a hígado. Esta tendencia a presentar una mayor intensidad de olor a hígado, también descrita por los catadores como olor a sangre u olor metálico, coincidió con la tendencia a una mayor presencia de hematomas en estos dos tratamientos. Las pequeñas hemorragias observadas en estas muestras

podrían ser las principales responsables del olor metálico y no el efecto directo de los antioxidantes adicionados en la dieta animal.

En los cuatro tratamientos experimentales se obtuvo una correlación positiva entre la intensidad de olor general y el olor a hígado, aunque esta fue únicamente significativa en los tratamientos T7 (10 ppm licopeno) y T8 (30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno) con coeficientes de correlación de $r=0.82$ y $r=0.70$, respectivamente.

4.4.2 PECHUGA DE POLLO COCIDA

En la Tabla 4.18 se presentan los resultados de la valoración sensorial de las muestras de pechuga de pollo una vez cocidas, almacenadas y recalentadas según se describió en el apartado 3.5.4.

Tabla 4.18 Atributos de *flavor* y de textura sobre muestras de pechuga de pollo cocidas¹.

	FLAVOR		TEXTURA				
	WOF	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad	Adhesividad
T1 (n=8)	2.8	4.1 ^a	3.9	3.4	2.5	2.6	2.9
T6 (n=8)	3.0	2.2 ^b	3.7	3.2	2.7	2.4	3.4
T7 (n=8)	2.7	4.9 ^a	3.3	3.6	2.5	2.6	3.4
T8 (n=8)	2.7	3.6 ^a	3.8	3.3	2.5	2.5	3.1
RMSE	0.5	1.2	0.5	0.5	0.6	0.6	0.5

¹Valores que hacen referencia a las puntuaciones de los catadores en una escala de 1 a 10.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{ab}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p<0.05$).

T1: control; T6: 30 ppm vitamina E; T7: 10 ppm licopeno; T8: 30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno.

Atributos de *flavor*

El fenómeno del *warmed-over flavor* (WOF) es complejo y en realidad su mecanismo no ha sido completamente elucidado. La rotura de los hidroperóxidos generados durante la peroxidación lipídica da lugar a pequeñas moléculas como el pentanal, hexanal y 2,4-decadienal que poseen olores y *flavores* designados como “warmed-over” (Vega y Brewer, 1994). Se trata de sustancias extremadamente

volátiles y perceptibles a muy bajas concentraciones (ppbs) (Labuza, 1971; Gray y Monahan, 1992). Estas sustancias son liposolubles y quedan retenidas en la fase lipídica hasta que el músculo es recalentado (Mottram y Edwards, 1983; Brewer, 1998).

Algunos autores sugieren que, desde una perspectiva sensorial, el término *WOF* es demasiado amplio y ambiguo lo que hace necesario el desarrollo de una terminología específica para describir los olores y *flavores* generados a raíz de la aparición del *WOF* (Byrne *et al.*, 1999a; Byrne *et al.*, 2001). Para el estudio del fenómeno, Byrne *et al.* (1999b) trabajaron con pechugas de pollo cocidas en un baño de agua y posteriormente en el horno, almacenadas y finalmente recalentadas. A partir de estas muestras desarrollaron un vocabulario de 18 términos para describir notas de olor y *flavor* asociadas al *WOF* que incluía los atributos oxidado, rancio y recalentado, entre otros. Poste *et al.* (1986) en cambio, describieron tres fases en el desarrollo del *flavor* de carne de cerdo precocinada, almacenada y recalentada, detectadas por un panel de catadores y en las que diferenciaron claramente entre el *WOF* y la rancidez. En un primer estadio los panelistas apreciaron *flavor* a carne recién cocida, después percibieron el *WOF*, que describieron como un estadio intermedio aún no rancio y finalmente *flavor* rancio, extremadamente oxidado. Según St. Angelo *et al.* (1987) las moléculas causantes de la rancidez y las del *WOF* podrían ser las mismas variando en proporción e intensidad durante los cambios de *flavor* de la carne.

En el entrenamiento llevado a cabo en este caso por el panel de catadores y durante la selección de atributos se consideró que los descriptores rancidez y *WOF* eran claramente diferenciables y podían ser distinguidos por los catadores una vez entrenados; además permitían una caracterización clara de las muestras de los cuatro tratamientos, por lo que se acordó utilizar estos dos atributos en la valoración sensorial de las muestras y eliminar otros que parecían redundantes.

No se detectaron diferencias significativas entre los cuatro tratamientos experimentales en el *WOF*, pero sí en la rancidez (Tabla 4.18).

La suplementación de 30 ppm de α -tocoferol en la dieta de los pollos (T6) provocó una disminución de la rancidez de las muestras detectada a nivel sensorial, en comparación con el resto de tratamientos experimentales. Este mismo resultado se había observado previamente con una dosis de vitamina E de 100 ppm (Carreras *et al.*, 2004), pero en este caso una suplementación considerablemente inferior demostró ser también eficaz. Los 20 ppm contenidos en la dieta basal, en cambio, no fueron suficientes. Por el contrario, De Winne y Dirinck (1996), estudiando el efecto de 200 ppm de vitamina E en la dieta de pollos, comprobaron que a pesar de que las puntuaciones de *off-flavors* fueron superiores en las muestras control que en las suplementadas con el antioxidante, las diferencias no fueron significativas.

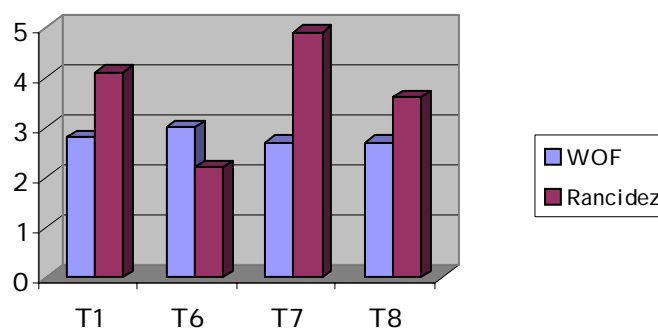
Cuando la misma dosis de vitamina E se adicionó junto a 15 ppm de β -caroteno (T8) los valores de rancidez no disminuyeron lo suficiente como para diferir del control (T1). Carreras *et al.* (2004) observaron este mismo fenómeno en pechugas de pollo cuando la dieta contenía 100 ppm de vitamina E y 1.5 ppm de β -caroteno.

El licopeno, en las condiciones ensayadas, no mostró efecto antioxidante sino más bien lo contrario como indica la rancidez de las muestras del tratamiento T7, que, si bien no fue significativamente distinta del control, tendió a ser más elevada. Anteriormente el licopeno administrado a una dosis inferior (0.1 ppm) no afectó significativamente los valores de rancidez de muestras de pechuga de pollo valoradas en las mismas condiciones (Carreras, 2002).

En la gráfica 4.9, donde se representa mediante barras las puntuaciones medias de *WOF* y rancidez para cada uno de los tratamientos, se observa una tendencia a que los tratamientos con valores superiores de rancidez presentasen puntuaciones menores de *WOF* y viceversa. Esto se apreció de forma más clara en los tratamientos T6 y T7 que eran, respectivamente, el menos y el más rancio. Parece que

la detección del *WOF* podría quedar enmascarada por la rancidez de las muestras. Este fenómeno se había observado también en un trabajo previo (Carreras *et al.*, 2004). Asimismo, en el estudio de Poste *et al.* (1986) la fuerte rancidez que tenían las muestras de cerdo recalentadas después de ocho días de almacenamiento interfirió en la percepción del *WOF*. El aroma rancio gradualmente enmascaró el aroma *warmed-over* percibido inicialmente por los panelistas. La sensibilidad individual de cada uno de ellos al aroma rancio decidió en qué momento el *WOF* empezaba a verse enmascarado. En este estudio podría haber ocurrido un fenómeno similar.

Gráfica 4.9 Valores de *WOF* y rancidez de las muestras de pechuga de pollo cocidas¹



¹Valores que hacen referencia a las puntuaciones de los catadores en una escala de 1 a 10.

T1: control; T6: 30 ppm vitamina E; T7: 10 ppm licopeno;
T8: 30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno

Como se percibió durante el programa de entrenamiento de los catadores, el tiempo de almacenamiento de las muestras una vez cocidas, era clave para la detección de los cambios oxidativos producidos. A pesar de que Lyon (1987) observó que el cambio de *flavor* en muestras de pechuga y muslo de pollo era detectable 24 h. después de la cocción, en este estudio se consideró adecuado un período de almacenamiento de seis días, que propiciaba claramente el desarrollo de la rancidez y permitía testar la eficacia de los antioxidantes. Lyon (1988) comprobó que tres días de almacenamiento de la carne de pollo cocida no eran suficientes para acentuar el carácter rancio de las muestras. Otro estudio mostró que inmediatamente después de la cocción no se encontraban diferencias en aroma y *flavor* entre muestras de muslos

de pavos control y los tratados con antioxidantes mientras que al almacenar la carne cocida a 4°C durante cuatro días pasaban a detectarse diferencias entre los tratamientos experimentales (Vara-Ubol y Bowers, 2002).

Atributos de textura

La textura de la carne es un aspecto fundamental a tener en cuenta ya que una gran parte de los consumidores se basan en ella para determinar la aceptabilidad y calidad de la misma. Un número importante de consumidores define la calidad en términos de terneza y jugosidad (Chambers y Bowers, 1993) por este motivo resulta interesante conocer si la suplementación de los antioxidantes puede afectar de algún modo a la textura de la carne.

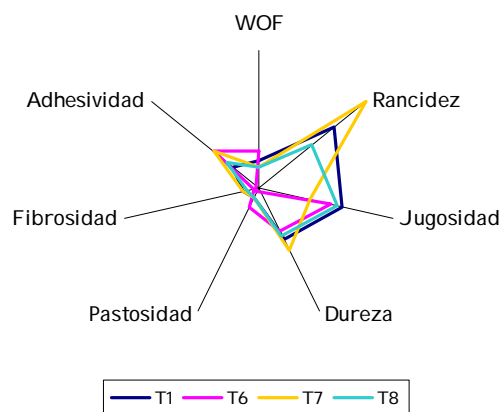
No se observaron diferencias significativas entre tratamientos para ninguno de los atributos de textura analizados (Tabla 4.18). Si el tratamiento con alguno de los antioxidantes afectó de algún modo a la textura de la carne, los cambios no fueron lo suficientemente importantes como para ser apreciados a nivel sensorial. Robbins *et al.* (2003) tampoco detectaron ningún efecto de la suplementación de vitamina E (1000 UI/día) sobre la textura de la carne de ternera, aunque debe tenerse en cuenta que la degustación se realizó inmediatamente después de la cocción de las muestras. En otro trabajo previo, Carreras (2002), utilizando la misma metodología, describió pequeños cambios en la dureza y la adhesión de muestras de pechuga de pollo; así, la suplementación de 100 ppm de vitamina E, de 1.5 ppm de β -caroteno y la combinación de ambos disminuyó la dureza de la carne en comparación con el control. También se redujo la adhesividad, aunque solo el tratamiento con β -caroteno fue significativamente distinto del control.

En cualquier caso, es muy difícil la comparación de estos resultados con los obtenidos en otros estudios ya que en muchos casos existen diferencias en el método de cocción de la carne, lo que puede influir de forma notable en la textura que esta presenta una vez cocida. Su *et al.* (1991), por ejemplo, compararon dos métodos de cocción para pechugas de pollo, observando que la cocción en el horno daba lugar a

muestras más secas que la cocción en baño de agua, debido a que requería mayor tiempo y la carne se encontraba más expuesta al aire. Se sabe también que la composición de ácidos grasos de la carne afecta de forma importante a la textura de esta. Cuando el perfil de ácidos grasos es más saturado, el tejido es más firme (Wood *et al.*, 2003). Así, García Regueiro *et al.* (2000) observaron que la dureza de la carne de pollo era mayor cuanto mayor era el contenido de triglicéridos que contenían ácido esteárico (18:0). En general, se ha observado que la adición de antioxidantes en la dieta animal no provoca cambios en la composición de ácidos grasos del tejido muscular (Ahn *et al.*, 1995; Nam *et al.*, 1997; O'Neill *et al.*, 1998), por lo tanto, en este sentido, sería de esperar no observar cambios de la textura. En este caso no se analizó la composición de ácidos grasos del tejido muscular pero si esta se vio modificada por alguno de los antioxidantes, el cambio no influyó en la textura de la carne.

En la gráfica 4.10 se representan los atributos de *flavor* y textura que se valoraron en las muestras cocidas de pechuga de pollo.

Gráfica 4.10 Representación gráfica de los atributos de *flavor* y de textura valorados en pechuga de pollo cocida.



T1: control; T6: 30 ppm vitamina E; T7: 10 ppm licopeno;
T8: 30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno

En el análisis de correlaciones entre la vitamina E y los atributos de textura valorados se observó únicamente una correlación negativa significativa ($r=-0.89$) entre el nivel de antioxidante y la pastosidad de las muestras del tratamiento T6 (30 ppm vitamina E).

Los valores de TBARS estuvieron correlacionados negativamente con la dureza de las muestras en el tratamiento control (T1), siendo el coeficiente de correlación de $r=-0.71$. En este mismo grupo se observó también una correlación negativa entre los valores de TBARS y la fibrosidad ($r=-0.71$).

La dureza de las muestras estuvo correlacionada negativamente con la jugosidad ($r=-0.73$ para el grupo control y $r=-0.77$ para el grupo con 10 ppm de licopeno). También se observó una correlación negativa significativa entre la jugosidad y la fibrosidad en el tratamiento control ($r=-0.87$) y entre la jugosidad y la adhesividad en el tratamiento T7 ($r=-0.76$).

La dureza y la fibrosidad, en cambio, estuvieron relacionadas positivamente ($r=0.71$ para el tratamiento control y $r=0.73$ para el tratamiento con 30 ppm de vitamina E) del mismo modo que la pastosidad y la adhesividad ($r=0.82$) en el grupo con 10 ppm de licopeno.

4.4.3 MUSLO DE POLLO CRUDO

En la Tabla 4.19 se muestran los resultados de los atributos visuales y atributos de olor valorados sobre las muestras de muslo de pollo crudo.

Tabla 4.19 Atributos visuales y atributos de olor sobre muestras de muslo de pollo crudo¹.

	ATRIBUTOS VISUALES							ATRIBUTOS DE OLOR		
	Color piel blanco/amarillo	Color piel blanco/rosa	Color carne claro/oscurο	Uniformidad color carne	Color grasa interna	Conformación	Cantidad plumas	Olor rancio	Olor carne cruda/pollo	Olor sangre/metálico /hígado
T1 (n=8)	1.4	1.4 ^b	5.8	6.1	1.2	4.5 ^{ab}	1.6 ^{ab}	0.1	3.4	2.1
T6 (n=8)	2.8	2.9 ^a	6.4	5.4	2.4	4.1 ^b	1.5 ^b	0.0	3.9	3.6
T7 (n=8)	3.0	2.7 ^a	5.0	4.9	2.6	5.3 ^{ab}	1.2 ^b	0.1	4.1	3.1
T8 (n=8)	2.1	1.6 ^b	4.8	5.1	1.8	5.8 ^a	2.6 ^a	0.0	4.3	2.1
RMSE	1.6	1.0	1.3	1.3	1.3	1.2	1.0	0.2	2.0	2.7

¹Valores que hacen referencia a las puntuaciones de los catadores en una escala de 1 a 10.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{ab}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes (p<0.05).

T1: control; T6: 30 ppm vitamina E; T7: 10 ppm licopeno; T8: 30 ppm vitamina E + 15 ppm β-caroteno.

Atributos visuales

El color de la piel del muslo se examinó con el fin de comprobar si la deposición de los antioxidantes, principalmente los carotenoides, afectaba a la pigmentación. El color de la piel viene determinado genéticamente, pero depende también del contenido de carotenoides de la dieta (Barton-Gade *et al.*, 1988).

En este estudio, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos en las tonalidades amarillentas de la piel. Tampoco King *et al.* (1995) notaron ningún efecto debido a la suplementación de 25 ppm de β -caroteno en la dieta de pollos y Muramoto *et al.* (2003), trabajando con carne de ternera, observaron que la adición de 7500mg de β -caroteno/ animal y día no provocaba ningún cambio sobre los valores de b^* (tendencia al amarillo) del *M. Semimembranosus* y del *M. Longissimus lumborum*. Por otro lado, Ruiz *et al.* (2001) obtuvieron valores menores de coloración amarilla de la piel en muslos de pollos a los que se les había adicionado 15 ppm de β -caroteno en la dieta. Estos autores sugirieron que podía ser debido a una competencia entre el β -caroteno y otros carotenoides durante su absorción in vivo.

Sí se obtuvieron diferencias significativas al analizar la coloración rosada de la piel. La suplementación de 30 ppm de **vitamina E** (T6) y la de 10 ppm de **licopeno** (T7) provocaron un incremento del color rosa. El efecto de la vitamina E sobre el color no se observó en combinación con el β -caroteno (T8). Sería explicable que el licopeno provocase una mayor coloración rosada si se hubiese acumulado en el tejido adiposo subcutáneo, ya que se trata de un pigmento responsable de la coloración de muchos frutos rojos. En el caso de la vitamina E, el incremento del color rosado podría ser debido a la tendencia de las muestras de este tratamiento a presentar un color más oscuro de la carne. Como se ha comentado anteriormente, el efecto de la vitamina E sobre el color de la carne es más evidente en tejidos con un nivel superior de pigmentos musculares, por lo que podría apreciarse un efecto en el muslo que no se había observado anteriormente en las muestras de pechuga.

En los tratamientos T1, T7 y T8 se observó una correlación positiva entre el color amarillento y el color rosado de la piel ($r=0.88$, $r=0.81$ y $r=0.76$,

respectivamente) probablemente porque los dos atributos se valoraron de tal manera que puntuaciones bajas indicaban una coloración más blanquecina de la piel.

Ni el color de la carne ni la uniformidad de esta se vieron afectados por los tratamientos experimentales. Tampoco el color de la grasa interna, aunque en los tratamientos T6 (30 ppm vitamina E) y T7 (10 ppm licopeno) tendió a ser más intenso que en el resto, coincidiendo con una mayor coloración rosa de la piel en estos tratamientos. Ruiz *et al.* (2001) describieron valores inferiores de intensidad y uniformidad de color en los muslos correspondientes al tratamiento con 15 ppm de β -caroteno. King *et al.* (1995) por otro lado, apreciaron un mejor mantenimiento del color rojo durante el almacenamiento de ocho semanas de muslos de pollos a los que se adicionaron 150 ppm de vitamina E en la dieta.

Los muslos del tratamiento que incluía **β -caroteno** (T8) resultaron ser los más conformados, aunque la diferencia fue solamente significativa en comparación con los muslos del tratamiento con vitamina E (T6). Estos muslos más conformados también presentaban una cantidad de plumas significativamente superior a los tratados con vitamina E (T6) y licopeno (T7).

Hubo una correlación negativa significativa entre la conformación y la uniformidad de color de la carne en el tratamiento control ($r=-0.71$) y entre la conformación y la intensidad de color en el tratamiento T8 ($r=-0.74$).

En el tratamiento T6 (30 ppm vitamina E), la intensidad de color del muslo estuvo correlacionada negativamente con la conformación ($r=-0.72$) así como también con la cantidad de plumas ($r=-0.73$). Podría ser que el desarrollo muscular (mayor conformación) implicase una mayor proporción de un determinado tipo de fibras musculares con una cantidad determinada de pigmentos musculares y esto podría relacionarse, en cierta medida, con la intensidad de color del muslo.

Atributos de olor

No se apreciaron diferencias en los atributos de olor valorados. Tampoco Ruiz *et al.* (2001) observaron diferencias en el muslo para estos atributos ni con la suplementación de 200 ppm de vitamina E ni con la de 15 ppm de β -caroteno en la dieta de pollos.

El olor rancio de las muestras crudas era prácticamente inapreciable seguramente porqué son los compuestos volátiles generados durante la cocción o recalentamiento de la carne los principales responsables de los *off-flavors* detectados (Gray *et al.*, 1996).

El tratamiento con una tendencia a presentar una mayor intensidad de olor a sangre (T6), correspondía a su vez con el que presentaba una tendencia a mostrar la carne más oscura.

Hubo una correlación positiva entre el olor a carne cruda y el olor a sangre o metálico en el grupo control ($r=0.87$) y en el grupo con 10 ppm de licopeno ($r=0.92$).

En general el olor a hígado era superior en muslo que en pechuga debido probablemente al mayor contenido de pigmentos de este músculo (Lyon, 1993).

4.4.4 MUSLO DE POLLO COCIDO

En los muslos cocidos se evaluaron los mismos atributos de *flavor* y textura que en el caso de las pechugas (Tabla 4.20).

Tabla 4.20 Atributos de *flavor* y de textura sobre muestras de muslo de pollo cocidas¹.

	FLAVOR		TEXTURA				
	WOF	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad	Adhesividad
T1 (n=8)	2.6	1.4	4.8	4.1	2.7	2.6	1.8
T6 (n=8)	2.8	1.1	4.9	5.0	2.0	3.4	2.4
T7 (n=8)	1.9	3.3	4.0	5.0	2.2	2.8	1.7
T8 (n=8)	2.2	2.4	4.3	4.8	2.7	3.3	2.0
RMSE	1.5	1.9	1.2	0.8	1.0	0.9	1.3

¹Valores que hacen referencia a las puntuaciones de los catadores en una escala de 1 a 10.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

T1: control; T6: 30 ppm vitamina E; T7: 10 ppm licopeno; T8: 30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno.

Atributos de flavor

Igual que en la pechuga, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos experimentales en el *WOF*.

A pesar de que tampoco las hubo en la rancidez, se observó una tendencia a que esta disminuyese en las muestras del tratamiento con 30 ppm de vitamina E (T6). El hecho de almacenar el músculo *gastrocnemius* entero una vez cocido, antes de las sesiones de cata, a diferencia de la pechuga que era dividida en pequeños trozos que se almacenaban separadamente, pudo influir en que el enranciamiento de las muestras no fuese tan acusado y se apreciaran con menor intensidad que en la pechuga las diferencias entre tratamientos. El interior del músculo entero contiene muy poco oxígeno, sin embargo si este se corta o pica se mezcla aire promoviendo la oxidación.

Por otro lado, diversos autores han demostrado la necesidad de un determinado tiempo de almacenamiento de la carne una vez cocida para que se manifiesten los cambios derivados de la degradación oxidativa (Lyon, 1993; Poste *et al.*, 1996; Joseph *et al.*, 1997). Durante las sesiones de entrenamiento se consideró que un periodo de almacenamiento de seis días era suficiente para detectar bien la rancidez de las muestras.

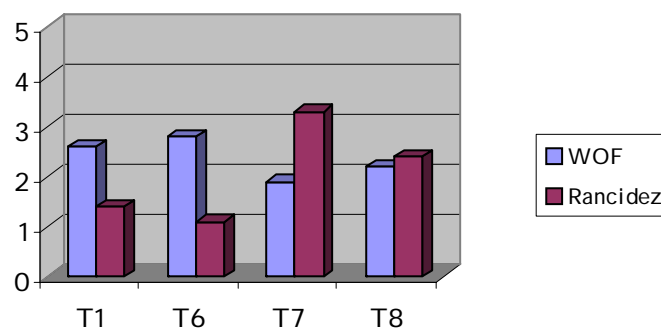
La dosis de 30 ppm de vitamina E utilizada no fue suficiente para mantener la estabilidad oxidativa del muslo que, debido a sus características, presenta una mayor susceptibilidad a la oxidación en comparación con la pechuga. De hecho, los valores de TBARS de estos tratamientos no fueron significativamente diferentes a los del control, tal y como se mostró anteriormente en la Tabla 4.16. Ruiz *et al.* (2001) observaron solamente una ligera disminución de la rancidez en muslo de pollos a los que se había suministrado una dosis muy superior de la vitamina (200 ppm). En general, los valores de rancidez que encontraron estos autores estaban muy por debajo de los obtenidos en este estudio debido que las muestras se consumían entre uno y cuatro días después del sacrificio de los animales, un período demasiado corto para que los procesos oxidativos hubiesen disminuido de forma notable la calidad sensorial de la carne. Además las muestras se servían de inmediato tras la cocción sin almacenarlas ni recalentarlas. Bou *et al.* (2001) en cambio, comprobaron que niveles

bajos de vitamina E contenidos en la dieta basal de pollos eran suficientes para prevenir el desarrollo de rancidez en muestras de muslo almacenadas a -20°C durante 13 meses. Mielnik *et al.* (2002) comprobaron también el efecto antioxidante de 200 ppm de vitamina E adicionados en la dieta de pollos al reducir los *off-flavors* asociados a la rancidez de los muslos. Sheldon *et al.* (1997) apuntaron que cuanto mayor era la concentración de vitamina E suplementada en la dieta de pavos, superior era la estabilidad oxidativa de las muestras.

En los tratamientos con licopeno (T7) y vitamina E más β -caroteno (T8) la rancidez tendía a superar los valores control. Como se vio anteriormente la suplementación del β -caroteno afectó la deposición de α -tocoferol en muslo, reduciéndola (ver Tabla 4.8). Ruiz *et al.* (2001) describió también un incremento del *flavor* rancio de las muestras de muslos de pollo correspondientes al tratamiento con 15 ppm de β -caroteno.

Cuando se compararon los valores de *WOF* y rancidez de cada uno de los tratamientos (Gráfica 4.11) se observó de nuevo la tendencia observada en las pechugas a que la rancidez enmascarase la detección del *WOF*. El tratamiento con licopeno (T7), que presentaba una mayor rancidez, era el que tenía menor nivel de *WOF* mientras que en el tratamiento T6 (30 ppm vitamina E) ocurría lo contrario.

Gráfica 4.11 Valores de *WOF* y rancidez de las muestras de muslo de pollo cocidas¹



¹Valores que hacen referencia a las puntuaciones de los catadores en una escala de 1 a 10.

T1: control; T6: 30 ppm vitamina E; T7: 10 ppm licopeno; T8: 30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno

Atributos de textura

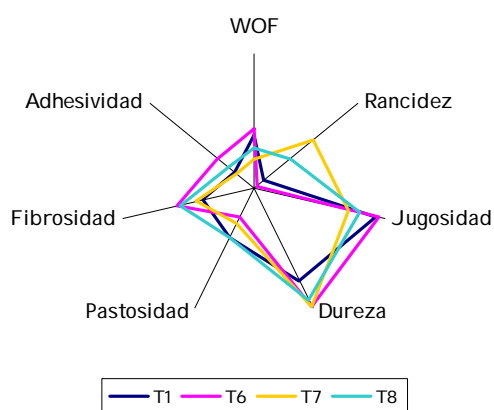
No se detectaron diferencias entre tratamientos para los cinco atributos de textura valorados (Tabla 4.20).

Ruiz (1999) adicionando 15 ppm de β -caroteno a la dieta de pollos obtuvo un incremento de la jugosidad inicial y de la adhesividad respecto al tratamiento con 200 ppm de vitamina E y un aumento de la terneza respecto al control. En otras especies animales como el cerdo se ha descrito un efecto beneficioso de la suplementación de vitamina E en la dieta sobre algunos atributos sensoriales de textura (terneza y jugosidad) de la carne (Dirinck *et al.*, 1996).

De acuerdo con Grashorn (1995) unos de los criterios más destacables de calidad de la carne son la jugosidad y la terneza. Estos dos atributos están íntimamente relacionados; cuanto más tierna es la carne, más jugos se liberan al masticarla y la sensación de jugosidad incrementa. En este estudio, para el tratamiento control se obtuvo una correlación negativa entre la jugosidad y la dureza ($r=-0.87$).

En la gráfica 4.12 se representan todos los atributos valorados en las muestras de muslo de pollo cocido.

Gráfica 4.12 Representación gráfica de los atributos de *flavor* y de textura valorados en muslo de pollo cocido.



T1: control; T6: 30 ppm vitamina E; T7: 10 ppm licopeno;
T8: 30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno

La dureza de las muestras estuvo correlacionada positivamente con la fibrosidad, aunque esta correlación sólo fue significativa en el tratamiento T8 ($r=0.82$). Este mismo tratamiento presentaba también una correlación negativa entre la jugosidad y la adhesividad ($r=-0.70$).

La rancidez de las muestras estuvo correlacionada negativamente con la jugosidad de estas ($r=-0.74$ para el grupo control y $r=-0.80$ para el tratamiento T4) y con la fibrosidad, en el tratamiento T6 ($r=-0.71$).

Los resultados obtenidos mediante el análisis sensorial de las muestras de pechuga y muslo corroboraron los resultados obtenidos químicamente mediante los valores de TBARS. La suplementación de 30 ppm de vitamina E en la dieta de los pollos conseguía disminuir la rancidez de las muestras de pechuga sometidas a condiciones prooxidantes, en cambio en el muslo, aunque se apreciaba también una tendencia a una menor rancidez, la dosis no era suficiente.

Al combinar la misma dosis de vitamina E con el β -caroteno, dejaba de manifestarse la capacidad antioxidante del α -tocoferol.

El licopeno a la dosis testada, si bien no incrementó los valores de TBARS, tendió a provocar una mayor rancidez de las muestras, por lo tanto a actuar como prooxidante.

También cabe destacar que, de forma general, los antioxidantes suplementados no modificaron la textura de la carne en ningún sentido.

4.5 NIVELES DE ANTIBIÓTICO EN MÚSCULO E HÍGADO

Los niveles de enrofloxacin y de su metabolito ciprofloxacina fueron determinados en las muestras de los tratamientos experimentales a los cuales se les había administrado el fármaco (T2, T3, T4 y T5) así como también en el tratamiento control (T1). El análisis se llevo a cabo en tejido muscular de pechuga y muslo así como también en hígado, órgano dónde tiene lugar el metabolismo del fármaco.

Una vez analizados los resultados obtenidos, la significación de cada uno de los factores incluidos en el modelo se muestra en la Tabla 4.21 en el caso de la enrofloxacin y en la Tabla 4.22 para la ciprofloxacina.

Tabla 4.21 Significación de los factores incluidos en el modelo para la enrofloxacin en pechuga, muslo e hígado de pollo

			FACTOR (valores p)		
			Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga	(n=50)	<0.0001	0.1665	0.1790
	Muslo	(n=50)	<0.0001	0.8742	0.9767
	Hígado	(n=51)	<0.0001	0.4268	0.6683

Tabla 4.22 Significación de los factores incluidos en el modelo para la ciprofloxacina en pechuga, muslo e hígado de pollo

			FACTOR (valores p)		
			Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga	(n=50)	<0.0001	0.4020	0.5154
	Muslo	(n=50)	<0.0001	0.0260	0.8400
	Hígado	(n=51)	<0.0001	0.5052	0.6400

El factor tratamiento resultó claramente significativo ($p < 0.0001$) tanto en el caso de la enrofloxacin como la ciprofloxacina para todos los tejidos analizados. El factor día de análisis lo fue únicamente para la ciprofloxacina en muslo. La significación del factor día en un solo caso fue probablemente debido a algún factor relacionado con la extracción de ese tipo de muestra en particular ya que no se observó en los demás tejidos. El factor tejido (valores p no mostrados) fue significativo en los tratamientos T2, T4 y T5 para la enrofloxacin y en todos los tratamientos exceptuando el control para la ciprofloxacina.

En todos los tejidos se pudo estimar la interacción tratamiento*día de análisis que, al resultar no significativa, se eliminó del modelo.

Los niveles de enrofloxacin y de su metabolito en cada uno de los tejidos analizados, respectivamente, se muestran en las Tablas 4.23 y 4.24.

Tabla 4.23 Niveles de enrofloxacin en pechuga, muslo e hígado de pollo¹.

		TEJIDO						
		Pechuga		Muslo		Hígado		RMSE
TRATAMIENTO	T1	N.D.	(n=10)	N.D.	(n=10)	N.D.	(n=10)	0.28
	T2	2.31	^{aB} (n=10)	2.18	^{aB} (n=10)	3.51	^{aA} (n=10)	0.52
	T3	0.20	^b (n=10)	0.26	^c (n=10)	0.21	^{cd} (n=10)	0.36
	T4	2.62	^{aA} (n=10)	1.82	^{bB} (n=10)	2.77	^{bA} (n=10)	0.63
	T5	0.44	^{bAB} (n=10)	0.18	^{cB} (n=10)	0.53	^{cA} (n=11)	0.32
	RMSE	0.50		0.35		0.46		

¹Resultados expresados en μg de enrofloxacin/g tejido (ppm).

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

N.D. <0.01 μg de enrofloxacin/g tejido.

^{abc}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

^{AB}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

T1: control; T2: 50 ppm enrofloxacin sin retirada; T3: 50 ppm enrofloxacin con retirada; T4: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada; T5: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada.

Tabla 4.24 Niveles de ciprofloxacina en pechuga, muslo e hígado de pollo¹.

		TEJIDO						
		Pechuga		Muslo		Hígado		RMSE
TRATAMIENTO	T1	N.D.	(n=10)	N.D.	(n=10)	N.D.	(n=10)	0.05
	T2	0.14 ^{aB}	(n=10)	0.10 ^{aB}	(n=10)	1.54 ^{aA}	(n=10)	0.18
	T3	0.03 ^{bcB}	(n=10)	0.02 ^{cb}	(n=10)	0.12 ^{cdA}	(n=10)	0.04
	T4	0.14 ^{aB}	(n=10)	0.10 ^{aB}	(n=10)	1.12 ^{bA}	(n=10)	0.18
	T5	0.05 ^{bb}	(n=10)	0.04 ^{bb}	(n=10)	0.24 ^{cA}	(n=11)	0.05
	RMSE	0.03		0.02		0.20		

¹Resultados expresados en μg de ciprofloxacina/g tejido (ppm).

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

N.D. <0.01 μg de ciprofloxacina/g tejido.

^{abc}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

^{AB}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

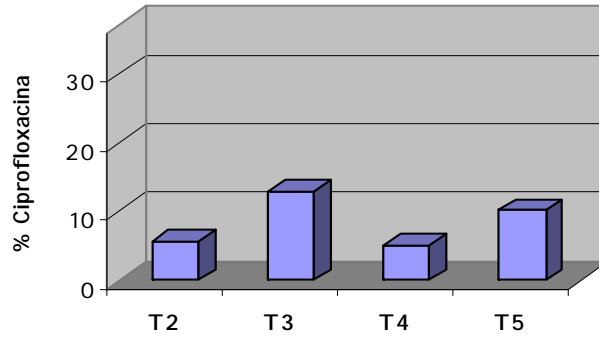
T1: control; T2: 50 ppm enrofloxacin sin retirada; T3: 50 ppm enrofloxacin con retirada; T4: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada; T5: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada.

Como era de esperar, no se detectaron residuos de enrofloxacin ni de su metabolito en las muestras control (T1) de ninguno de los tejidos analizados.

Para los demás tratamientos, con o sin período de retirada, y en todos los tejidos analizados, los niveles de enrofloxacin fueron superiores ($p < 0.05$) a los de ciprofloxacina. Es un hecho aceptado que la enrofloxacin se metaboliza en el hígado dando lugar a la ciprofloxacina, la cual es responsable de una parte de la actividad antimicrobiana (Otero *et al.*, 2001b), sin embargo existen discrepancias sobre que porcentaje del fármaco inicial es transformado a ciprofloxacina. Gorla *et al.* (1997), en un estudio de administración oral de enrofloxacin y ciprofloxacina a gallinas, detectaron también niveles de ciprofloxacina por debajo de los de enrofloxacin en los huevos de las gallinas tratadas. Anadón *et al.* (1995) en cambio, observaron que la enrofloxacin administrada a pollos se metabolizaba de forma extensiva a ciprofloxacina. Estos autores describieron el mismo fenómeno en cerdos (Anadón *et al.*, 1999).

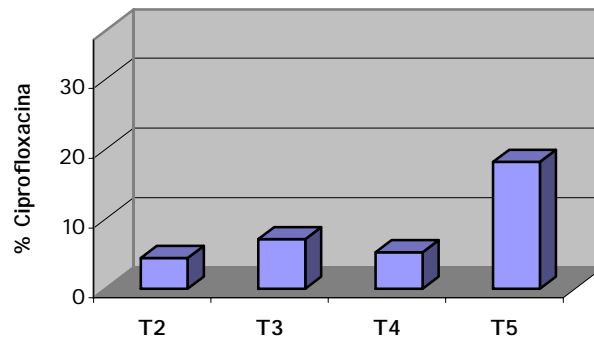
En las gráficas 4.13, 4.14 y 4.15 se representa el porcentaje de ciprofloxacina respecto al antibiótico total detectado en pechuga, muslo e hígado, respectivamente.

Gráfica 4.13 Porcentaje de ciprofloxacina respecto al antibiótico total detectado en pechuga de pollo.



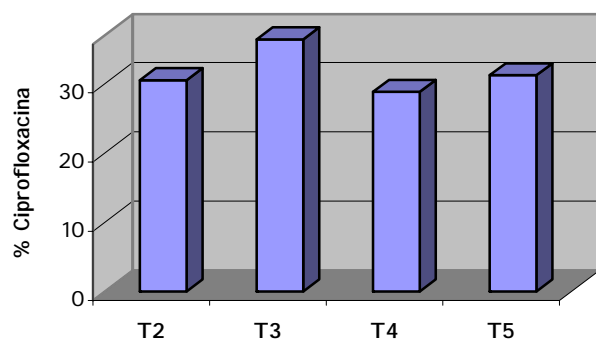
T2: 50 ppm enrofloxacin sin retirada;
T3: 50 ppm enrofloxacin con retirada;
T4: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada;
T5: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada.

Gráfica 4.14 Porcentaje de ciprofloxacina respecto al antibiótico total detectado en muslo de pollo.



T2: 50 ppm enrofloxacin sin retirada;
T3: 50 ppm enrofloxacin con retirada;
T4: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada;
T5: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada.

Gráfica 4.15 Porcentaje de ciprofloxacina respecto al antibiótico total detectado en hígado de pollo.



T2: 50 ppm enrofloxacina sin retirada;
 T3: 50 ppm enrofloxacina con retirada;
 T4: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacina sin retirada;
 T5: 100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacina con retirada.

En músculo, los tratamientos con período de retirada (T3 y T5) presentaron el mayor porcentaje de ciprofloxacina, con niveles máximos del 13% en el tratamiento T3 de pechuga y del 18% en el tratamiento T5 de muslo.

El porcentaje de ciprofloxacina detectada respecto a la concentración de antibiótico total fue superior ($p < 0.05$) en hígado que en tejido muscular, probablemente debido a que es en el tejido hepático donde tiene lugar el metabolismo de la enrofloxacina. Los porcentajes de ciprofloxacina detectados en este tejido oscilaron entre el 28.8% del tratamiento T4 y el 36.4% del tratamiento T3 e igual que en músculo, los tratamientos con período de retirada (T3 y T5) presentaron el mayor porcentaje. En un estudio de administración de enrofloxacina también a pollos, los autores encontraron un 51% en hígado y un 85% en músculo del antibiótico en forma de enrofloxacina, es decir, un porcentaje superior de ciprofloxacina en hígado (EMEA, 1998).

Tanto en músculo como en hígado, los residuos de ciprofloxacina en valor absoluto fueron inferiores en los tratamientos en los que se efectuó la retirada del antibiótico (T3 y T5), pero fue precisamente en estos tratamientos donde el

porcentaje de ciprofloxacina en relación al antibiótico total era mayor. Con período de retirada se producía un mayor metabolismo y eliminación del fármaco. Sin la retirada, en cambio, gran parte del fármaco se encontraba sin metabolizar.

Comparando los niveles de **enrofloxacin**a entre los tres tejidos analizados (Tabla 4.23), se encontraron diferencias significativas entre tejidos en todos los tratamientos donde se había administrado el antibiótico, exceptuando el tratamiento T3 (enrofloxacin con retirada).

En general, los niveles más elevados se presentaron en hígado, órgano responsable del metabolismo del fármaco, mientras que la acumulación en tejido muscular fue menor. Otros estudios describieron concentraciones superiores del fármaco a nivel hepático (Anadón *et al.*, 1995; Anadón *et al.*, 1999; Bayer, 2002).

Los niveles de residuos del fármaco en el tejido muscular se vieron influidos por la presencia de vitamina E en este tejido. Cuando la enrofloxacin se administró sola y sin período de retirada (T2) los niveles de antibiótico detectados en hígado fueron significativamente superiores a los de pechuga y muslo. Cuando se suplementó además vitamina E en la dieta (T4 y T5), los niveles de enrofloxacin en hígado fueron también superiores a los de muslo, pero no significativamente diferentes de los de pechuga. Fue precisamente el muslo el tejido donde se acumuló más vitamina E (Tabla 4.8), por lo tanto si la suplementación del antioxidante influía de algún modo sobre los niveles de antibiótico restantes en el tejido, tenía que ser precisamente en este tejido donde se manifestasen más claramente los efectos.

Para la **ciprofloxacina**, en todos los tratamientos, excepto el control en el cual no se detectaron residuos, hubo una mayor presencia de residuos en hígado que en tejido muscular (Tabla 4.24) probablemente porque es en el tejido hepático donde se genera. La concentración de ciprofloxacina en pechuga y muslo no fue significativamente distinta.

Pechuga de pollo

En este tejido se observó una marcada diferencia en los niveles de **enrofloxacina** entre los tratamientos en los que se había respetado el período de 12 días de retirada tras la administración del fármaco (T3 y T5) y aquellos en los que se había administrado el antibiótico durante los días previos al sacrificio (T2 y T4). Como puede observarse en la Figura 4.2, los residuos de enrofloxacina y de su metabolito se redujeron significativamente al aplicar el período de retirada del fármaco.

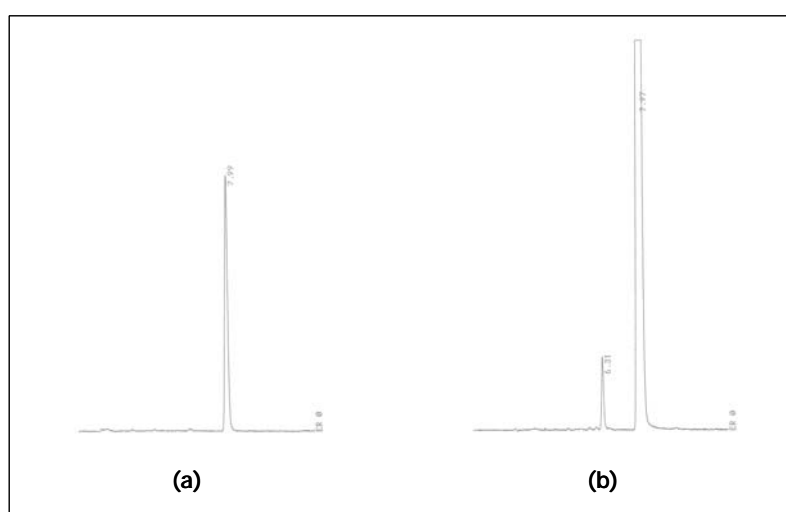


Figura 4.2 Cromatograma de la enrofloxacina en muestras de pechuga de un tratamiento con (a) o sin (b) período de retirada.

Como era previsible, cuando no se aplicó el tiempo de retirada (T2 y T4) los niveles de enrofloxacina sobrepasaron el límite máximo permitido por la legislación y establecido en 0.1 $\mu\text{g/g}$ para el tejido muscular (Tabla 4.23). En los tratamientos en los que se llevó a cabo la retirada (T3 y T5), los niveles superaron también ligeramente los LMRs establecidos. Anadón *et al.* (1995) encontraron residuos de ciprofloxacina en músculo, hígado y riñón y de enrofloxacina en hígado de broilers a los que se administró 10mg/Kg. de enrofloxacina oralmente durante 4 días, incluso después de un período de retirada de 12 días.

Debe tenerse en cuenta que el estudio no tenía como objetivo la cuantificación exacta de los niveles de antibiótico en el tejido sino el análisis de las diferencias

entre tratamientos experimentales, por lo que el método de análisis estaba más enfocado hacia la detección que no hacia la cuantificación del antibiótico.

Por otro lado, deben de considerarse también las condiciones de ensayo y como algunos parámetros pudieron afectar los niveles de enrofloxacin y su metabolito, por ejemplo, la vía de administración del fármaco. Si bien la vía de administración habitual en la práctica avícola es la oral, como ya se ha comentado anteriormente, esta presenta algunas desventajas; el hecho de que los animales fuesen criados durante el verano, en el que se alcanzaron temperaturas muy elevadas, pudo influir en la ingestión de agua y en consecuencia de antibiótico.

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos con administración del antibiótico, con o sin retirada, y los que además contenían vitamina E. A pesar de esto, parecía haber una tendencia a que los tratamientos con vitamina E presentasen mayor concentración de residuos de enrofloxacin que sus correspondientes tratamientos sin el antioxidante (T4 vs. T2 y T5 vs. T3).

Los niveles de **ciprofloxacina** en pechuga (Tabla 4.24) siguieron la misma pauta que los de enrofloxacin. Los tratamientos sin período de retirada (T2 y T4), presentaron niveles de residuos superiores a los de los tratamientos con retirada (T3 y T5) y no se observó ningún efecto significativo de la suplementación de vitamina E en la dieta sobre los niveles de ciprofloxacina.

Muslo de pollo

En muslo, la administración de enrofloxacin seguida de los doce días de retirada, ya fuese sola (T3) o junto a la suplementación de vitamina E en la dieta (T5), dio lugar a niveles de **enrofloxacin** significativamente inferiores a los respectivos tratamientos sin la retirada (T2 y T4) (Tabla 4.23). A pesar de esto, e igual que en el caso anterior, estos valores estaban ligeramente por encima de los LMRs permitidos.

En este caso se observaron diferencias entre los dos tratamientos sin período de retirada (T2 y T4). Cuando no se suplementó vitamina E en la dieta animal (T2) los niveles de enrofloxacin detectados en muslo fueron significativamente superiores a

cuando se incorporó el antioxidante en la dieta (T4). Se observó por lo tanto, un efecto de la suplementación dietética de vitamina E sobre los residuos del fármaco detectados en el tejido.

Este efecto no se observó entre los tratamientos en los que se aplicó el período de retirada, aunque los niveles de enrofloxacin del tratamiento T5 (vitamina E y enrofloxacin con retirada) tendieron a ser inferiores a los del tratamiento T3 (enrofloxacin con retirada).

Respecto a los niveles de **ciprofloxacina** (Tabla 4.24), estos fueron superiores en los tratamientos T2 y T4 (sin retirada del antibiótico), entre los que no se vio ningún efecto de la suplementación de la vitamina E.

En los tratamientos con retirada del antibiótico, el que contenía vitamina E (T5) tendió a presentar mayor concentración de ciprofloxacina, aunque la diferencia no fue significativa.

Hígado de pollo

Los resultados obtenidos en hígado seguían la misma pauta que los de muslo (Tabla 4.23). De nuevo, con período de retirada del antibiótico (T3 y T5), independientemente de la suplementación de vitamina E o no, los niveles de **enrofloxacin** fueron inferiores a los de cuando no se retiró el antibiótico (T2 y T4), pero superiores al LMR establecido para este tejido (0.2µg/g).

Se observó de nuevo un efecto de la vitamina E adicionada en la dieta. Cuando no hubo retirada del antibiótico, la vitamina E redujo significativamente los residuos de enrofloxacin (T4 vs. T2) en hígado. Si bien cuando se retiró el antibiótico se observó una tendencia contraria de la vitamina E, las diferencias en este caso no fueron significativas (T5 vs. T3).

Los residuos de **ciprofloxacina** presentes en hígado (Tabla 4.24) siguieron la misma tendencia que en el caso de la enrofloxacin: mayor presencia de residuos sin retirar el antibiótico y disminución de estos con la presencia de vitamina E en la dieta

(T4), mientras que tendencia a una mayor concentración de residuos cuando hubo retirada en el tratamiento que contenía vitamina E (T5 vs. T3).

Las fluoroquinolonas son eliminadas del organismo principalmente por metabolismo hepático y excreción renal. Los fármacos lipofílicos en general y las fluoroquinolonas en particular, no se eliminan de forma eficiente por lo que para ser excretadas en la orina deben ser metabolizadas previamente a nivel hepático, transformándose en sustancias más polares (Rang *et al.*, 2003). El metabolismo de fase I que estos fármacos sufren en el hígado, está mediado por un conjunto de enzimas entre los que cabe destacar el sistema del citocromo P450 (Shlosberg *et al.*, 1995). Existen diversos trabajos en los que se ha estudiado la influencia de la administración de enrofloxacin sobre la actividad de los enzimas del citocromo P450. Fuhr *et al.* (1992) observaron que las fluoroquinolonas podían inhibir de forma selectiva algunos isoenzimas del citocromo P450. Vancutsem y Babish (1996) demostraron que la enrofloxacin en dosis terapéuticas, provocaba una inhibición de los enzimas hepáticos P450IA1 y IA2. Del mismo modo, Shlosberg *et al.* (1997) observaron una inhibición por parte de la enrofloxacin de monooxigenasas microsomales del citocromo P450 en hígado de pollos. Ershov *et al.* (2001) sugirieron que la inducción o inhibición del sistema P450 podía hacer cambiar la velocidad y dirección del metabolismo del fármaco y llevar a efectos no deseados como la peroxidación lipídica o a la acumulación del fármaco en la sangre.

Por el contrario, Shlosberg *et al.* (1995) en otro estudio, no observaron cambios en la actividad P450 de broilers tratados con enrofloxacin.

Por lo tanto, diversos estudios demuestran que pueden producirse interacciones entre la enrofloxacin y otros fármacos metabolizados a través del citocromo P450 (Stratton, 1998).

A parte de esta, existen otro tipo de interacciones posibles entre las fluoroquinolonas y otros fármacos administrados;

Por un lado, la administración conjunta con otros fármacos puede disminuir la biodisponibilidad de las fluoroquinolonas. Este tipo de interacción se produce cuando las fluoroquinolonas forman un quelato con compuestos (fármacos, alimentos, excipientes...) que contienen cationes metálicos (Ca, Mg, Al, Fe o Zn); la formación de estos quelatos de escasa solubilidad provoca cambios en la capacidad del fármaco para atravesar la membrana gastrointestinal causando una reducción de la concentración plasmática de antibiótico.

Por otro lado, ciertos fármacos pueden inhibir la secreción tubular de algunas fluoroquinolonas, dificultando su excreción.

Finalmente, pueden producirse interacciones farmacodinámicas, es decir, competición entre fármacos por un mismo receptor.

En la mayor parte de casos, las interacciones descritas se dan entre las fluoroquinolonas y otros fármacos administrados conjuntamente. Por ejemplo, Ershov *et al.* (2000) investigaron las interacciones entre un antimicrobiano administrado a broilers y la monensina, un coccidiostato ionóforo administrado habitualmente en la práctica avícola para la prevención de la coccidiosis (enfermedad parasitaria que afecta a diversas especies de aves y que ocasiona importantes pérdidas económicas).

No se han investigado, en cambio, posibles interacciones entre la administración de fluoroquinolonas, enrofloxacin en particular, y otros componentes de la dieta animal como pueden ser antioxidantes. Los resultados obtenidos en este estudio muestran que este otro tipo de interacciones, la naturaleza de las cuales se desconoce, pueden afectar la presencia de residuos en los tejidos comestibles del animal y por lo tanto deberían de ser consideradas.

En resumen, en pollo, la no retirada del antibiótico antes del sacrificio de los animales daba lugar a niveles de enrofloxacin y ciprofloxacina superiores a cuando se retiraba el fármaco doce días antes del sacrificio y por encima de los LMR establecidos.

La suplementación de vitamina E en la dieta animal no tuvo ningún efecto significativo sobre los residuos detectados en pechuga.

En muslo e hígado, se observó un efecto significativo de la adición de vitamina E en la dieta sobre los residuos de antibiótico cuando no se retiró este antes del sacrificio. En este caso, la presencia de vitamina E dio lugar a una menor presencia de residuos. Aunque en los tratamientos con retirada del antibiótico el efecto de la suplementación de vitamina E en la dieta no fue significativo, se observó una tendencia a que la suplementación del antioxidante incrementase la presencia de residuos, sobre todo en hígado.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DEL ESTUDIO REALIZADO EN PAVOS

5.1 ACTIVIDAD DEL SISTEMA DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES

5.1.1 ACTIVIDAD GLUTATIÓN PEROXIDASA (GSHPx)

La actividad GSHPx dependiente de selenio se determinó en las muestras crudas de pechuga, muslo e hígado de pavo. Igual que en el pollo se pretendía comprobar si la actividad se veía afectada por la suplementación de la dieta con los antioxidantes y/o por la administración de enrofloxacin y investigar si se podía establecer alguna relación entre los enzimas y el estado de oxidación de las muestras.

La significación de los factores (valores p) que se incluyeron en el modelo se presenta en la Tabla 5.1.

Tabla 5.1 Significación de los factores incluidos en el modelo para la actividad GSHPx en pechuga, muslo e hígado de pavo

		FACTOR (valores p)		
		Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga (n=67)	0.3004	<0.0001	0.4663
	Muslo (n=67)	0.7602	<0.0001	0.0526
	Hígado (n=67)	0.5836	0.0015	no estimable

Como puede observarse, el factor tratamiento experimental no fue significativo ($p > 0.05$) en los tres tejidos analizados, mientras que el efecto del día de análisis resultó significativo en los tres casos. Como se analizó un mínimo de una muestra de cada tratamiento cada uno de los días de análisis pudo corregirse este efecto. Además en pechuga y muslo pudo estimarse la interacción tratamiento*día de análisis que, al ser no significativa ($p > 0.05$), se eliminó del modelo.

Los valores de actividad GSHPx, expresados en nmoles de NADPH oxidados por minuto y miligramo de proteína, para cada tejido y tratamiento experimental, quedan reflejados en la Tabla 5.2.

Tabla 5.2 Valores de actividad GSHPx en pechuga, muslo e hígado de pavo¹.

		TEJIDO						
		Pechuga		Muslo		Hígado		RMSE
TRATAMIENTO	P1	6.14 ^C	(n=10)	10.70 ^B	(n=10)	10.96 ^A	(n=10)	1.75
	P2	5.59 ^C	(n=10)	10.83 ^A	(n=10)	8.99 ^B	(n=10)	1.67
	P3	6.20 ^C	(n=10)	10.74 ^A	(n=10)	9.91 ^B	(n=10)	2.13
	P4	5.33 ^C	(n=10)	11.18 ^A	(n=10)	10.76 ^B	(n=10)	1.66
	P5	5.89 ^C	(n=7)	11.06 ^A	(n=7)	8.25 ^B	(n=7)	3.46
	P6	5.95 ^C	(n=10)	11.50 ^A	(n=10)	9.95 ^B	(n=10)	1.35
	P7	6.12 ^C	(n=10)	11.40 ^A	(n=10)	9.69 ^B	(n=10)	1.60
	RMSE	0.91		1.35		2.95		

¹Resultados expresados en nmoles NADPH/min*mg proteína.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{ABC}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes (p<0.05).

P1: control; P2: 50ppm enrofloxacina sin retirada; P3: 50ppm enrofloxacina con retirada; P4: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacina sin retirada; P5: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacina con retirada; P6: 50ppm vitamina E; P7: 50ppm vitamina + 15 β-caroteno.

Los valores de actividad GSHPx oscilaron en este caso entre los 5.33 y los 11.83 nmoles NADPH/min*mg proteína. A pesar de que Lee *et al.* (1996a) encontraron una actividad GSHPx en carne de pavo inferior a la descrita en carne de pollo y ternera pero superior a la descrita en cerdo, en este caso las actividades observadas en los tres tejidos fueron superiores a las determinadas en carne de pollo. Considerando todos los factores que influyen en la actividad GSHPx (ver apartado 4.1.1) las diferencias observadas respecto a la carne de pollo probablemente estaban relacionadas, en gran medida, con la especie animal ya que el contenido de selenio y el tipo de grasa de la dieta era el mismo en ambos casos.

Para todos los tratamientos experimentales se apreciaron diferencias significativas entre los tres **tejidos** analizados (Tabla 5.2). En todos los tratamientos exceptuando el control (P1) la actividad GSHPx fue superior en muslo seguida de hígado y por último de pechuga, habiendo diferencias significativas entre los tres tejidos y siendo la actividad en pechuga aproximadamente la mitad que en muslo.

Lee *et al.* (1996a) y Renerre *et al.* (1999) describieron también en carne de pavo una mayor actividad del enzima en músculos más oxidativos como los del muslo en comparación con músculos más glicolíticos como los de la pechuga. Daun y Akesson (2004) demostraron que los músculos oxidativos de pavo tenían un contenido de selenio tanto total como soluble superior a los músculos glicolíticos y esto afectaba de forma importante a la actividad de este enzima dependiente de selenio.

En ninguno de los tejidos estudiados se observaron diferencias significativas entre tratamientos experimentales (Tabla 5.2). No se manifestaba pues ningún efecto de la suplementación de vitamina E, β -caroteno o de la administración de enrofloxacin sobre la actividad GSHPx en pechuga, muslo o hígado. Respecto a la suplementación de antioxidantes, estos resultados concordaban con los obtenidos en carne de pollo, dónde tampoco hubo variaciones en la actividad GSHPx entre tratamientos experimentales. Renerre *et al.* (1999) tampoco observaron ningún efecto de la adición de 30 y 200ppm de vitamina E en la dieta de pavos sobre la actividad GSHPx de pechuga y muslo.

Se obtuvo una correlación negativa entre la actividad GSHPx y los valores de TBARS en las pechugas del tratamiento P7 (50 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno) y en los muslos del tratamiento P3 (50 ppm enrofloxacin con retirada), siendo los coeficientes de correlación de $r=-0.69$ y $r=-0.70$, respectivamente. En el muslo, y para los tratamientos P1 (control) y P4 (200 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada), la GSHPx estuvo correlacionada negativamente con los niveles de vitamina E ($r=-0.71$ y $r=-0.62$, respectivamente). Maraschiello (1998) observó, en muslos de pollos alimentados con dietas suplementadas con 200 ppm de vitamina E, una

correlación negativa entre el contenido del antioxidante y la actividad GSHPx; el autor sugirió que un nivel inferior de vitamina E incrementaba la producción de hidroperóxidos lipídicos que, por acción de la fosfolipasa A2, eran liberados al citosol donde podía actuar la GSHPx.

Finalmente, y también en muslo, en el tratamiento P7 (50 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno) se obtuvo una correlación positiva entre la actividad GSHPx y SOD ($r=0.74$), la cuál podría estar indicando una cooperación entre los dos enzimas.

5.1.2 ACTIVIDAD CATALASA (CAT)

La actividad catalasa fue determinada en las muestras pertenecientes a todos los tratamientos y tejidos.

La Tabla 5.3 muestra la significación de los factores incluidos en el modelo en este caso.

Tabla 5.3 Significación de los factores incluidos en el modelo para la actividad CAT en pechuga, muslo e hígado de pavo

		FACTOR (valores p)		
		Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga (n=67)	0.0096	0.0420	0.3226
	Muslo (n=67)	0.0314	<0.0001	0.7051
	Hígado (n=67)	0.0061	<0.0001	no estimable

Para la catalasa, el factor tratamiento fue significativo ($p<0.05$) en los tres tejidos analizados. También hubo en los tres casos un efecto día significativo. Como en el resto de casos, la interacción tratamiento* día de análisis resultó no significativa en pechuga y muslo y por lo tanto, se eliminó del modelo.

Los valores de actividad CAT de todos los tratamientos para cada tejido se muestran en la Tabla 5.4.

Tabla 5.4 Valores de actividad CAT en pechuga, muslo e hígado de pavo¹.

		TEJIDO						
		Pechuga		Muslo		Hígado		RMSE
TRATAMIENTO	P1	0.17 ^{cC}	(n=10)	0.67 ^{abA}	(n=10)	0.38 ^{bB}	(n=10)	0.22
	P2	0.21 ^{bcC}	(n=10)	0.64 ^{bB}	(n=10)	0.87 ^{bA}	(n=10)	0.18
	P3	0.29 ^{aB}	(n=10)	0.76 ^{aA}	(n=10)	0.78 ^{bA}	(n=10)	0.28
	P4	0.18 ^{cB}	(n=10)	0.66 ^{bA}	(n=10)	0.75 ^{bA}	(n=10)	0.30
	P5	0.22 ^{abcB}	(n=7)	0.70 ^{abB}	(n=7)	1.73 ^{aA}	(n=7)	0.83
	P6	0.21 ^{bcC}	(n=10)	0.69 ^{abA}	(n=10)	0.47 ^{bB}	(n=10)	0.23
	P7	0.25 ^{abB}	(n=10)	0.76 ^{aA}	(n=10)	0.58 ^{bA}	(n=10)	0.33
RMSE	0.07		0.10		0.60			

¹Resultados expresados en $\mu\text{moles}/\text{min} \cdot \text{mg}$ proteína.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{abc}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

^{ABC}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

P1: control; P2: 50ppm enrofloxacin sin retirada; P3: 50ppm enrofloxacin con retirada; P4: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin sin retirada; P5: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin con retirada; P6: 50ppm vitamina E; P7: 50ppm vitamina + 15 β -caroteno.

Los valores de actividad estuvieron comprendidos entre los 0.17 y 1.73 μmoles de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{min} \cdot \text{mg}$ proteína, siendo inferiores a los obtenidos con las muestras de pollo.

Resulta interesante apreciar, comparando las dos especies de aves, como en carne de pavo se detectó de forma general una mayor actividad GSHPx y una menor actividad CAT que en la carne de pollo.

Comparando los tres tejidos, y siguiendo la misma tendencia que en la carne de pollo, la actividad en pechuga de pavo fue significativamente inferior a la de muslo e hígado. Únicamente en el tratamiento P5 (200 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada) no hubo diferencias entre los dos tejidos musculares, pero fue

precisamente en este tratamiento donde se observó una mayor dispersión de resultados. Los valores superiores de actividad se obtuvieron en muslo (P1 y P6) e hígado (P2 y P5) en función del tratamiento y, en algunos casos, no fueron significativamente diferentes entre estos dos tejidos (P3, P4 y P7).

En concordancia con los trabajos de Renerre *et al.* (1999) y Lee *et al.* (1996a), la actividad en muslo llegó a ser hasta cuatro veces superior a la detectada en pechuga. Según sugirieron Renerre *et al.* (1996), un incremento en determinadas actividades enzimáticas antioxidantes podría ser un mecanismo de protección frente al estrés oxidativo para aquellos músculos más inestables en cuanto a oxidación se refiere.

Pechuga de pavo

En la pechuga, el tratamiento con 50ppm de **vitamina E** (P6) no modificó la actividad CAT con respecto al control (P1). Según Lauridsen *et al.* (1999) la suplementación de vitamina E (100 y 200 ppm) en la dieta de cerdos no afectaba la actividad CAT. Tampoco Renerre *et al.* (1999) observaron ningún efecto de la suplementación de vitamina E (30 y 200 ppm) en la dieta de pavos sobre la actividad de este enzima en pechuga.

Cuando la vitamina E se suplementó junto al **β -caroteno** (P7) sí se produjo un incremento significativo de actividad, comparando de nuevo con el grupo control.

La administración de **enrofloxacina** incrementó la actividad del enzima aunque, solamente el tratamiento P3 (50ppm enrofloxacina con retirada) resultó significativamente distinto al control.

Se observó que cuando el antibiótico se retiraba antes del sacrificio del animal, la actividad del enzima era superior a cuando no había tiempo de retirada, tanto si el antibiótico se administraba solo (P3 vs. P2) o si se administraba junto con la vitamina E (P5 vs. P4), a pesar de que en este último caso las diferencias no fuesen significativas.

En el tratamiento P7 (50 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno) la actividad CAT estuvo correlacionada positivamente con la actividad SOD ($r=0.66$). Este resultado podría indicar de nuevo la cooperación entre los dos enzimas.

Muslo de pavo

En el muslo, no se detectaron diferencias significativas en la actividad CAT entre los tratamientos en los que únicamente se suplementaron los antioxidantes (P6 y P7) y el control (P1) (Tabla 5.4). Tampoco las diferencias entre los tratamientos con antibiótico (P2, P3, P4 y P5) y el control fueron significativas. Aún así, en el muslo se observó el mismo efecto que en la pechuga en cuanto a la administración de enrofloxacin, con o sin tiempo de retirada, y junto o sin vitamina E en la dieta.

Hígado de pavo

En el hígado no pudo verse ningún efecto de los antioxidantes suplementados sobre la actividad CAT (Tabla 5.4). En cambio, el tratamiento P5 (200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin con retirada) mostró una actividad CAT significativamente superior al resto de tratamientos. En carne de pollo, este mismo efecto se observó en el tratamiento T3 (50ppm enrofloxacin con retirada). En los dos casos debe tenerse en cuenta la variabilidad en los resultados obtenidos.

5.1.3 ACTIVIDAD SUPERÓXIDO DISMUTASA (SOD)

La actividad superóxido dismutasa (SOD) se analizó también en muestras de los tres tejidos.

Los valores p de los factores incluidos en el modelo así como de su interacción aparecen en la Tabla 5.5.

Tabla 5.5 Significación de los factores incluidos en el modelo para la actividad SOD en pechuga, muslo e hígado de pavo

			FACTOR (valores p)		
			Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga	(n=67)	0.4660	<0.0001	0.7997
	Muslo	(n=67)	0.6254	<0.0001	0.0550
	Hígado	(n=67)	0.0903	<0.0001	no estimable

El factor tratamiento no fue significativo ($p>0.05$) en ninguno de los tres tejidos analizados mientras que el factor día de análisis fue claramente significativo. La interacción entre los dos factores fue no significativa en los dos tejidos dónde se pudo evaluar, por lo que en estos casos se eliminó del modelo.

Los valores de actividad SOD de los distintos tratamientos en cada uno de los tejidos se presentan en la Tabla 5.6.

Tabla 5.6 Valores de actividad SOD en pechuga, muslo e hígado de pavo¹.

		TEJIDO						
		Pechuga		Muslo		Hígado		RMSE
TRATAMIENTO	P1	3.58 ^B	(n=10)	4.01 ^B	(n=10)	4.78 ^A	(n=10)	0.58
	P2	3.51	(n=10)	3.93	(n=10)	3.38	(n=10)	0.66
	P3	3.58 ^B	(n=10)	4.18 ^A	(n=10)	3.42 ^B	(n=10)	0.48
	P4	3.33	(n=10)	3.66	(n=10)	3.27	(n=10)	1.01
	P5	3.48	(n=7)	4.00	(n=7)	4.26	(n=7)	1.08
	P6	3.44	(n=10)	4.09	(n=10)	3.40	(n=10)	0.99
	P7	3.42	(n=10)	4.11	(n=10)	3.57	(n=10)	0.71
	RMSE	0.29		0.62		1.24		

¹Resultados expresados en unidades SOD/mg proteína.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{AB}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p<0.05$).P1: control; P2: 50ppm enrofloxacin sin retirada; P3: 50ppm enrofloxacin con retirada; P4: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin sin retirada; P5: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin con retirada; P6: 50ppm vitamina E; P7: 50ppm vitamina + 15 β -caroteno.

La actividad de las muestras analizadas estuvo comprendida entre 3.27 y 4.78 unidades de SOD/mg proteína siendo bastante similares los valores de actividad entre los tres tejidos. De hecho, solamente se observaron diferencias significativas entre tejidos en el tratamiento control (P1) en el cual la actividad SOD fue superior en hígado en comparación con la pechuga y el muslo y en el tratamiento con enrofloxacin y tiempo de retirada (P3) donde el muslo presentó una actividad significativamente superior a los otros dos tejidos. Renerre *et al.* (1999) habían descrito actividades 1.5 veces superiores en muslo que en pechuga de pavo.

Los valores obtenidos fueron superiores a los encontrados en pechuga, muslo e hígado de pollo (ver Tabla 4.6).

En ninguno de los tres tejidos se encontraron diferencias significativas entre tratamientos experimentales. Renerre *et al.* (1999) mostraron que la suplementación de 30 y 200ppm de vitamina E en la dieta de pavos no afectaba la actividad SOD ni en muslo ni pechuga de estos animales.

En el estudio de correlaciones entre variables químicas, se encontró en pechuga una correlación negativa entre la SOD y los valores de TBARS, pero únicamente para el tratamiento control ($r=-0.80$).

En muslo y para el tratamiento P6 (50 ppm vitamina E), la correlación entre la SOD y la vitamina E presentó un coeficiente de $r=0.69$.

En hígado y para el tratamiento P3 (50 ppm enrofloxacin con retirada) y el tratamiento P5 (200 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada), la actividad SOD estuvo correlacionada positivamente con la GSHPx ($r=0.66$ y $r=0.99$, respectivamente).

Por lo tanto, en los tejidos de pavo, del mismo modo que en los de pollo, no se observó una relación clara entre los antioxidantes adicionados en la dieta animal y la actividad de los enzimas antioxidantes endógenos. Tampoco la administración de enrofloxacin afectó significativamente la actividad de estos enzimas y únicamente se observaron algunos efectos sobre la actividad catalasa en las muestras de pechuga.

5.2 NIVELES DE VITAMINA E EN MÚSCULO

Del mismo modo que con las muestras de pollo, se determinaron los niveles de vitamina E acumulados en músculo para todos los tratamientos experimentales. Como ya se ha mencionado, en el experimento con pavos no se llevó a cabo el tratamiento con licopeno y los niveles de β -caroteno en el tejido muscular no pudieron ser determinados debido a que el carotenoide se encontraba a concentraciones por debajo del límite de detección de los métodos disponibles.

En cuanto a la determinación de la vitamina E, la significación de los distintos factores incluidos en el modelo para cada uno de los tejidos analizados se muestra en la Tabla 5.7.

Tabla 5.7 Significación de los factores incluidos en el modelo para la vitamina E en pechuga y muslo de pavo

			FACTOR (valores p)		
			Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga	(n=67)	<0.0001	0.1691	0.9082
	Muslo	(n=67)	<0.0001	0.0073	0.4588

Como se aprecia en la tabla anterior, el factor tratamiento fue significativo ($p < 0.0001$) tanto en pechuga como en muslo de pavo. El factor tejido también resultó significativo para todos los tratamientos (valores p no mostrados). Por otro lado, el factor día de análisis fue significativo únicamente en muslo, debido probablemente a las propiedades de las muestras.

La Tabla 5.8 muestra los niveles de vitamina E, expresados en μ gramos de vitamina por gramo de tejido, detectados en las muestras de pechuga y muslo de cada uno de los tratamientos experimentales.

Tabla 5.8 Niveles de vitamina E en pechuga y muslo de pavo¹

		TEJIDO				
		Pechuga		Muslo		RMSE
TRATAMIENTO	P1	0.66 ^{bcB}	(n=10)	1.61 ^{cdA}	(n=10)	0.14
	P2	0.49 ^{cB}	(n=10)	1.17 ^{eA}	(n=10)	0.26
	P3	0.50 ^{cB}	(n=10)	1.31 ^{deA}	(n=10)	0.15
	P4	1.56 ^{aB}	(n=10)	3.90 ^{aA}	(n=10)	0.50
	P5	0.79 ^{bB}	(n=7)	1.96 ^{bA}	(n=7)	0.32
	P6	0.80 ^{bB}	(n=10)	2.06 ^{bA}	(n=10)	0.27
	P7	0.70 ^{bB}	(n=10)	1.74 ^{bcA}	(n=10)	0.14
	RMSE	0.20		0.34		

¹Resultados expresados en µg de vitamina E/g tejido.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{abcde}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes (p<0.05).

^{AB}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes (p<0.05).

P1: control; P2: 50ppm enrofloxacina sin retirada; P3: 50ppm enrofloxacina con retirada; P4: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacina sin retirada; P5: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacina con retirada; P6: 50ppm vitamina E; P7: 50ppm vitamina + 15 β-caroteno.

Los niveles de vitamina E observados en músculo de pavo fueron inferiores a los obtenidos en músculo de pollo a pesar de que las dosis de vitamina E suplementadas en la dieta de los pavos fueron superiores a las de los pollos (50 y 200ppm en pavo vs. 30 y 100ppm en pollo). Marusich *et al.* (1975) detectaron que las concentraciones de vitamina E en hígado y pechuga de pavo eran solamente 1/5 y 1/3 respectivamente de las encontradas en broilers alimentados con niveles similares del antioxidante. Diversos autores apuntan que esto es debido a que, en comparación con otras especies como el pollo, los tejidos de pavo acumulan α-tocoferol mucho más lentamente, por lo tanto es necesario un período de suplementación más largo o una dosis mayor para alcanzar niveles similares (Bartov *et al.*, 1983; Sklan *et al.*, 1983; Morrissey *et al.*, 1998). Además, Sklan *et al.* (1983) sugieren que los niveles inferiores de vitamina E en pavo podrían ser debidos, en parte, a la mayor producción y excreción de tocoferil gluconorónidos.

En este caso la dosis de antioxidante suplementada en la dieta fue superior, pero debe tenerse en cuenta que los tratamientos dietéticos se aplicaron a los pollos durante todo el período de engorde (6 semanas) mientras que a los pavos solamente durante las cuatro últimas semanas.

Se pudieron observar diferencias significativas entre los dos **tejidos** para todos los tratamientos experimentales. Los niveles de vitamina E encontrados en muslo fueron alrededor de dos veces superiores a los de pechuga. Otros trabajos en los que se investigaron los niveles de vitamina E en músculo de pavo tras la suplementación del antioxidante en la dieta de los animales, mostraron que el muslo contenía el doble de vitamina E que la pechuga, independientemente de la dosis de vitamina E en la dieta (Mercier *et al.*, 1998; Renerre *et al.*, 1999; Gatellier *et al.*, 2000).

Pechuga de pavo

En este tejido se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0.0001$) (Tabla 5.8).

La suplementación de 50 ppm de **vitamina E** en la dieta de los pavos (P6) no aumentó suficientemente el nivel de vitamina E en pechuga como para que se detectaran diferencias respecto al grupo control (P1). Contrariamente a estos resultados, Renerre *et al.* (1999) y Nam *et al.* (2003) observaron que el contenido de vitamina E en las pechugas de pavos alimentados con 200ppm de la vitamina resultaba ser cinco y cuatro veces superior, respectivamente, al del control. Batifoulier *et al.* (2002) apuntaron un incremento de hasta 14 veces respecto al control en membranas microsomales de pechuga de pavos a los que se adicionaron 400 ppm de vitamina E y, con esta misma dosis, Mercier *et al.* (1998) obtuvieron concentraciones de vitamina E seis veces superiores al control. En todos estos casos la dosis suplementada fue muy superior a la utilizada en este estudio.

Por otro lado, se administraron dosis de 200 ppm de vitamina E junto con la enrofloxacina, dando lugar a niveles de vitamina superiores a los estimados en el grupo control sólo cuando el antibiótico no se retiró con anterioridad al sacrificio de los animales (P4).

La suplementación conjunta de 15 ppm de β -caroteno y 50 ppm de vitamina E (P7) dio niveles semejantes al control aunque parecía que el β -caroteno tendía a disminuir la concentración de vitamina E en el músculo si se comparaba con la administración única de 50ppm de la vitamina (P6). Igual que en la pechuga de pollo, el efecto del β -caroteno sobre los niveles de vitamina E del tejido no era significativo.

La administración de **enrofloxacina** a los animales ya fuese con o sin período de retirada (P2 y P3) no modificaba la concentración de vitamina E, proporcionada por la dieta basal, respecto al control. Como se ha comentado, se apreciaron diferencias significativas en los niveles de vitamina E, entre el tratamiento con (P5) y sin (P4) periodo de retirada, en administrarse el fármaco junto con 200ppm de vitamina.

Además, en el tratamiento P2 (50 ppm enrofloxacina sin retirada), se observó una correlación positiva significativa ($r=0.62$) entre la vitamina E y los niveles de ciprofloxacina.

Muslo de pavo

También se apreciaron diferencias significativas entre tratamientos en el muslo (Tabla 5.8).

En este tejido, a diferencia de la pechuga, una dosis de 50 ppm de **vitamina E** en la dieta (P6), incrementó significativamente la concentración del antioxidante en el tejido respecto al grupo control (P1). Lo mismo se observó en el muslo de pollo con una dosis de 30ppm (Tabla 4.8).

Como era de esperar, la adición de 200 ppm de antioxidante produjo un incremento de los niveles de vitamina detectados en el tejido. Gatellier *et al.* (2000) obtuvieron niveles en muslo de pavos cinco veces superiores al control cuando la dosis

suplementada fue de 200 ppm, mientras que Mercier *et al.* (2001), con la misma suplementación, apreciaron un incremento entre cinco y seis veces el nivel del control en la fracción microsomal de muslo de pavo.

En el presente estudio, y como ocurriera en pollo, se observó un efecto del tiempo de administración del antibiótico sobre la acumulación de vitamina E. Así, cuando no se retiró la enrofloxacin antes del sacrificio (P4) se obtuvieron los niveles más elevados de vitamina E, mientras que en el tratamiento en que se dejaron 12 días de tiempo de retirada (P5), la concentración de vitamina E no fue significativamente distinta a la obtenida con una suplementación de 50 ppm (P6).

Al comparar los resultados de los tratamientos en los que las dietas no fueron enriquecidas con vitamina E (P1 a P3), se puede apreciar un efecto, aunque no estadísticamente significativo, de la administración del antibiótico sobre los niveles de tocoferol proporcionados por la dieta basal, los cuales son inferiores en el tratamiento sin retirada de enrofloxacin (P2).

La única correlación significativa que se observó en este tejido fue en el tratamiento P3 (50 ppm enrofloxacin con retirada) entre los niveles de vitamina E y los valores de TBARS ($r=-0.64$).

El β -caroteno a 15ppm junto con la vitamina E a 50ppm (P7) tendió a disminuir la concentración de vitamina E en el muslo en comparación con el tratamiento P6 que contenía únicamente 50ppm de vitamina E.

En resumen, en la carne de pavo, la dosis de 200 ppm de vitamina E incrementó claramente los niveles del antioxidante en el tejido muscular, mientras que 50 ppm produjeron un incremento significativo únicamente en muslo, del mismo modo que 30 ppm en el caso de los pollos.

También igual que en los pollos, se manifestaba un efecto del β -caroteno sobre la vitamina E adicionada, de modo que tendían a disminuir los niveles de α -tocoferol detectados tanto en pechuga como en muslo, en presencia del carotenoide. Finalmente, también la administración de enrofloxacin influyó sobre los niveles de vitamina E y lo hacía de forma distinta según si se aplicaba el período de retirada del antibiótico o no, en concordancia con los resultados obtenidos en pollo.

5.3 GRADO DE OXIDACIÓN LIPÍDICA

Igual que en las muestras de pollo, los valores de TBARS fueron determinados a cuatro tiempos de incubación en las muestras de pechuga y muslo de todos los tratamientos experimentales.

La significación (valores p) de los distintos factores incluidos en el modelo, así como de su interacción se muestra en las Tablas 5.9-5.12.

Tabla 5.9 Significación de los factores incluidos en el modelo para los TBARS en pechuga y muslo de pavo a 0 min. de incubación.

			FACTOR (valores p)		
			Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga	(n=67)	<0.0001	<0.0001	0.0564
	Muslo	(n=67)	0.3930	0.0735	0.1580

Tabla 5.10 Significación de los factores incluidos en el modelo para los TBARS en pechuga y muslo de pavo a 50 min. de incubación.

			FACTOR (valores p)		
			Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga	(n=67)	<0.0001	<0.0001	0.2053
	Muslo	(n=67)	<0.0001	0.0007	0.1013

Tabla 5.11 Significación de los factores incluidos en el modelo para los TBARS en pechuga y muslo de pavo a 100 min. de incubación.

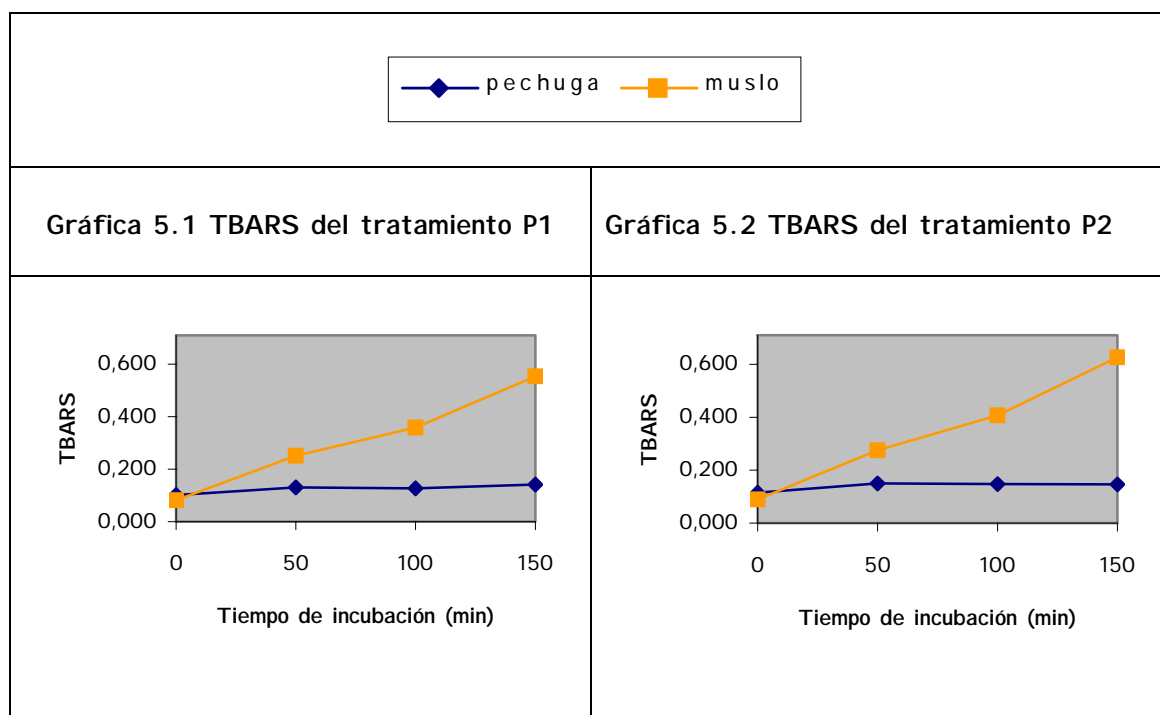
			FACTOR (valores p)		
			Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga	(n=67)	<0.0001	<0.0001	0.1490
	Muslo	(n=67)	<0.0001	0.0001	0.2015

Tabla 5.12 Significación de los factores incluidos en el modelo para los TBARS en pechuga y muslo de pavo a 150 min. de incubación.

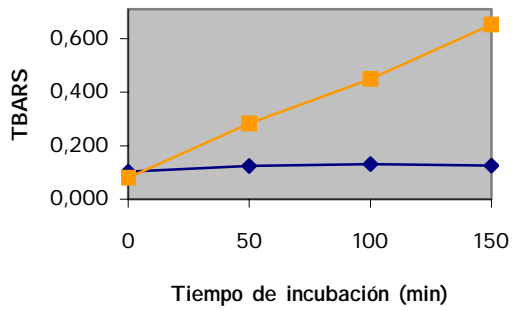
		FACTOR (valores p)			
		Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis	
TEJIDO	Pechuga (n=67)	<0.0001	0.0005	0.3174	
	Muslo (n=67)	<0.0001	0.0005	0.073	

Como puede observarse, exceptuando en el muslo a 0 minutos de incubación, el factor tratamiento fue significativo ($p < 0.0001$) en todos los casos. También lo fue el efecto del día pero, al analizar un mínimo de una muestra por tratamiento, pudo corregirse este efecto.

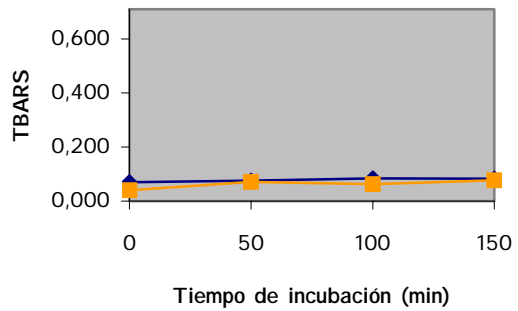
En las gráficas 5.1-5.7 puede observarse la evolución de los valores de TBARS durante el tiempo de incubación en los dos tejidos analizados y para cada uno de los tratamientos experimentales.



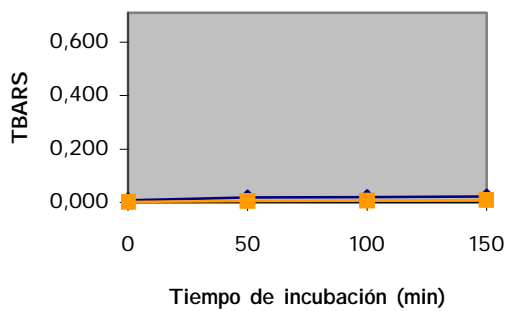
Gráfica 5.3 TBARS del tratamiento P3



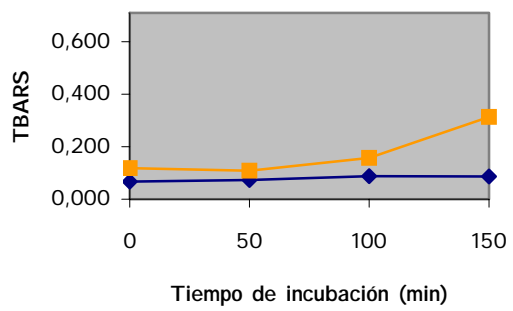
Gráfica 5.4 TBARS del tratamiento P4



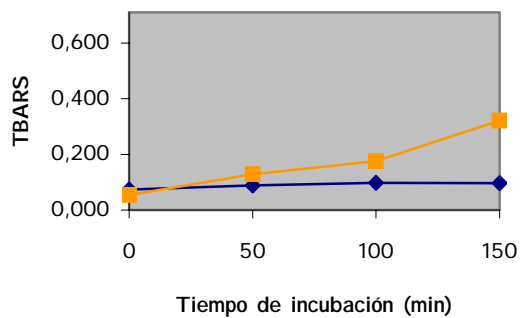
Gráfica 5.5 TBARS del tratamiento P5



Gráfica 5.6 TBARS del tratamiento P6



Gráfica 5.7 TBARS del tratamiento P7



¹Valores de TBARS representados en nmoles de equivalentes de MDA/mg tejido.

P1: control; P2: 50ppm enrofloxacin sin retirada; P3: 50ppm enrofloxacin con retirada; P4: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin sin retirada; P5: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin con retirada; P6: 50ppm vitamina E; P7: 50ppm vitamina + 15 β -caroteno.

En todos los tratamientos experimentales se observó un incremento de los valores de TBARS con el tiempo de incubación. En los tratamientos P4 y P5 donde se suplementaron 200 ppm de vitamina E en la dieta, los valores de TBARS estuvieron por debajo de los obtenidos en los demás tratamientos, pero aún así estos incrementaron al aumentar el tiempo de incubación. Debemos tener en cuenta que observamos una escala de valores de TBARS mucho más amplia que en el caso de las muestras de pollo.

Las Tablas 5.13 - 5.16 muestran los valores de TBARS para cada tratamiento y tejido en cada uno de los tiempos de incubación.

Tabla 5.13 Valores de TBARS¹ en pechuga y muslo de pavo a 0 minutos de incubación.

		TEJIDO				
Tiempo 0		Pechuga		Muslo		RMSE
TRATAMIENTO	P1	0.093 ^{ab}	(n=10)	0.073	(n=10)	0.033
	P2	0.107 ^a	(n=10)	0.081	(n=10)	0.045
	P3	0.094 ^{ab}	(n=10)	0.073	(n=10)	0.033
	P4	0.062 ^c	(n=10)	0.032	(n=10)	0.040
	P5	0.080 ^{bcA}	(n=7)	0.069 ^B	(n=7)	0.008
	P6	0.059 ^c	(n=10)	0.111	(n=10)	0.125
	P7	0.065 ^c	(n=10)	0.046	(n=10)	0.024
	RMSE	0.025		0.077		

¹Valores de TBARS expresados en nmoles de equivalentes de MDA/mg tejido.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{abc}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

^{AB}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

P1: control; P2: 50ppm enrofloxacin sin retirada; P3: 50ppm enrofloxacin con retirada; P4: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin sin retirada; P5: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin con retirada; P6: 50ppm vitamina E; P7: 50ppm vitamina + 15 β -caroteno.

Inicialmente, a 0 minutos de incubación, (Tabla 5.13) los valores de TBARS en las muestras de pechuga no difirieron significativamente de los de muslo salvo en el tratamiento P5 (200 ppm de vitamina E y enrofloxacin con retirada), donde los TBARS en pechuga fueron ligeramente superiores.

Prácticamente no se observaron diferencias entre tratamientos experimentales. Solamente en pechuga, los tratamientos con vitamina E (P4, P5, P6 y P7) presentaron valores inferiores al tratamiento control (P1), aunque el tratamiento P5 (200ppm vitamina E y 50ppm enrofloxacin con retirada) no fue significativamente distinto. En el muslo, en cambio, no se apreciaron diferencias significativas.

Tabla 5.14 Valores de TBARS¹ en pechuga y muslo de pavo a 50 minutos de incubación.

		TEJIDO				
Tiempo 50		Pechuga		Muslo		RMSE
TRATAMIENTO	P1	0.121 ^{abB}	(n=10)	0.233 ^{abA}	(n=10)	0.069
	P2	0.140 ^{aB}	(n=10)	0.257 ^{aA}	(n=10)	0.071
	P3	0.115 ^{abB}	(n=10)	0.264 ^{aA}	(n=10)	0.065
	P4	0.067 ^d	(n=10)	0.052 ^d	(n=10)	0.050
	P5	0.098 ^{bcB}	(n=7)	0.167 ^{bcA}	(n=7)	0.017
	P6	0.064 ^d	(n=10)	0.090 ^d	(n=10)	0.045
	P7	0.079 ^{cd}	(n=10)	0.109 ^{cd}	(n=10)	0.055
	RMSE	0.029		0.075		

¹Valores de TBARS expresados en nmoles de equivalentes de MDA/mg tejido.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{abcd}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

^{AB}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

P1: control; P2: 50ppm enrofloxacin sin retirada; P3: 50ppm enrofloxacin con retirada; P4: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin sin retirada; P5: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin con retirada; P6: 50ppm vitamina E; P7: 50ppm vitamina + 15 β -caroteno.

A partir de los 50 minutos de incubación (Tabla 5.14) empezaron a observarse diferencias entre tratamientos dentro de cada tejido y en la mayor parte de tratamientos los TBARS en muslo fueron significativamente superiores a los obtenidos en pechuga.

Tabla 5.15 Valores de TBARS¹ en pechuga y muslo de pavo a 100 minutos de incubación.

TEJIDO						
Tiempo 100	Pechuga		Muslo		RMSE	
TRATAMIENTO	P1	0.117 ^{abcB} (n=10)	0.331 ^{abA} (n=10)		0.077	
	P2	0.138 ^{aB} (n=10)	0.379 ^{aA} (n=10)		0.076	
	P3	0.122 ^{abB} (n=10)	0.422 ^{aA} (n=10)		0.097	
	P4	0.074 ^d (n=10)	0.036 ^d (n=10)		0.071	
	P5	0.103 ^{bcdB} (n=7)	0.241 ^{bA} (n=7)		0.016	
	P6	0.078 ^d (n=10)	0.130 ^c (n=10)		0.056	
	P7	0.088 ^{cd} (n=10)	0.148 ^c (n=10)		0.082	
RMSE	0.031		0.099			

¹Valores de TBARS expresados en nmoles de equivalentes de MDA/mg tejido.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{abcd}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

^{AB}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

P1: control; P2: 50ppm enrofloxacin sin retirada; P3: 50ppm enrofloxacin con retirada; P4: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin sin retirada; P5: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin con retirada; P6: 50ppm vitamina E; P7: 50ppm vitamina + 15 β -caroteno.

Tabla 5.16 Valores de TBARS¹ en pechuga y muslo de pavo a 150 minutos de incubación.

TEJIDO						
Tiempo 150	Pechuga		Muslo		RMSE	
TRATAMIENTO	P1	0.132 ^{abB} (n=10)	0.511 ^{aA} (n=10)		0.080	
	P2	0.137 ^{aB} (n=10)	0.583 ^{aA} (n=10)		0.069	
	P3	0.117 ^{abB} (n=10)	0.610 ^{aA} (n=10)		0.099	
	P4	0.074 ^c (n=10)	0.034 ^c (n=10)		0.080	
	P5	0.104 ^{bcB} (n=7)	0.381 ^{bA} (n=7)		0.020	
	P6	0.077 ^{cB} (n=10)	0.270 ^{bA} (n=10)		0.099	
	P7	0.087 ^{cB} (n=10)	0.278 ^{bA} (n=10)		0.140	
RMSE	0.031		0.127			

¹Valores de TBARS expresados en nmoles de equivalentes de MDA/mg tejido.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{abc}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

^{AB}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

P1: control; P2: 50ppm enrofloxacin sin retirada; P3: 50ppm enrofloxacin con retirada; P4: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin sin retirada; P5: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin con retirada; P6: 50ppm vitamina E; P7: 50ppm vitamina + 15 β -caroteno.

A 150 minutos de incubación (Tabla 5.16) se observaron de forma más clara las diferencias entre tejidos y entre tratamientos.

Comparando los dos **tejidos** analizados, los valores de TBARS en muslo fueron significativamente superiores a los de pechuga, en todos los tratamientos exceptuando el P4 (200ppm de vitamina E y enrofloxacin sin retirada).

A pesar de que el muslo de pavo contenía más vitamina E que la pechuga (ver Tabla 5.8), los valores de TBARS mostraron que tendía a oxidarse más que la pechuga. Esto demuestra que, a pesar de que el α -tocoferol muscular es un factor importante, la influencia de los AGPI y el contenido en prooxidantes, deben de ser considerados. La mayor susceptibilidad del muslo a la oxidación se explicaría por su mayor contenido absoluto en AGPI y a un mayor nivel de especies prooxidantes originadas a partir de la mioglobina y otras hemoproteínas (Jensen *et al.*, 1998).

Gatellier *et al.* (2000), incubaron extractos de muslo y pechuga de pavos alimentados con dietas suplementadas con 200ppm de vitamina E en un sistema oxidante y observaron que, a pesar de que la vitamina E inhibía fuertemente la oxidación, en general se observaba una mayor producción de radicales en muslo. También Higgins *et al.* (1999) obtuvieron valores superiores de oxidación lipídica en las muestras de muslo en comparación con las de pechuga de pavos tratados con 600ppm de vitamina E, a pesar de que en este caso la oxidación se estudió en las muestras cocidas. Mercier *et al.* (2001) en cambio, no observaron diferencias en el grado de oxidación lipídica de la fracción microsomal de muslo y pechuga de pavos cuando el tratamiento dietético contenía 200ppm de vitamina E.

Pechuga de pavo

La suplementación de 200 ppm de **vitamina E** (P4 y P5) en la dieta de los pavos, provocó la disminución de los valores de TBARS en las muestras de pechuga en comparación con el grupo control (P1) (Tabla 5.16), aunque de forma significativa únicamente en el tratamiento P4 (200ppm vitamina E y 50ppm enrofloxacin sin retirada). Mercier *et al.* (1998) y Batifoulier *et al.* (2002) observaron también la

reducción de los valores de TBARS en músculo y microsomas obtenidos de pechuga de pavos a los que se había proporcionado 400ppm de vitamina E, independientemente del tipo de grasa de la dieta de los animales. Higgins *et al.* (1998) observaron una reducción en la producción de TBARS en muestras de pechuga de pavos a los que se suplementaron 600ppm de vitamina E en la dieta.

En este caso, incluso una dosis de 50ppm de vitamina E (P6) disminuyó también los valores de TBARS respecto al control (P1).

Cuando esta misma dosis de vitamina E se administró junto a 15ppm de β -caroteno (P7), siguió habiendo diferencias con el control pero los valores de TBARS incrementaron ligeramente respecto a la adición única de vitamina E en las mismas concentraciones (P6).

La **enrofloxacin**a administrada sola, ya fuese con (P3) o sin (P2) periodo de retirada no modificó significativamente los valores de TBARS respecto al control.

Sí se observó efecto de la administración del fármaco sobre el grado de oxidación lipídica de las muestras cuando se administró conjuntamente con vitamina E (P4 y P5). Como se ha mencionado, el grupo con 200ppm de vitamina E y enrofloxacin sin retirada (P4) presentó niveles de TBARS significativamente inferiores al control, mientras que este efecto no se observó con la suplementación de la misma dosis de vitamina E pero con la retirada del fármaco (P5).

Muslo de pavo

En el muslo, las diferencias entre tratamientos fueron más evidentes que en el caso de la pechuga.

La suplementación de 200ppm de **vitamina E** disminuyó significativamente los valores de TBARS en comparación con el control, tanto cuando la enrofloxacin administrada conjuntamente se retiró (P5) como cuando no (P4), a pesar de que la reducción fue mayor cuando no hubo período de retirada (P4). La reducción de los valores de TBARS respecto al control por parte de la vitamina E fue mayor en muslo

que en pechuga. Mercier *et al.* (1998) también con carne de pavo observaron que las mayores diferencias en los valores de TBARS entre el control y las muestras de animales suplementados con 400ppm de vitamina E se dieron en el muslo, debido a su mayor contenido en vitamina E en comparación con la pechuga. El mismo resultado fue obtenido por Renerre *et al.* (1999) pero con una dosis de 200ppm en la dieta de pavos.

50ppm de vitamina E resultaron igualmente efectivos en disminuir los TBARS al adicionarse solos (P6) o junto a 15ppm de β -caroteno (P7).

La administración de **enrofloxacina** sola, con o sin período de retirada (P3 y P2), no afectó de forma significativa los valores de TBARS. Se observó un efecto de la enrofloxacina cuando junto a ella se suplementó la vitamina E; se detectó una caída de los TBARS en el tratamiento con enrofloxacina sin retirada y vitamina E (P4), pero debe tenerse en cuenta que la mayoría de muestras de este tratamiento se analizaron juntas.

A la vista de los resultados obtenidos, se observó que la suplementación de la dieta de los pavos con 200 ppm de vitamina E provocaba la reducción de los valores de TBARS, aunque no en todos los casos de forma significativa. También la dosis de 50 ppm resultó eficaz desde un punto de vista químico, aunque como se verá posteriormente, a nivel sensorial no se detectó una disminución de la rancidez en estas muestras. El efecto del β -caroteno en los tejidos de pavo no fue tan evidente como en el caso del pollo; quizá la dosis suplementada, que fue equivalente a la utilizada en pollo, no fue suficiente en esta especie para provocar algún efecto sobre la capacidad antioxidante de la vitamina E. Finalmente, la enrofloxacina por sí sola no afectó a los valores de TBARS pero sí se observaron diferencias cuando se administró junto a la vitamina E.

5.4 ANÁLISIS SENSORIAL

El análisis sensorial de la carne de pavo se realizó únicamente sobre las muestras pertenecientes a los tratamientos sin administración de antibiótico, es decir el tratamiento control (P1), el tratamiento con 50ppm de vitamina E (P6) y la combinación de 50ppm de vitamina E con 15ppm de β -caroteno (P7).

5.4.1 PECHUGA DE PAVO CRUDA

Los resultados del análisis de las muestras de pechuga cruda se muestran en la Tabla 5.17.

Tabla 5.17 Atributos visuales y atributos de olor sobre muestras de pechuga de pavo crudas¹.

	ATRIBUTOS VISUALES		ATRIBUTOS DE OLOR	
	Color claro/oscurο	Hematomas	Intensidad olor	Olor hígado
P1 (n=12)	5.3	0.9	3.0 ^b	1.5 ^b
P6 (n=12)	5.3	0.9	3.6 ^a	2.2 ^a
P7 (n=12)	5.1	0.9	3.2 ^{ab}	1.7 ^{ab}
RMSE	0.8	1.1	0.6	0.7

¹Valores que hacen referencia a las puntuaciones de los catadores en una escala de 1 a 10.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{ab}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

P1: control; P6: 50ppm vitamina E; P7: 50ppm vitamina + 15 β -caroteno.

Atributos visuales

No se observaron diferencias significativas entre tratamientos en el color claro u oscuro de las pechugas ni tampoco en la presencia de hematomas (Tabla 5.17). Los antioxidantes suplementados en la dieta no afectaron aparentemente al color de la carne de pechuga.

En comparación con las carnes rojas, se han llevado a cabo pocos estudios sobre la decoloración de carnes blancas, como la de pavo, donde esta se caracteriza

por cambios de rosa/amarillo a amarillo/marrón. Mercier *et al.* (1998) estudiaron durante nueve días la evolución del color de pechugas de pavos, la dieta de los cuáles se había suplementado con 400ppm de vitamina E. No observaron ningún efecto de la vitamina E sobre los valores de L*, a* o b*. Sí apreciaron cambios en estos parámetros debidos al almacenamiento de la carne, como un incremento en los valores b* y en el Hue, sugiriendo cierto cambio de color de rojo a amarillo, pero sin verse este afectado por la vitamina E suplementada en la dieta. Higgins *et al.* (1998) en cambio, con una suplementación de 600ppm de vitamina E en pavos, observaron una tendencia a que los valores de a* de la carne almacenada durante 9 días a 4°C incrementasen, aunque las diferencias no fueron significativas respecto al control. También la suplementación de dosis crecientes de vitamina E en la dieta de pavos causó, según Nam *et al.* (2003), un incremento de la tendencia al rojo en la pechuga de pavo. Parecía que la vitamina E era efectiva estabilizando el color de la pechuga durante el almacenaje, pero sus efectos eran altamente dependientes de los niveles de antioxidante en el tejido. Probablemente la dosis utilizada en este trabajo no fue lo suficientemente elevada como para afectar al color de la carne de pechuga.

Atributos de olor

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos en la intensidad de olor de las muestras (Tabla 5.17). Las muestras de los tratamientos con **vitamina E** (P6) y con vitamina E más β -caroteno (P7) presentaron una mayor intensidad de olor que el control (P1), aunque únicamente el tratamiento P6 fue significativamente distinto a este.

Los valores de olor a hígado siguieron la misma tendencia que la intensidad de olor general, siendo el tratamiento con vitamina E sola (P6) el que presentó una puntuación superior mientras que el grupo con vitamina E y β -caroteno (P7) no fue significativamente distinto al control.

En los tres tratamientos experimentales (P1, P6 y P7), la intensidad de olor general estuvo correlacionada positivamente y de forma significativa con el olor a hígado ($r=0.77$, $r=0.84$ y $r=0.64$, respectivamente). Además, en el tratamiento P7 (50 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno) el olor a hígado estuvo relacionado positivamente con la presencia de hematomas ($r=0.63$); este fenómeno, comentado anteriormente, también se observó en la carne de pollo.

5.4.2 PECHUGA DE PAVO COCIDA

La Tabla 5.18 muestra los resultados obtenidos en la evaluación sensorial de las muestras de pechuga de pavo una vez cocidas.

Tabla 5.18 Atributos de *flavor* y de *textura* sobre muestras de pechuga de pavo cocidas¹.

	FLAVOR		TEXTURA				
	WOF	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad	Adhesividad
P1 (n=12)	2.4	1.9	3.4	3.8	2.6	3.3	3.3
P6 (n=12)	2.2	1.4	3.2	4.2	2.4	3.6	3.0
P7 (n=12)	2.1	1.9	3.4	3.8	2.4	3.3	3.1
RMSE	0.6	0.7	0.6	0.9	0.8	0.8	0.5

¹Valores que hacen referencia a las puntuaciones de los catadores en una escala de 1 a 10.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

P1: control; P6: 50ppm vitamina E; P7: 50ppm vitamina + 15 β -caroteno.

Atributos de flavor

Como se describió en el apartado 3.5.5 del material y métodos, las muestras de pechuga de pavo una vez cocidas y enfriadas, se almacenaron durante un solo día a 4°C antes de la valoración sensorial, ya que con este período se observó que las muestras eran considerablemente rancias, a diferencia de las de pollo que se guardaron durante 6 días. Según Sheldon *et al.* (1997) los panelistas eran capaces de

detectar algunas notas aromáticas oxidadas en pechuga de pavo después de un día de refrigeración de la carne.

Además, las muestras una vez cocidas tampoco se reenvasaron al vacío, con el fin de potenciar más el desarrollo de la rancidez. Brunton *et al.* (2002) estudiaron el efecto de la exclusión de oxígeno durante el enfriamiento de la pechuga de pavo cocida. Observaron que evitando el contacto de las muestras con el aire después de su cocción retardaba el desarrollo de la oxidación. Por contra, las muestras enfriadas al aire inmediatamente después de la cocción presentaban el nivel inicial de oxidación más elevado así como el mayor incremento de oxidación durante cinco días.

No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos experimentales ni para el *WOF* ni para la rancidez (Tabla 5.18).

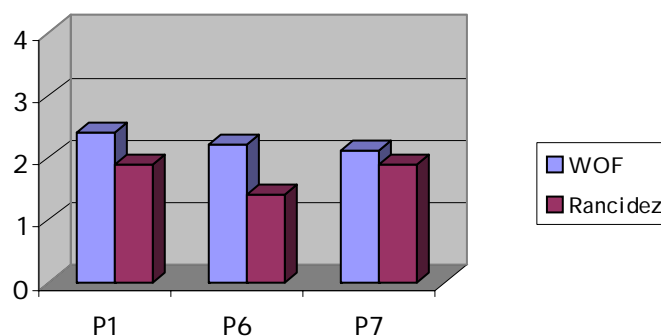
Las muestras de los tratamientos con vitamina E (P6 y P7) tendieron a tener valores inferiores de *WOF* que el control (P1) pero las diferencias no fueron significativas. En el trabajo de Higgins *et al.* (1999), los valores de *WOF* de las muestras de pechuga de pavos a los que se habían administrado 600ppm de vitamina E fueron significativamente inferiores a los de las muestras control. En este caso debe tenerse en cuenta que la dosis suplementada era muy inferior.

También la rancidez tendió a ser inferior en el grupo con 50ppm de vitamina E (P6) aunque con la misma dosis de vitamina E y β -caroteno (P7), los valores de rancidez fueron exactamente iguales a los del grupo control. Probablemente la dosis de vitamina E utilizada no fue suficiente para incrementar la estabilidad oxidativa de las muestras.

A diferencia de lo que se observó en la carne de pollo, en este caso, el enmascaramiento del *WOF* por la rancidez que presentaban las muestras no fue evidente (Gráfica 5.8), probablemente por ser los valores de rancidez más bajos que

en el caso de la pechuga de pollo, mientras que los del *WOF* se mantuvieron en un valor similar.

Gráfica 5.8 Valores de *WOF* y rancidez de las muestras de pechuga de pavo cocidas¹



¹Valores que hacen referencia a las puntuaciones de los catadores en una escala de 1 a 10.
 P1: control; P6: 50ppm vitamina E;
 P7: 50ppm vitamina + 15 β -caroteno

Atributos de textura

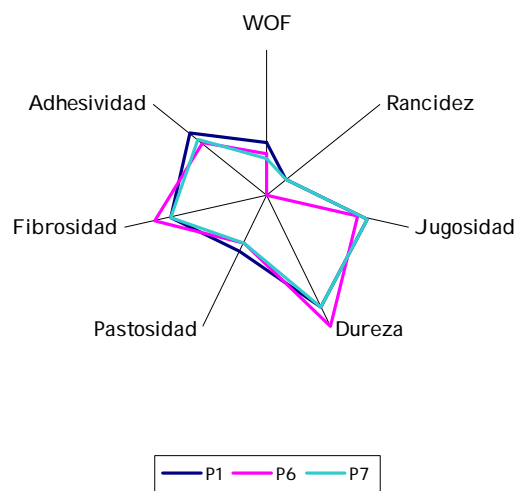
No se observaron tampoco diferencias entre tratamientos para los atributos de textura (Tabla 5.18). A pesar de esto, se observó una tendencia a que las muestras del tratamiento P6 (50 ppm vitamina E) fueran más duras y fibrosas y, en consecuencia, menos jugosas que las de los otros dos tratamientos.

En los tres tratamientos, la dureza de la carne estuvo correlacionada negativamente con la jugosidad y positivamente con la fibrosidad.

Fue también positiva en los tres casos, la relación entre la pastosidad y la adhesividad de las muestras y negativa la relación entre la pastosidad y la fibrosidad, así como también entre la fibrosidad y adhesividad.

A continuación se representan, de forma gráfica, los atributos de *flavor* y textura analizados (Gráfica 5.9).

Gráfica 5.9 Representación gráfica de los atributos de *flavor* y textura valorados en pechuga de pavo cocida.



P1: control; P6: 50ppm vitamina E; P7: 50ppm vitamina + 15 β-caroteno

5.4.3 MUSLO DE PAVO CRUDO

Las puntuaciones de los atributos visuales valorados en las muestras de muslo de pavo crudas se presentan en la Tabla 5.19.

Tabla 5.19 Atributos visuales y atributos de olor sobre muestras de muslo de pavo crudo¹.

	ATRIBUTOS VISUALES							ATRIBUTOS DE OLOR		
	Color piel blanco/amarillo	Color piel blanco/rosa	Color carne claro/oscura	Uniformidad color carne	Color grasa interna	Conformación	Cantidad plumas	Olor rancio	Olor carne cruda/pavo	Olor sangre/metálico /hígado
P1 (n=12)	2.8 ^{ab}	3.5	5.7	5.6	2.9	5.3	3.3	0.0	5.2	4.7
P6 (n=12)	3.4 ^a	3.0	5.8	5.6	2.6	5.3	3.1	0.3	6.1	5.0
P7 (n=12)	2.7 ^b	3.4	5.9	5.3	2.8	5.5	2.8	0.0	5.6	4.9
RMSE	0.7	0.9	1.1	1.1	0.6	1.4	0.8	0.4	1.0	1.2

¹Valores que hacen referencia a las puntuaciones de los catadores en una escala de 1 a 10.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{ab}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes (p<0.05).

P1: control; P6: 50ppm vitamina E; P7: 50ppm vitamina + 15 β-caroteno.

Atributos visuales

En el único atributo en el que se apreciaron diferencias significativas entre tratamientos fue en el color blanco o amarillo de la piel del muslo (Tabla 5.19). Los muslos del tratamiento P6 (50ppm de vitamina E) presentaron una piel más amarilla que los del tratamiento P7, que contenía la misma dosis de vitamina E más 15ppm de β -caroteno. A pesar de esto, ninguno de los dos tratamientos fue, de forma individual, distinto al control.

Atributos de olor

En cuanto a los atributos de olor, no se apreciaron diferencias entre tratamientos. El olor rancio de las muestras crudas fue prácticamente inapreciable, mientras que presentaron un fuerte olor a carne cruda o carne de pavo y más olor a hígado (sangre, metálico) que las muestras de pechuga de los mismos animales, probablemente debido a la mayor irrigación sanguínea de este músculo.

5.4.4 MUSLO DE PAVO COCIDO

En la Tabla 5.20 se observan los resultados de la valoración de las muestras de muslo de pavo cocidas.

Tabla 5.20 Atributos de *flavor* y *textura* sobre muestras de muslo de pavo cocidas¹.

	<i>FLAVOR</i>		<i>TEXTURA</i>				
	<i>WOF</i>	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad	Adhesividad
P1 (n=12)	3.5	1.6	3.2	4.5	1.6 ^b	4.6 ^a	3.4
P6 (n=12)	3.0	1.5	3.5	4.2	2.0 ^{ab}	3.6 ^b	2.4
P7 (n=12)	2.1	1.3	2.8	4.7	2.7 ^a	3.5 ^b	2.9
RMSE	1.5	1.2	1.1	1.3	0.9	1.0	1.0

¹Valores que hacen referencia a las puntuaciones de los catadores en una escala de 1 a 10.

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

^{ab}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

P1: control; P6: 50ppm vitamina E; P7: 50ppm vitamina + 15 β -caroteno.

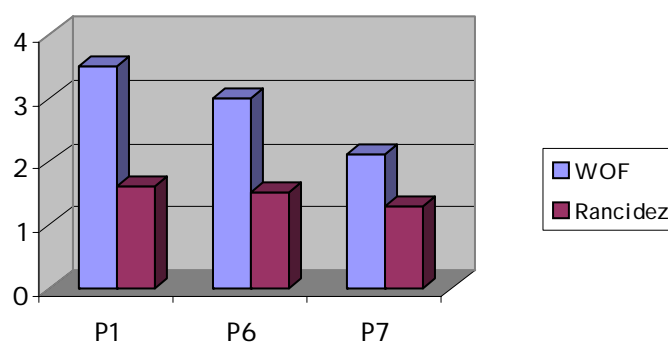
Atributos de flavor

No se apreciaron diferencias significativas entre tratamientos en los atributos de *flavor* (Tabla 5.20). Las muestras control (P1) fueron las que tendieron a un mayor nivel de *WOF* aunque no hubo diferencias significativas entre los tres tratamientos.

También las muestras control tendieron a ser las más rancias pero seguidas de inmediato por las tratadas con vitamina E. Los resultados reflejaban que la dosis de vitamina E utilizada no era suficiente para mantener la estabilidad oxidativa del muslo de pavo.

Igual que en la pechuga y de forma contraria a lo que ocurría con la carne de pollo, no hubo una relación inversa entre el *WOF* y la rancidez (Gráfica 5.10). Probablemente, la rancidez no fue lo suficientemente intensa como para enmascarar la detección del *WOF*.

Gráfica 5.10 Valores de *WOF* y rancidez de las muestras de muslo de pavo cocidas¹



¹Valores que hacen referencia a las puntuaciones de los catadores en una escala de 1 a 10.

P1: control; P6: 50ppm vitamina E;

P7: 50ppm vitamina + 15 β -caroteno.

De acuerdo con Higgins *et al.* (1999), los panelistas detectaron valores de *WOF* superiores en muslo que en pechuga durante el almacenamiento de las muestras cuatro días. En este estudio, los valores de *WOF* detectados en muslo fueron

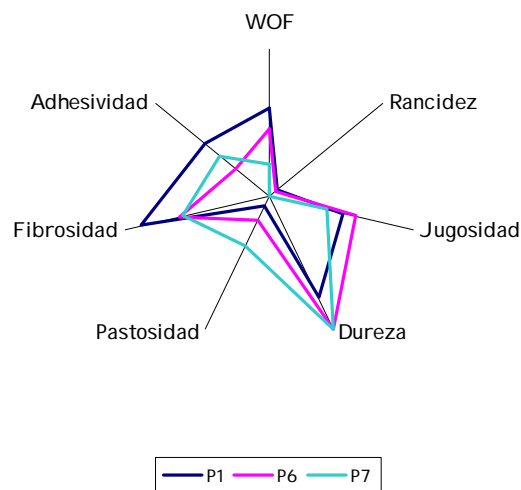
ligeramente superiores a los de pechuga, pero debe tenerse en cuenta que el almacenaje de las muestras fue de un solo día.

Atributos de textura

En los atributos de textura valorados (Tabla 5.20), se detectó una mayor pastosidad de las muestras del tratamiento con β -caroteno (P7) respecto al control y una menor fibrosidad de las muestras de los tratamientos con antioxidantes (P6 y P7) también en relación al grupo control (P1).

De nuevo, en la Gráfica 5.11 se representan los atributos de *flavor* y textura valorados en las muestras de pavo cocido.

Gráfica 5.11 Representación gráfica de los atributos de *flavor* y textura valorados en muslo de pavo cocido.



P1: control; P6: 50ppm vitamina E;
P7: 50ppm vitamina + 15 β -caroteno

En resumen, desde el punto de vista del análisis sensorial, la vitamina E adicionada en la dieta de los pavos a una dosis de 50 ppm no provocaba una disminución significativa de la rancidez de las muestras de pechuga ni de muslo sometidas a condiciones prooxidantes. Probablemente, esta dosis no era lo suficientemente elevada, teniendo en cuenta que se trata de una especie en la que la acumulación de la vitamina E se da de forma más lenta, por lo que harían falta cantidades más elevadas de antioxidante en comparación con el pollo para obtener un efecto similar.

5.5 NIVELES DE ANTIBIÓTICO EN MÚSCULO E HÍGADO

Los niveles del antibiótico y de su metabolito, se determinaron en pechuga, muslo e hígado de los pavos pertenecientes a los tratamientos a los que se administró la enrofloxacin (P2, P3, P4 y P5) así como al tratamiento control (P1).

La significación de los factores incluidos en el modelo para cada uno de los tejidos se muestra en las Tablas 5.21 para la enrofloxacin, y 5.22, para la ciprofloxacina.

Tabla 5.21 Significación de los factores incluidos en el modelo para la enrofloxacin en pechuga, muslo e hígado de pavo

			FACTOR (valores p)		
			Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga	(n=47)	<0.0001	0.1668	no estimable
	Muslo	(n=47)	<0.0001	0.5462	no estimable
	Hígado	(n=47)	0.0004	0.3289	no estimable

5.22 Significación de los factores incluidos en el modelo para la ciprofloxacina en pechuga, muslo e hígado de pavo

			FACTOR (valores p)		
			Tratamiento	Día análisis	Tratamiento * Día análisis
TEJIDO	Pechuga	(n=47)	0.0077	<0.0001	no estimable
	Muslo	(n=47)	-	-	-
	Hígado	(n=47)	0.0008	0.3947	no estimable

En este caso el factor tratamiento fue significativo, tanto para la enrofloxacin como para la ciprofloxacina, en los tres tejidos analizados. En muslo, no

se detectó ciprofloxacina en ninguno de los tratamientos experimentales, por este motivo no se presentan los valores p.

El factor día de análisis fue únicamente significativo en la pechuga de pavo para la ciprofloxacina. La interacción tratamiento * día de análisis no pudo estimarse en ninguno de los tejidos.

En las Tablas 5.23 y 5.24 se muestran los valores de concentración de enrofloxacin y ciprofloxacina, respectivamente, para cada uno de los tratamientos experimentales y cada uno de los tejidos analizados.

Tabla 5.23 Niveles de enrofloxacin en pechuga, muslo e hígado de pavo¹.

		TEJIDO							
		Pechuga		Muslo		Hígado		RMSE	
TRATAMIENTO	P1	N.D.	(n=10)	N.D.	(n=10)	N.D.	(n=10)	-	
	P2	0.49 ^b	(n=10)	0.42 ^b	(n=10)	0.62 ^b	(n=10)	0.23	
	P3	N.D.	(n=10)	N.D.	(n=10)	N.D.	(n=10)	-	
	P4	1.03 ^{aAB}	(n=10)	0.88 ^{aB}	(n=10)	1.18 ^{aA}	(n=10)	0.23	
	P5	N.D.	(n=7)	N.D.	(n=7)	N.D.	(n=7)	-	
	RMSE	0.25		0.16		0.26			

¹Resultados expresados en µg de enrofloxacin/g tejido (ppm).

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

N.D. <0.01 µg de enrofloxacin/g tejido.

^{ab}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes (p<0.05).

^{AB}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes (p<0.05).

P1: control; P2: 50ppm enrofloxacin sin retirada; P3: 50ppm enrofloxacin con retirada; P4: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin sin retirada; P5: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin con retirada.

Tabla 5.24 Niveles de ciprofloxacina en pechuga, muslo e hígado de pavo¹.

		TEJIDO						
		Pechuga		Muslo		Hígado		RMSE
TRATAMIENTO	P1	N.D.	(n=10)	N.D.	(n=10)	N.D.	(n=10)	-
	P2	0.04	^{bB} (n=10)	N.D.	(n=10)	0.14	^{bA} (n=10)	0.08
	P3	N.D.	(n=10)	N.D.	(n=10)	N.D.	(n=10)	-
	P4	0.06	^{aB} (n=10)	N.D.	(n=10)	0.35	^{aA} (n=10)	0.07
	P5	N.D.	(n=7)	N.D.	(n=7)	N.D.	(n=7)	-
	RMSE	0.01		-		0.11		

¹Resultados expresados en μg de ciprofloxacina/g tejido (ppm).

RMSE: raíz cuadrada del error estándar medio.

N.D. <0.01 μg de ciprofloxacina/g tejido.

^{ab}Dentro de cada columna, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

^{AB}Dentro de cada fila, las medias con superíndices distintos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

P1: control; P2: 50ppm enrofloxacin sin retirada; P3: 50ppm enrofloxacin con retirada; P4: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin sin retirada; P5: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin con retirada.

Igual que en los resultados obtenidos en carne de pollo, y como se esperaba, no se detectaron residuos de enrofloxacin ni de ciprofloxacina en las muestras control de ninguno de los tres tejidos.

Observando los niveles de antibiótico y de su metabolito en los tejidos de pavo, estos fueron considerablemente inferiores ($p < 0.05$) a los de pollo. En farmacocinética animal es necesario tener en cuenta las diferencias entre especies y, en el caso de las aves, los valores pueden variar considerablemente entre pollo, pavo, pato u otras especies. Además, las diferencias entre razas y la edad del animal son otros factores a considerar (Serrano, 2002).

Aunque la dosis de enrofloxacin administrada a los animales fue igual en los dos casos, el metabolismo hepático y renal, que está en relación con el desarrollo corporal, puede modificar los resultados obtenidos. Según un estudio reciente, la administración de 50ppm de Baytril durante tres semanas a pollos y cuatro semanas a pavos en el agua de bebida, dio concentraciones superiores del fármaco en los primeros (Bayer, 2002).

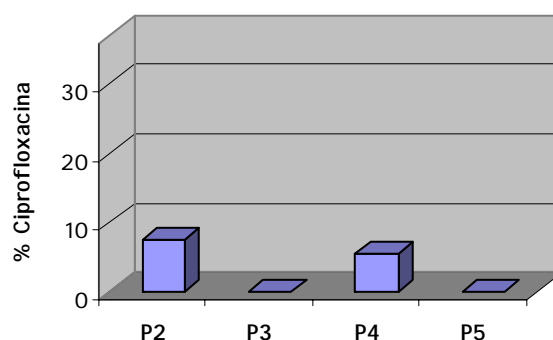
Por otro lado, a pesar de que la vía de administración del fármaco fue también equivalente en los dos casos, los animales fueron criados en épocas distintas y esto pudo afectar al consumo de agua y por tanto a la ingestión del fármaco. Además, el consumo relativo de agua (volumen de agua ingerido a diario en proporción al peso corporal) es aproximadamente el doble en pollos que en pavos (Bayer, 2002).

A diferencia de la carne de pollo, en pavo no se detectó la presencia de residuos en el tejido de aquellos animales a los que se aplicó el periodo de retirada del antibiótico (P3 y P5), ni siquiera en hígado.

En los tratamientos en los que se detectaron residuos y para los tres tejidos analizados, los niveles de enrofloxacin fueron superiores ($p < 0.05$) a los de ciprofloxacina.

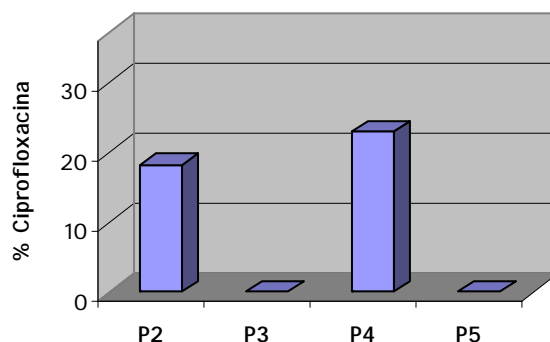
En las gráficas 5.12 y 5.13 se muestra el porcentaje de ciprofloxacina en pechuga e hígado respecto a la concentración de antibiótico total hallada en estos tejidos. El muslo no está representado ya que, como se ha comentado, en este tejido no se detectaron residuos de ciprofloxacina en ninguno de los tratamientos experimentales.

Gráfica 5.12 Porcentaje de ciprofloxacina respecto al antibiótico total detectado en pechuga de pavo.



P2: 50ppm enrofloxacin sin retirada;
 P3: 50ppm enrofloxacin con retirada;
 P4: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin sin retirada;
 P5: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin con retirada.

Gráfica 5.13 Porcentaje de ciprofloxacina respecto al antibiótico total detectado en hígado de pavo.



P2: 50ppm enrofloxacin sin retirada;
P3: 50ppm enrofloxacin con retirada;
P4: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin sin retirada;
P5: 200ppm vitamina E + 50ppm enrofloxacin con retirada.

De nuevo, como puede observarse gráficamente, la presencia de residuos de ciprofloxacina en los tejidos fue muy inferior a la de enrofloxacin. El mayor porcentaje de ciprofloxacina respecto al antibiótico total detectado se halló en el tratamiento P4 en hígado (22.9%), mientras que en pechuga los porcentajes fueron de 7.5% en el tratamiento P2 y 5.5% en el tratamiento P4.

Se apreciaron diferencias significativas en los niveles de enrofloxacin y para los tres tejidos sólo en el tratamiento P4 (200 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada), donde el hígado presentó una mayor concentración del antibiótico en comparación con el tejido muscular, aunque la diferencia fue únicamente significativa al ser comparado con el muslo.

Se observó por tanto, el mismo fenómeno que en la carne de pollo: en el tratamiento que contenía vitamina E (P4), el muslo, tejido con una mayor concentración del antioxidante, presentaba menos residuos del fármaco.

En cuanto a la ciprofloxacina las diferencias significativas se dieron entre tejidos tanto en el tratamiento P2 como en el P4, detectándose en ambos casos una mayor concentración de residuo en el hígado.

Pechuga de pavo

En este tejido se observó un efecto de la **vitamina E** suplementada en la dieta sobre los residuos, tanto de enrofloxacin como de ciprofloxacina (Tablas 5.23 y 5.24). El tratamiento con vitamina E (P4) presentó una mayor concentración de enrofloxacin y de ciprofloxacina que el tratamiento equivalente pero sin el antioxidante (P2).

Muslo de pavo

También en el muslo de pavo se observó un efecto de la **vitamina E** en el mismo sentido que en la pechuga, ya que el tratamiento con el antioxidante (P4) presentó más residuos de enrofloxacin.

Como se ha mencionado anteriormente, no se encontraron residuos de ciprofloxacina en este tejido.

Hígado de pavo

De nuevo, y en el mismo sentido que en el tejido muscular, la **vitamina E** adicionada provocó un incremento de la concentración de enrofloxacin y ciprofloxacina en el tejido muscular.

Los resultados obtenidos en este estudio, tanto en el caso de la carne de pollo como la de pavo, revelan que no sólo es importante regular la dosis, duración y vía de administración de los fármacos antibacterianos así como los períodos de retirada de estos, para garantizar que la presencia de residuos de estos fármacos en los tejidos comestibles del animal se encuentren por debajo de los LMR permitidos; ahora, además, se pone de manifiesto la posibilidad de que los fármacos administrados presenten interacciones con otros componentes beneficiosos "a priori" de la dieta animal y que esto repercuta en el metabolismo y excreción del fármaco y por lo tanto en los residuos de este en el tejido animal. Si se tienen en cuenta estos resultados sería necesario evaluar la naturaleza de estas posibles interacciones y, en el caso de no ser favorables, plantearse en un futuro alternativas al uso de estos medicamentos en la práctica avícola.

Las bacterias patógenas como Salmonella, E. Coli y Campylobacter, no son miembros nativos de la microbiota de pollos y pavos pero son capaces de colonizar su intestino de forma muy rápida y persistir en él de forma no patológica. Cuando se dan las condiciones favorables que permiten su crecimiento, pueden llegar a una masa crítica y generar suficientes toxinas como para provocar la enfermedad o incluso la muerte del animal. Los animales jóvenes además, son los más afectados por infecciones ya que no disponen de una microbiota propia bien desarrollada que los proteja. Una de las alternativas propuestas a la administración de antibióticos a las aves destinadas al consumo humano es la administración de microorganismos prebióticos a los animales, es decir, la incorporación de cultivos de microorganismos vivos que refuerzan la función de barrera de la microbiota intestinal e incrementan el sistema inmune del animal, evitando así la infección y como consecuencia la posible transmisión a los humanos. Los prebióticos no son una alternativa a los antibióticos a la hora de curar la enfermedad pero sí tienen un papel clave para prevenirla. En este campo, existen algunos trabajos como el de Pascual (2002) en el que se han caracterizado los Lactobacilos de origen intestinal y evaluado in vivo su poder prebiótico en pollos.

En definitiva, el uso prudente de los antibióticos es de vital importancia. Su uso excesivo, y en muchos casos inapropiado esta dando lugar a un rápido aumento del prevaecimiento de microorganismos resistentes a estos fármacos. Por este motivo, es necesario un riguroso control de su utilización y de las consecuencias de su administración.

6. CONCLUSIONES

Las principales conclusiones que pueden extraerse a partir de los resultados obtenidos en este estudio son las siguientes:

1. Los **enzimas antioxidantes** GSHPx, CAT y SOD no son, en las condiciones estudiadas, indicadores determinantes de la estabilidad oxidativa de los tejidos analizados. Si bien existen diferencias en la actividad de estos enzimas entre los distintos tejidos examinados, probablemente relacionadas con las características bioquímicas de los mismos, dentro de un mismo tejido no puede establecerse una relación clara entre los antioxidantes adicionados en la dieta animal y las actividades de los enzimas antioxidantes endógenos.

En los tejidos de las dos especies estudiadas, la administración de enrofloxacin tiene un efecto sobre la actividad de los enzimas antioxidantes que difiere según se aplique o no el periodo de retirada del antibiótico, lo que parece indicar una relación con el metabolismo del fármaco.

2. La suplementación de **vitamina E** en la dieta de pollos y pavos, en las condiciones utilizadas en este estudio, provoca un incremento de la concentración del antioxidante en el tejido muscular. Este incremento está estrechamente relacionado con la dosis de antioxidante adicionado en la dieta. En ambas especies de aves existen diferencias evidentes entre la pechuga y el muslo, siendo los niveles superiores en este último.

En pollos, y en las condiciones estudiadas, una dosis de 100 ppm del antioxidante resulta efectiva como protección frente al deterioro oxidativo tanto en la carne de pechuga como en la de muslo. Una dosis de 30 ppm, en cambio, resulta insuficiente en muslo tal y como queda demostrado desde un punto de vista químico mediante los valores de TBARS y desde un punto de vista sensorial a través de la rancidez detectada en las muestras.

En los pavos, la suplementación de 200 ppm de vitamina E provocan un aumento de la estabilidad oxidativa, reflejada en los valores de TBARS, solamente cuando el antibiótico administrado de forma conjunta no se retira con

anterioridad al sacrificio. La dosis de 50 ppm, en cambio, no resulta efectiva desde una perspectiva sensorial en ninguno de los dos tejidos, a pesar de provocar un descenso en los valores de TBARS.

3. La suplementación de **β -caroteno** junto con la vitamina E en la dieta de las dos especies, a las dosis y condiciones investigadas, no afecta a la concentración de vitamina E en la pechuga, mientras que provoca un descenso de ésta en muslo. A pesar de esto, en carne de pollo, los valores de TBARS así como la rancidez oxidativa de los dos tejidos musculares analizados no son distintos a los del tratamiento control y en muslo el carotenoide incluso tiende a aumentar la rancidez. En pavo, el β -caroteno suplementado no manifiesta propiedades antioxidantes y, aunque las muestras de pechuga y muslo tienden a tener valores de TBARS inferiores al control, la rancidez es la misma.
4. El **licopeno** en las condiciones analizadas no manifiesta ningún efecto antioxidante en los tejidos de pollo. A diferencia del β -caroteno, no ejerce ningún efecto sobre la vitamina E, en este caso, proporcionada por la dieta basal. A nivel sensorial, en cambio, se aprecia cierto carácter prooxidante del carotenoide, con una tendencia a incrementar la rancidez tanto en pechuga como en muslo.
5. La administración de **enrofloxacina** en las dos especies de aves provoca la acumulación de residuos del antibiótico y su metabolito en los tejidos muscular y hepático. Cuando no se respeta el periodo de 12 días de retirada del fármaco, los residuos detectados en estos tejidos se encuentran muy por encima del LMR permitido para el consumo humano.

El hígado es el tejido con una mayor acumulación de residuos del fármaco y a la vez es el tejido con un mayor porcentaje de ciprofloxacina, por ser el órgano responsable del metabolismo de la enrofloxacina.

En las condiciones estudiadas y para todos los tejidos de ambas especies, la concentración de enrofloxacin detectada es superior a la de su metabolito.

Comparando las dos especies, la carne de pavo contiene una menor concentración de residuos y, a diferencia del pollo, cuando se respeta el periodo de retirada los niveles se encuentran por debajo del límite de detección.

6. La administración de enrofloxacin tiende a modificar los niveles de vitamina E detectados en pechuga y muslo de las dos especies. La influencia del fármaco es distinta en función de la concentración de vitamina E presente en la dieta. Por otro lado, la adición de niveles supranutricionales de vitamina E en la dieta de las dos especies de aves afecta a su vez a los niveles de residuos de antibiótico detectados en los tejidos. En vista de los resultados obtenidos, puede concluirse que existe una interacción entre el fármaco y el antioxidante de la dieta y que en la naturaleza de la misma podrían estar implicados factores como la concentración de antioxidante, el metabolismo del fármaco y ligado a este la importancia del periodo de retirada.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abuja, P. M. y Albertini, R. 2001.** Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin. Chim. Acta* 306, 1-17.
- Ahn, D.U., Wolfe, F.H. y Sim, J.S. 1995.** Dietary α -linolenic acid and mixed tocopherols, and packaging influences on lipid stability in broiler chicken breast and leg muscle. *J. Food Sci.* 60, 1013-1018.
- Allen, C.E. y Foegeding, E.A. 1981.** Some lipid characteristics and interactions in muscle foods-a review. *Food Technol.* 35, 253-257.
- Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M. R., Díaz, M. J., Bringas, P., Martínez, M. A., Fernández-Cruz, M. L., Fernández, M. C., y Fernández, R. 1995.** Pharmacokinetics and residues of enrofloxacin in chickens. *Am. J. Vet. Res.*, 56(4), 501-506.
- Anadón, A. y Martínez-Larrañaga, M. R. 1999.** Residues of antimicrobial drugs and feed additives in animal products: regulatory aspects. *Livest. Prod. Sci.* 59, 183-198.
- Angelova, T. y Warthesen, J. 2000.** Degradation of lycopene, α -carotene, and β -carotene during lipid peroxidation. *J. Food Sci.* 65(1), 71-75.
- Armstrong, G. A. y McIlveen, H. 2000.** Effects of prolonged storage on the sensory quality and consumer acceptance of sous vide meat-based recipe dishes. *Food Qual. Prefer.* 11, 377-385.
- Arnold, R.M., Arp, S.C., Scheller, K.K., Williams, S.N. y Shaefer, D.M. 1993.** Tissue equilibration and subcellular distribution of vitamin E relative to myoglobin and lipid oxidation in displayed beef. *J. Anim. Sci.* 71, 105.
- Aumaitre, A. 1999.** Quality and safety of animal products. *Livest. Prod. Sci.* 59, 113-124.
- Aurousseau, B. 2002.** Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod. Anim.* 15(1), 67-82.
- Avanzo, J. L., De Mendoza, C. X., Piccoli, S. M. y De Cerqueira Cesar, M. 2001.** Effect of vitamin E and selenium on resistance to oxidative stress in chicken superficial pectoralis muscle. *Comp. Biochem. Phys. C* 129, 163-173.
- Azzi, A. y Stocker, A. 2000.** Vitamin E: non-antioxidant roles. *Prog. Lipid Res.* 39, 231-255.
- Azzi, A., Davies, K.J.A. y Kelly, F. 2004.** Free radical biology-terminology and critical thinking. *FEBS Letters* 28036, 1-4.
- Barbut, S. 2002a.** «Basic Anatomy and Muscle Biology» en Poultry Products Processing: an industry guide, p. 31-60, CRC Press LLC, Florida.

- Barbut, S. 2002b. «Meat color and flavor» en *Poultry Products Processing: an industry guide*, p. 429-465, CRC Press LLC, Florida.
- Barja, G. 2002a. Endogenous oxidative stress : relationship to aging, longevity and caloric restriction. *Ageing Res. Rev.* 1, 397-411.
- Barja, G. 2002b. Rate of generation of oxidative stress-related damage and animal longevity. *Free Radical Bio. Med.* 33, 1167-1172.
- Barreiro, D. 2001. La alimentación en España en 1999. *Eurocarne* 93, 117-122.
- Barroeta, A. C. y Cortinas, L. 2002a. «Modificación de la composición de la grasa de pollo a través de la dieta». en *Estrategias para la producción de carnes con material lipídico más saludable. Seminario Internacional Complutense*, p. 1-16, 19 Abril 2002, Instituto de Ciencia y Tecnología de la Carne, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.
- Barroeta, A. C. y Cortinas, L. 2002b. Modificación de la composición de la grasa de pollo a través de la dieta. *Eurocarne* 108, 33-45.
- Barton-Gade, P. A., Cross, H. R., Jones, J. M. y Winger, R. J. 1988. «Factors affecting sensory properties of meat» en *Meat Science, Milk Science and Technology* (Cross, H.R., Overby, A.J., eds.) p. 141-163, Elsevier Science Publishers B.V.
- Bartov, I., Basker, D. y Angel, S. 1983. Effect of dietary vitamin E on the stability and sensory quality of turkey meat. *Poultry Sci.* 62, 1224-1230.
- Batifoulier, F., Mercier, Y., Gatellier, P. y Renerre, M. 2002. Influence of vitamin E on lipid and protein oxidation induced by H₂O₂-activated MetMb in microsomal membranes from turkey muscle. *Meat Sci.*, 61, 389-395.
- Bayer. 2002. Enrofloxacin. <http://www.poultry.baytril.com/>
- Bett, K. L. 1993. Measuring sensory properties of meat in the laboratory. *Food Technol.* 121-134.
- Bjorneboe, A., Bjorneboe, G. A. y Drevon, C. A. 1990. Absorption, transport and distribution of vitamin E. *Am. Inst. Nutr.* 233-242.
- Bodwell, C.E. y McClain, P.E. 1971. «Composición química de los tejidos animales» en *Ciencia de la carne y de los productos cárnicos* (Price, J.F., Schweigert, B.S., eds.) p.80-211, Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- Bou, R., Guardiola, F., Grimpa, S., Manich, A., Barroeta, A. y Codony, R. 2001. Influence of dietary fat source, α -tocopherol, and ascorbic acid supplementation on sensory quality of dark chicken meat. *Poultry Sci.* 80, 800-807.

- Bramley, P. M., Elmadfa, I., Kafatos, A., Kelly, F. J., Manios, Y., Roxborough, H. E., Schuch, W., Sheehy, P. J. A. y Wagner, K.H. 2000. Review vitamin E. *J. Sci. Food Agr.* 80, 913-938.
- Breinholt, V., Lauridsen, s. T., Daneshvar, B. y Jakobsen, J. 2000. Dose-response effects of lycopene on selected drug-metabolizing and antioxidant enzymes in the rat. *Cancer Lett.* 154, 201-210.
- Brewer, M. S. 1998. What is "warmed-over flavor"? *National Pork Board*, 1-4.
- Brunton, N.P., Cronin, D.A. y Monahan, F.J. 2002. The effect of oxygen exclusion during cooling of cooked turkey breast on the development of lipid oxidation in the stored product. *J. Sci. Food Agr.* 82, 1044-1049.
- Burton, G. W. 1989. Antioxidant action of carotenoids. *J. Nutr.* 109-111.
- Byrne, D., Bak, L., Bredie, W., Bertelsen, G. y Martens, M. 1999a. Development of a sensory vocabulary for warmed-over flavor: part I. In porcine meat. *J. Sens. Stud.* 14, 47-65.
- Byrne, D., Bredie, W. y Martens, M. 1999b. Development of a sensory vocabulary for warmed-over flavor: part II: In chicken meat. *J. Sens. Stud.* 14, 67-78.
- Byrne, D. V., Bredie, W. L. P., Bak, L. S., Bertelsen, G., Martens, H. y Martens, M. 2001. Sensory and chemical analysis of cooked porcine meat patties in relation to warmed-over flavour and pre-slaughter stress. *Meat Sci.* 59, 229-249.
- Byrne, D. V., Bredie, W. L. P., Mottram, D. S. y Martens, M. 2002. Sensory and chemical investigations on the effect of oven cooking on warmed-over flavour development in chicken meat. *Meat Sci.* 61, 127-139.
- Cadenas, E., Poderoso, J.J., Antunes, F. y Boveris, A. 1999. «Reaction of ubiquinol with nitric oxide» en *Antioxidant Food Supplements in Human Health* (Packer, L., Hiramatsu, M. y Yoshikawa, T., eds.) p. 143-163, Academic Press, California, USA.
- Cancho Grande, B., García Falcón, M. S. y Simal Gándara, J. 2000. El uso de los antibióticos en la alimentación animal: perspectiva actual. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, 3(1), 39-47.
- Carlucci, G. 1998. Analysis of fluoroquinolones in biological fluids by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 812, 343-367.
- Carreras, I. 2002. Estabilitat oxidativa de la carn de pollastres alimentats amb dietes suplementades amb antioxidants naturals. Memòria del treball de recerca del programa de Doctorat de Ciències. Universitat de Girona, Girona, España.
- Carreras, I., Guàrdia, M.D., Guerrero, L. y Sárraga, C. 2003. Sensory and chemical analyses of meat from broilers fed antioxidant supplemented diets. 5th Pangborn Sensory Science Symposium, July 20-24, Boston, USA.

- Carreras, I., Guerrero, L., Guàrdia, M.D., Esteve-García, E., García Regueiro, J.A. y Sárraga, C. 2004. Vitamin E levels, thiobarbituric acid test and sensory evaluation of breast muscles from broilers fed α -tocopheryl acetate- and β -carotene-supplemented diets. *J. Sci. Food Agric.* 84, 313-317.
- Casademont, G. y García Regueiro, J. A. 1999. Residuos en productos animales. Problemática de su control analítico. *Eurocarne* 75, 45-57.
- Castillo Sánchez, M.D. y León Espinosa de los Monteros, M.T. 2000. Evolución del consumo de alimentos en España. *Medicina General* 28, 865-868.
- Castro, F.J. y Fernández, M. 2003. El sector avícola busca alternativas. *Alimarket* 162, 141-157.
- Chambers, E. y Bowers, J. R. 1993. Consumer perception of sensory qualities in muscle foods. *Food Technol.* (November), 116-120.
- Chan, W. K. M., Hakkarainen, K., Faustman, C., Schaefer, D. M., Scheller, K. K. y Liu, Q. 1996. Dietary vitamin E effect on color stability and sensory assessment of spoilage in three beef muscles. *Meat Sci.* 42(4), 387-399.
- Chan, W. K. M., Faustman, C., Yin, M. y Decker, E. A. 1997. Lipid oxidation induced by oxymyoglobin and metmyoglobin with involvement of H_2O_2 and superoxide anion. *Meat Sci.* 46(2), 181-190.
- Cheng, W., Valentine, B. y Gen Lei, X. 1999. High levels of dietary vitamin E do not replace cellular glutathione peroxidase in protecting mice from acute oxidative stress. *Am. Soc. Nutr. Sci.*, 1951-1957.
- Chihuailaf, R. H., Contreras, P. A. y Wittwer, F. G. 2002. Patogénesis del estrés oxidativo: consecuencias y evaluación en salud animal. *Vet. Méx.* 33(3), 265-283.
- Chizzolini, R., Zanardi, E., Dorigoni, V. y Ghidini, S. 1999. Calorific value and cholesterol content of normal and low-fat meat and meat products. *Trends Food Sci. Tech.* 10, 119-128.
- Chow, C. K., Reddy, K. y Tappel, A. A. 1973. Effect of dietary vitamin E on the activities of the glutathione peroxidase system in rat tissues. *J. Nutr.* 103, 618-624.
- Coppen, P.P. 1983. «The use of antioxidants» en *Rancidity in Foods* (Allen, J.C. y Hamilton, R.J., eds.) p. 67-87, Applied Science Publishers LTD, England.
- Cruz, J., y Barreiro, D. 2001. Situación actual de la industria cárnica en España. *Eurocarne*, 95, 23-31.

- Cubero, N., Monferrer, A. y Villalta, J. 2002. «Mecanismo de actuación de los antioxidantes fenólicos» en *Aditivos alimentarios*. Colección Tecnología de alimentos (C. A. M. V. E. Mundi-Prensa, eds.) p. 85-97, Madrid, España.
- Daun, Dh. y Akesson, B. 2004. Comparison of glutathione peroxidase activity and of total and soluble selenium content in two muscles from chicken, turkey, duck, ostrich and lamb. *Food Chem.* 85, 295-303.
- Dean, P., Sutton, H. Y Proudfoot, F.G. 1972. The effects of environmental flock treatments on broiler carcass quality. *Poultry Sci.* 51, 1476-1477.
- Dean, R. T., Fu, S., Stocker, R. y Davies, M. J. 1997. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem. J.* 324, 1-18.
- Decker, E.A. 1998. Strategies for manipulating the prooxidative/antioxidative balance of foods to maximize oxidative stability. *Trends Food Sci. Tech.* 9, 241-248.
- Decker, E. A. y Xu, Z. 1998. Minimizing rancidity in muscle foods. *Food Technol.* 52(10), 54-59.
- DeVore, V. R. y Greene, B. E. 1982. Glutathione peroxidase in post-rigor bovine semitendinosus muscle. *J. Food Sci.* 47, 1406-1409.
- DeVore, V. R., Colnago, G. L., Jensen, L. S. y Greene, B. E. 1983. Thiobarbituric acid values and glutathione peroxidase activity in meat from chickens fed a selenium-supplemented diet. *J. Food Sci.* 48, 300-301.
- De Wiinne, A. y Dirinck, P. 1996. Studies on vitamin E and meat quality. Effect of feeding high vitamin E levels on chicken meat quality. *J. Agric. Food Chem.* 44, 1691-1696.
- Dirinck, P., Winne, A.D., Casyteels, M., Frigg, M. 1996. Studies on vitamin E and meat quality 1. Effect of feeding high vitamin E levels on time-related pork quality. *J. Agric. Food Chem.* 44, 65-68.
- EMEA. 1998. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Veterinary Medicines Evaluation Unit. Committee for veterinary medicinal products. Enrofloxacin (modification for bovine, porcine and poultry), Summary Report (2), 1-6.
- Ershov, E., Bellaiche, M., Hanji, V., Soback, S., Gips, M., Weisman, Y. y Shlosberg, A. 2000. Interaction of monensin and sulfadimethoxine in broilers, as mediated by hepatic microsomal cytochrome P450 monooxygenases. *Drug Metab. Drug Interact.* 16, 1-12.

- Ershov, E., Bellaiche, M., Hanji, V., Soback, S., Gips, M. y Shlosberg, A. 2001. Interaction of fluoroquinolones and certain ionophores in broilers: effect on blood levels and hepatic cytochrome P450 monooxygenase activity. *Drug Metab. Drug Interact.* 18(3-4), 209-219.
- Eurocarne. 2002. Expectativas y hábitos de consumo ante la carne de pollo. *Eurocarne* 108, 23-28.
- Farré, R. y Frasquet, I. 2002. Biodisponibilidad de vitaminas liposolubles y licopeno de origen dietético, *Alimentación, Nutrición y Salud*, 39-45.
- Fenton, H.J.H. y Jackson, H. 1899. The oxidation of polyhydric alcohols in the presence of iron. *J. Chem. Soc.* 75, 1-11.
- Fernández, J., Pérez-Álvarez, J. A. y Fernández-López, J. A. 1997. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chem.* 59(3), 345-353.
- Fernández-Ginés, J. M., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A., Sayas-Barberá, E. y Sendra, E. 2001. Adición de vitamina E a dietas de animales de abasto: efecto sobre carne y productos cárnicos. *Alimentaria*, 31-37.
- Fernández San Juan, P.M. 2002. Aditivos alimentarios: evaluación de la inocuidad, clasificación y funciones tecnológicas. Centro Nacional de Alimentación. Inst. Salud Carlos III. http://www.unav.es/farmacia/graduados/aditivos_alimentarios.htm.
- Foot, C.S., Shook, F.C. y Abakerli, R.B. 1984. Characterization of singlet oxygen. *Methods Enzymol.* 105, 36-47.
- Formanek, Z., Kerry, J. P., Higgins, F. M., Buckley, D. J., Morrissey, P. A. y Farkas, J. 2001. Addition of synthetic and natural antioxidants to tocopheryl acetate supplemented beef patties: effects of antioxidants and packaging on lipid oxidation. *Meat Sci.*, 58, 337-341.
- Fraga, C., Martino, V., Ferraro, G., Coussio, J. y Boveris, A. 1987. Flavonoids as antioxidants evaluated by in vitro and in situ chemiluminescence. *Biochem. Pharmacol.* 36, 717-721.
- Frankel, E. N. 1993. In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. *Trends Food Sci. Tech.* 4, 220-225.
- Fridovich, I. 1984. Overview: biological sources of O₂⁻. *Methods Enzymol.* 105, 59-61.
- Fridovich, I. 1989. Superoxide dismutases. An adaptation to a paramagnetic gas. *J. Biol. Chem.* 264, 7761.

- Froning, G.W., Babjii, A.S. y Mather, F.B. 1978. The effect of preslaughter temperature, stress, struggle and anesthetization on colour and textural characteristics of turkey muscle. *Poultry Sci.* 57, 630-633.
- Fuhr, U., Anders, E., Mahr, G., Sorgel, F. y Staib, A. 1992. Inhibitory potency of quinolone antibacterial agents against cytochrome P4501A2 activity in vivo and in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36, N5, 942.
- Galvin, K., Morrissey, P. A. y Buckley, D. J. 1997. Influence of dietary vitamin E and oxidised sunflower oil on the storage stability of cooked chicken muscle. *Brit. Poultry Sci.* 38, 499-504.
- García Regueiro, J. A., Díaz, I., Hortós, M. y Esteve-García, E. 2000. Efecto de pro-oxidantes en la composición de triglicéridos en carne de pollo fresca y cocinada. *Eurocarne* 91, 59-62.
- Gatellier, P., Anton, M. y Renerre, M. 1995. Lipid peroxidation induced by H₂O₂-activated metmyoglobin and detection of a myoglobin-derived radical. *J. Agric. Food Chem.* 43, 651-656.
- Gatellier, P., Mercier, Y., Rock, E. y Renerre, M. 2000. Influence of dietary fat and vitamin E supplementation on free radical production and on lipid and protein oxidation in turkey muscle extracts. *J. Agric. Food Chem.* 48, 1427-1433.
- Gatellier, P., Mossab, A., Lessire, E. y Renerre, M. 2001. Influence of a dietary linseed oil and vitamin E supplementation on oxidative processes of turkey cooked-ham homogenates cured with different levels of nitrite en *Proceedings of the 47th International Congress of Meat Science and Technology*, p. 62-63, August 26th-31st, Kraków, Poland.
- Gebicki, J.M. y Bielski, B.H.J. 1981. Comparison of the capacities of the perhydroxyl and the superoxide radicals to initiate chain oxidation of linoleic acid. *J. Am. Chem. Soc.* 103, 7020-7022.
- Giese, J. 1996. Antioxidants: tools for preventing lipid oxidation. *Food Technol.* 73-81.
- Gorla, N., Chiostrì, E., Ugnia, L., Weyers, A., Giacomelli, N., Davicino, R. y García Ovando, H. 1997. HPLC residues of enrofloxacin and ciprofloxacin in eggs of laying hens. *Int. J. Antimicrob. Ag.* 8, 253-256.
- Graf, E., Mahoney, J.R., Bryant, R. G. y Eaton, J.W. 1984. Iron-catalyzed hydroxyl radical formation. *J. Biol. Chem.* 259(6), 3620-3624.

- Grashorn, M.A. 1995. Instrumental methods for measuring meat quality features. Pages 489-495 en: Proceedings of the XII European Symposium on the Quality of Poultry Meat, Zaragoza, Spain.
- Grau, A., Codony, R., Grimpa, S., Baucells, M. D. y Guardiola, F. 2001. Cholesterol oxidation in frozen dark chicken meat: influence of dietary fat source, and α -tocopherol and ascorbic acid supplementation. *Meat Sci.* 57, 197-208.
- Gray, J.I. y Pearson, A.M. 1987. En *Restructured Meat and Poultry Products- Advances in Meat Research*, Vol. 3 (Pearson, A.M. y Dutson, T.R. eds.) p.221, Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Gray, J. I. y Monahan, F. J. 1992. Measurement of lipid oxidation in meat and meat products. *Trends Food Sci. Tech.* 3, 315-319.
- Gray, J. I., Gomma, E. A. y Buckley, D. J. 1996. Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Sci.* 43(S), S111-S123.
- Grune, T., Klotz, L., Gieche, J., Rudeck, M. y Sies, H. 2001. Protein oxidation and proteolysis by the nonradical oxidants singlet oxygen or peroxy nitrite. *Free Radical Bio. Med.* 30(11), 1243-1253.
- Guerrero, L. y Guàrdia, M.D. 1997. «Diseño de experimentos sensoriales para la industria alimentaria», II Jornadas de Análisis Sensorial, 16-17 Setiembre, Villaviciosa, Asturias, España.
- Guerrero, L. 2000. «Determinación sensorial de la calidad de la carne» en *Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes* (Cañeque, V. y Sañudo, C., eds.) p. 205-220, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid, España.
- Guerrero, L. 2002. «Problemática de los perfiles descriptivos en productos poco homogéneos: la carne y algunos derivados cárnicos» en *Análisis sensorial (otros alimentos)*. I Encuentro Internacional de Ciencias Sensoriales y de la Percepción. <http://percepnet.com/cs2002.htm>.
- Guidera, J., Kerry, J. P., Buckley, D. J., Lynch, P. B. y Morrissey, P. A. 1997. The effect of dietary vitamin E supplementation on the quality of fresh and frozen lamb meat. *Meat Sci.* 45(1), 33-43.
- Gürbay, A., Gonthier, B., Daveloose, D., Favier, A. y Hincal, A. 2001. Microsomal metabolism of ciprofloxacin generates free radicals. *Free Radical Bio. Med.* 30(10), 1118-1121.
- Gutiérrez, A. 2002. Té: polifenoles y protección a la salud. *Medicentro*, 6(4).

- Haber, F. y Weiss, J. 1934. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proc. R. Soc. London Ser. A* 147, 332-351.
- Halliwell, B. y Gutteridge, J.M.C. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radical, transition metals and disease. *Biochem. J.* 219, 1-14.
- Halliwell, B. y Gutteridge, J.M.C. 1986. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Arch. Biochem. Biophys.* 206(2), 501-514.
- Halliwell, B. 1987. Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J.* 1, 358-364.
- Halliwell, B. y Gutteridge, J.M.C. 1989. Free Radicals in Biology and Medicine (second edition and fourth reprint in 1996). Halliwell, B. y Gutteridge, J.M.C. eds, Oxford University Press, New York.
- Halliwell, B., Murcia, M. A., Chirico, S. y Aruoma, O. I. 1995. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 35(1&2), 7-20.
- Hamilton, R. j., Kalu, C., Prisk, E., Padley, F. B. y Pierce, H. 1997. Chemistry of free radicals in lipids. *Food Chem.* 60(2), 193-199.
- Harel, S. y Kanner, J. 1985. Hydrogen peroxide generation in ground muscle tissues. *J. Agric. Food Chem.* 33, 1186-1188.
- Hérmendez-Arteseros, J. A., Boronat, I., Compañó, R. y Prat, M. D. 2000. Liquid chromatographic separation of fluoroquinolone antibacterials used as veterinary drugs. *Chromatographia*, 52(5/6), 125-130.
- Hernández-Arteseros, J.A. 2001. Establecimiento de metodología analítica para la determinación de residuos de quinolonas en alimentos. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona, Barcelona, España.
- Hernández, J. M. 2002. Calidad de los alimentos de origen animal: ¿qué significado tiene para el consumidor español del siglo XXI? *Eurocarne* 106, 33-44.
- Hernández, P., López, A., Marco, M. y Blasco, A. 2001. Actividad de los enzimas antioxidantes en la carne de conejo. IX Jornadas sobre producción animal. AI DA.
- Hernández, P., Park, D. y Soon, K. 2002. Chloride salt type/ionic strength, muscle site and refrigeration effects on antioxidant enzymes and lipid oxidation in pork. *Meat Sci.* 61, 405-410.
- Hernández, P., Zomeño, L. Ariño, B. Y Blasco, A. 2004. Antioxidant, lipolytic and proteolytic enzyme activities in pork meat from different genotypes. *Meat Sci.* 66, 525-529.

- Hercberg, S., Galan, P., Preziosi, P., Alfarez, M. J. y Vazquez, C. 1998. The potential role of antioxidant vitamins in preventing cardiovascular diseases and cancers. *Nutrition* 14(6), 513-520.
- Higgins, F.M., Kerry, J.P., Buckley, D.J. y Morrissey, P.A. 1998. Dietary supplementation versus direct post mortem addition of α -tocopherol on lipid and colour stability in cooked turkey breast patties. *Food Res. Int.* 31, 205-209.
- Higgins, F. M., Kerry, J. P., Buckley, D. J. y Morrissey, P. A. 1999. Effects of α -tocopheryl acetate supplementation and salt addition on the oxidative stability (TBARS) and warmed-over flavour (WOF) of cooked turkey meat. *Brit. Poultry Sci.* 40, 59-64.
- Hsieh, R.J. y Kinsella, J. E. 1989. Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products and inhibition with emphasis on fish. *Adv. Food Nutr. Res.* 33, 233.
- Idolo, G. I. y Spanier, A. M. 1994. Unraveling the secret of meat flavor. *Trends Food Sci. Tech.* 5, 315-321.
- Igene, J. O., Yamauchi, K., Pearson, A. M., Gray, J. I. y Aust, S. D. 1985. Evaluation of 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in relation to warmed-over flavor (WOF) development in cooked chicken. *J. Agric. Food Chem.* 33, 364-367.
- Ito, N., Hirose, M., Fukushima, S., Tsuda, H., Shirai, T. y Tatematsu, M. 1986. Studies on antioxidants: their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis. *Food Chem. Toxicol.* 24, 1071-1082.
- Jensen, M., Essen-Gustavsson, B. y Hakkarainen, J. 1988. The effect of a diet with high or low content of vitamin E on different skeletal muscles and myocardium in pigs. *J. Vet. Med.* A35, 487-497.
- Jensen, C. Engberg, R., Jakobsen, K. Skibsted, L.H. y Bertelsen, G. 1997. Influence of the oxidative quality of dietary oil on broiler meat storage stability. *Meat Sci.* 47, 211-222.
- Jensen, C., Lauridsen, C. y Bertelsen, G. 1998. Dietary vitamin E: quality and storage stability of pork and poultry. *Trends Food Sci. Tech.* 9, 62-72.
- Jiménez-Colmenero, F. 2001a. Implicaciones del consumo de carne y sus derivados en la salud humana. *Eurocarne* 95, 75-87.
- Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J. y Cofrades, S. 2001b. Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Sci.* 59, 5-13.
- Jiménez-Colmenero, F. 2001c. Carne y productos cárnicos como alimentos funcionales. *Eurocarne* 97, 49-59.

- Joseph, J.K., Awosanya, B., Adeniran, A.T. y Otagba, U.M. 1997. The effects of end-point internal cooking temperatures on the meat quality attributes of selected Nigerian poultry meats. *Food Qual. Pref.* 8, 57-61.
- Kanner, J., German, J.B. y Kinsella, J.E. 1987. Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 25(4), 317-364.
- Kanner, J., Harel, S. y Jaffe, R. 1991. Lipid peroxidation of muscle foods as affected by NaCl. *J. Agric. Food Chem.* 39, 1017-1021.
- Kanner, J. 1994. Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. *Meat Sci.* 36, 169-189.
- Kanner, J., Harel, S. y Granit, R. 2001. Betalains-A new class of dietary cationized antioxidants. *J. Agr. Food Chem.* 48, 5178-5185.
- Kasapidou, E., Wood, J. D., Sinclair, L. A., Wilkinson, R. G. y Enser, M. 2001. *Diet and vitamin E metabolism in lambs: effects of dietary supplementation on meat quality*. Paper presented at the 47 th ICoMST.
- Kendler, B. S. 2002. Food antioxidants: technological, toxicological and health perspectives. *Nutrition* 18(7/8), 700-701.
- Kim, Y. H., Nam, K. C. y Ahn, D. U. 2002. Volatile profiles, lipid oxidation and sensory characteristics of irradiated meat from different animal species. *Meat Sci.* 61, 257-265.
- King, A. J., Uijttenboogaart, T. G. y de Vries, A. W. 1995. α -tocopherol, β -carotene and ascorbic acid as antioxidants in stored poultry muscle. *J. Food Sci.* 60(5), 1009-1012.
- Kingston, E. R., Monahan, F. J., Buckley, D. J. y Lynch, P. B. 1998. Lipid oxidation in cooked pork as affected by vitamin E, cooking and storage conditions. *J. Food Sci.* 63(3), 386-389.
- Kitts, D.D., 1997. An evaluation of the multiple effects of the antioxidant vitamins. *Trends Food Sci. Tech.* 8, 198-203.
- Klaus, A.M., Fuhrmann, H. y Sallmann, H.P. 1995. Peroxidative and antioxidative metabolism of the broiler chicken as influenced by dietary linoleic acid and vitamin E. *Arch. Geflügelk* 59(2), 135-144.
- Klont, R. E., Brocks, L. y Eikelenboom, G. 1998. Muscle fibre type and meat quality. *Meat Sci.* 49(1), S219-S229.

- Kornbrust, D.J. y Mavis, R.D. 1980. Relative susceptibility of microsomes from lung, heart, liver, kidney, brain and testes to lipid peroxidation: correction with vitamin E content. *Lipids* 15, 315-322.
- Krinsky, N.I. 1993. Actions of carotenoids in biological systems. *Annu. Rev. Nutr.* 13, 561-587.
- Kubow, S. 1990. Toxicity of dietary lipid peroxidation products. *Trends Food Sci. Tech.* 1(3), 67-71.
- Labuza, T. P. 1971. Kinetics of lipid oxidation in foods. *Food Technol.* 2, 355-405.
- Lambelet, P., Lölliger, J., Saucy, F. y Bracco, U. 1992. Antioxidant properties of coenzyme Q10 in food systems. *J. Agr. Food Chem.* 40, 581-584.
- Lauridsen, C., Buckley, D. J. y Morrissey, P. A. 1997. Influence of dietary fat and vitamin E supplementation on α -tocopherol levels and fatty acid profiles in chicken muscle membranal fractions and on susceptibility to lipid peroxidation. *Meat Sci.* 46(1), 9-22.
- Lauridsen, C., Holm Nielsen, J., Henckel, P. y Tang Sorensen, M. 1999. Antioxidative and oxidative status in muscles of pigs fed rapeseed oil, vitamin E and copper. *J. Animal Sci.* 77, 105-115.
- Lawrence, R.A. y Burk, R.F. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 71(4), 952.
- Lee, S. K., Mei, L. y Decker, E. A. 1996a. Lipid oxidation in cooked turkey as affected by added antioxidant enzymes. *J. Food Sci.* 61(4), 726-728.
- Lee, S.K., Mei, L. y Decker, E.A. 1996b. Role of antioxidant enzymes in the development of oxidative rancidity in cooked and salted muscle foods. *Meat Focus International* 5, 310-311.
- Lee, B. J., Hendricks, D. G. y Cornforth, D. P. 1999. A comparison of carnosine and ascorbic acid on color and lipid stability in a ground beef pattie model system. *Meat Sci.* 51, 245-253.
- Lees, P. y Shojaee Aliabadi, F. 2002. Rational dosing of antimicrobial drugs: animals versus humans. *Int. J. Antimicrob. Ag.* 19, 269-284.
- Lin, T. S. y Hultin, H. 1978. Glutathione peroxidase of skeletal muscle. *J. Food Biochem.* 2, 39-47.
- Little, C., Olinescu, R., Reid, K. G. y O'Brien, P. J. 1970. Properties and regulation of glutathione peroxidase. *J. Biol. Chem.* 245(14), 3632-3636.
- Liu, Q., Lanari, M. C. y Schaefer, D. M. 1995. A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *J. Anim. Sci.* 73, 3131-3140.

- Lo Fiego, D.P., Santoro, P., Macchioni, P., Mazzoni, D., Piattoni, F., Tassone, F. Y De Leonibus, E. 2004. The effect of dietary supplementation of vitamins C and E on the α -tocopherol content of muscles, liver and kidney, on the stability of lipids, and on certain meat quality parameters of the *longissimus dorsi* of rabbits. *Meat Sci.* 67, 319-327.
- Love, J. 1988. Sensory analysis of warmed-over flavor in meat. *Food Technol.* 140-143.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. y Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.
- Lyon, B.G. 1987. Development of chicken flavor descriptive attribute terms aided by multivariate statistical procedures. *J. Sens. Stud.* 2, 55-67.
- Lyon, B. G. 1988. Descriptive profile analysis of cooked, stored, and reheated chicken patties. *J. Food Sci.* 53(4), 1086-1090.
- Lyon, B.G. 1993. Sensory profile changes in broiler tissues due to cooking, storage and reheating. *Poultry Sci.* 72, 1981-1988.
- Lyon, B. G., Smith, D. P., Lyon, C. E. y Savage, E. M. 2004. Effects of diet and feed withdrawal on the sensory descriptive and instrumental profiles of broiler breast fillets. *Poultry Sci.* 83, 275-281.
- Macfie, H.J., Bratchell, N., Greenhoff, K. y Vallis, L.V. 1989. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *J. Sens. Stud.* 4, 129-148.
- Machlin, L.J. y Bendich, A. 1987. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J* 1, 441-445.
- Maestro Durán, R. y Borja Padilla, R. 1993. Actividad antioxidante de las vitaminas C y E y de la provitamina A. *Grasas y Aceites* 44(2), 107-111.
- Mahoney, J.R. y Graf, E. 1986. Role of α -tocopherol, ascorbic acid, citric acid and EDTA as oxidants in model systems. *J. Food Sci.* 51, 1293-1296.
- McKersie, B.D. 1996. www.agronomy.psu.edu/courses/AGRO518/Oxygen.htm.
- Maraschiello, C. 1998. Cholesterol oxidation and parameters related to lipid oxidation in raw and cooked meat from broilers fed dietary oils and fat, natural antioxidants and prooxidants. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España.
- Maraschiello, C., Sárraga, C. Y García Regueiro, J. A. 1999. Glutathione peroxidase activity, TBARS, and α -tocopherol in meat from chickens fed different diets. *J. Agric. Food Chem.*, 47(3), 867-872.

- Marklund, S. y G. Marklund. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* 47, 469-474.
- Martínez-Cayuela, M. 1998. Toxicidad de xenobióticos mediada por radicales libres de oxígeno. *Ars Pharmaceut.* 39(1), 5-18.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J.M. y Tuñón, M.J., 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp.* XVII, 271-278.
- Marusich, W.L., DeRitter, E., Ogrinz, E.F., Keating, J., Mitrovic, M. y Bunnell, R.H. 1975. Effect of supplemental vitamin E in control of rancidity in poultry meat. *Poultry Sci.* 54, 831-844.
- Marx, J.L. 1985. Oxygen free radicals linked to many diseases. *Science* 235, 529-531.
- Mata, P. 2002. Patologías asociadas al consumo de grasa. Estrategias de prevención. *Eurocarne* 106, 115-120.
- McDermott, P. F., Bodeis, S. M., English, L. L., White, D. G., Walker, R. D., Zhao, S., Simjee, S. y Wagner, D. D. 2002. Ciprofloxacin resistance in *Campylobacter jejuni* evolves rapidly in chickens treated with fluoroquinolones. *J. Infect. Dis.* 185, 837-840.
- Mei, L., Crum, A. D. y Decker, E. A. 1994. Development of lipid oxidation and inactivation of antioxidant enzymes in cooked pork and beef. *J. Food Lipids* 1, 273-283.
- Mercier, Y., Gatellier, P., Viau, M., Remignon, H. y Renerre, M. 1998. Effect of dietary fat and vitamin E on colour stability and on lipid and protein oxidation in turkey meat during storage. *Meat Sci.* 48(3/4), 301-318.
- Mercier, Y., Gatellier, P., Vincent, A. y Renerre, M. 2001. Lipid and protein oxidation in microsomal fraction from turkeys: influence of dietary fat and vitamin E supplementation. *Meat Sci.* 58, 125-134.
- Meydani, M., Fielding, A., Cannon, J. G., Blumberg, J. B. y Evans, W. J. 1997. Muscle uptake of vitamin E and its association with muscle fiber type. *Nutr. Biochem.* 8, 74-78.
- Meyer, A. S. y Isaksen, A. 1995. Application of enzymes as food antioxidants. *Trends Food Sci. Tech.* 6, 300-304.
- Mielnik, M., Herstad, O., Lea, P., Nordal, J. y Nilsson, A. 2002. Sensory quality of marinated frozen stored chicken thighs as affected by dietary fish fat and vitamin E. *Int. J. Food Sci. Tech.* 37, 29-39.
- Mitsumoto, M. Arnold, R.N. y Cassens R.G. 1993. Dietary versus post mortem supplementation of vitamin E on pigment and lipid stability in ground beef. *J. Anim. Sci.* 71, 1812-1816.

- Monahan, F. J. 2002. Oxidación de los lípidos de la carne y los productos cárnicos: implicaciones y prevención. *Eurocarne* 109, 89-96.
- Morrissey, P. A., Sheehy, P. J. A., Galvin, K., Kerry, J. P. y Buckley, D. J. 1998. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Sci.* 49(1), S73-S86.
- Morrissey, P.A., Buckley, D.J. y Galvin, K. 2000. «Vitamin E and the oxidative stability of pork and poultry». en *Antioxidants in muscle foods. Nutritional strategies to improve quality*, p. 199-227, Decker, E.A., Faustman, C. y López-Bote, C.J., eds. John Wiley and Sons, Inc.
- Mortensen, A. y Skibsted, L.H. 2000. «Antioxidant activity of carotenoids in muscle foods». en *Antioxidants in muscle foods. Nutritional strategies to improve quality*, p. 199-227, Decker, E.A., Faustman, C. y López-Bote, C.J., eds. John Wiley and Sons, Inc.
- Mottram, D.S. y Edwards, R.A. 1983. The role of triglycerides and phospholipids in the aroma of cooked beef. *J. Sci. Food Agric.* 34, 517-522.
- Mottram, D. S. 1998. Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chem.* 62(4), 415-424.
- Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., Núñez, M. J. y Parajó, J. C. 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem.* 72, 145-171.
- Muramoto, T., Nakanishi, N., Shibata, M. y Aikawa, K. 2003. Effect of dietary β -carotene supplementation on beef color stability during display of two muscles from Japanese Black steers. *Meat Sci.* 63, 39-42.
- Nam, K.T., Lee, H.A., Min, B.S. y Kang, C.W. 1997. Influence of dietary supplementation with linseed and vitamin E on fatty acids, α -tocopherol and lipid peroxidation in muscles of broiler chicks. *Anim. Feed Sci. Technol.* 66, 149-158.
- Nam, K.C., Min, B. R., Yan, H., Lee, E. J., Mendonca, A., Wesley, I. y Ahn, D. U. 2003. Effect of dietary vitamin E and irradiation on lipid oxidation, color, and volatiles of fresh and previously frozen turkey breast patties. *Meat Sci.* 65, 513-521.
- Nardone, A. y Valfrè, F. 1999. Effects of changing production methods on quality of meat, milk and eggs. *Livest. Prod. Sci.* 59, 165-182.
- Nguyen, M. L. y Schwartz, S. J. 1999. Lycopene: chemical and biological properties. *Food Technol.* 53(2), 38-45.
- Niki, E. 1987. Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chem. Phys. Lipids* 44, 227-253.

- Northcutt, J. K. 2003. *Factors affecting poultry meat quality*.
<http://www.ces.uga.edu/pubcd/b1157-w.html>.
- Olmedilla, B. 2002. Beneficios derivados del consumo de frutas y verduras y perspectivas de futuro. *Alimentaria*, 11-19.
- O'Neill, L. M., Galvin, K., Morrissey, P. A. y Buckley, D. J. 1998. Inhibition of lipid oxidation in chicken by carnosine and dietary α -tocopherol supplementation and its determination by derivative spectrophotometry. *Meat Sci.* 50(4), 479-488.
- Orden Gutiérrez, J. A. y de la Fuente López, R. 2001. Repercusiones en la salud pública de la resistencia a quinolonas en bacterias de origen animal. *Rev. Esp. Salud Pública*, 75, 313-320.
- Otero, J. L., Mestorino, N. y Errecalde, J. O. 2001a. Enrofloxacin: una fluoroquinolona de uso exclusivo en veterinaria. Parte I: química, mecanismo de acción, actividad antimicrobiana y resistencia bacteriana. *Anal. Vet.* 21(1), 31-41.
- Otero, J. L., Mestorino, N. y Errecalde, J. O. 2001b. Enrofloxacin una fluoroquinolona de uso exclusivo en veterinaria. Parte II: farmacocinética y toxicidad. *Anal. Vet.* 21(1), 42-49.
- Palozza, P. y Krinsky, N.I. 1991. The inhibition of radical-initiated peroxidation of microsomal lipids by both α -tocopherol and β -carotene. *Free Radical Biol. Med.* 11, 407-414.
- Palozza, P. y Krinsky, N.I. 1992. β -carotene and α -tocopherol are synergistic antioxidants. *Arch. Biochem. Biophys.* 297, 184-187.
- Papas, A. M. 1999. Diet and antioxidant status. *Food Chem. Toxicol.* 37, 999-1007.
- Pearson, A.M., Gray, J.I., Wolzak, A.M. y Horenstein, N.A. 1983. Safety implications of oxidized lipids in muscle foods. *Food Technol.*, 121-129
- Phillips, A. L., Faustman, C., Lynch, M. P., Govoni, K. E., Hoagland, T. A. y Zinn, S. A. 2001. Effect of dietary α -tocopherol supplementation on color and lipid stability in pork. *Meat Sci.* 58, 389-393.
- Poste, L. M., Willemot, C., Butler, G. y Patterson, C. 1986. Sensory aroma scores and TBA values as indices of warmed-over flavor in pork. *J. Food Sci.* 51(4), 886-888.
- Poste, L. M. 1990. A sensory perspective of effect of feeds on flavor in meats: poultry meats. *J. Anim. Sci.* 68, 4414-4420.
- Poste, L.M.G., Butler, N., Cave, A. y Burrows, V.D. 1996. Sensory analysis of meat from broiler chickens fed diets containing hulless oats (*Avena nuda*). *Can. J. Anim. Sci.* 76, 313-319.
- Pradhan, A. A., Rhee, K. S. y Hernández, P. 2000. Stability of catalase and its potential role in lipid oxidation in meat. *Meat Sci.* 54, 385-390.

- Rang, H.P., Dale, M.M. y Ritter, P.K. 2003 «Farmacocinética» en *Pharmacology* (Rang, H.P., Dale, M.M. y Ritter, P.K., eds.) p. 106-110, Churchill Livingstone, Edimburgo.
- Rao, A. V. y Agarwal, S. 1999. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. *Nutr. Res.* 19(2), 305-323.
- Rennerre, M., Dumont, F. y Gatellier, P. 1996. Antioxidant enzyme activities in beef in relation to oxidation of lipid and myoglobin. *Meat Sci.* 43(2), 111-121.
- Rennerre, M., Poncet, K., Mercier, Y., Gatellier, P. y Métro, B., 1999. Influence of dietary fat and vitamin E on antioxidant status of muscles of turkey. *J. Agr. Food Chem.* 47, 237-244.
- Rhee, K.S., Ziprin, Y.A. y Ordoñez, G. 1987. Catalysis of lipid oxidation in raw and cooked beef by metmyoglobin-H₂O₂, nonheme iron and enzyme systems. *J. Agric. Food Chem.* 35, 1013-1017.
- Rhee, K. S., Anderson, L. M. y Sams, A. R. 1996. Lipid oxidation potential of beef, chicken, and pork. *J. Food Sci.* 61(1), 8-12.
- Robak, J. y Gryglewski, R. 1988. Flavonoids are scavengers of superoxide radicals. *Biochem. Pharmacol.* 37, 837-841.
- Robbins, K., Jensen, J., Ryan, K. J., Homco-Ryan, C., McKeith, F. K. y Brewer, M. S. 2003. Dietary vitamin E supplementation effects on the color and sensory characteristics of enhanced beef steaks. *Meat Sci.* 64, 279-285.
- Rogstad, A., Hormazabal, V. y Yndestad, M. 1991. Extraction and high performance liquid chromatographic determination of enrofloxacin in fish serum and tissues. *J. Liq. Chromatogr.* 14(3), 521-531.
- Rojas, C., Cadenas, S., López-Torres, M., Pérez-Campo, R. y Barja, G. 1996. Increase in heart glutathione redox ratio and total antioxidant capacity and decrease in lipid peroxidation after vitamin E dietary supplementation in guinea pigs. *Free Radical Bio. Med.* 21(7), 907-915.
- Ruiz, J.A. 1999. Estabilidad oxidativa en músculo y carne de pollo. Efecto de la suplementación de grasas con diferentes grados de insaturación, antioxidantes y la retirada de Fe y Cu de la dieta. Tesis doctoral. Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, España.
- Ruiz, J. A., Pérez-Vendrell, A. M. y Esteve-García, E. 1999. Effect of β -carotene and vitamin E on oxidative stability in leg meat of broilers fed different supplemental fats. *J. Agric. Food Chem.* 47, 448-454.

- Ruiz, J. A., Guerrero, L., Arnau, J., Guardia, M. D. y Esteve-Garcia, E. 2001. Descriptive sensory analysis of meat from broilers fed diets containing vitamin E or β -carotene as antioxidants and different supplemental fats. *Poultry Sci.* 80, 976-982.
- Russell, E., Shaw, N. B., Kerry, J. P., Buckley, D. J., Lynch, P. B. y Morrissey, P. A. 2001. Influence of dietary supplementation with oils in the presence or absence of vitamin E on lipid peroxidation in duck meat en *Proceedings of the 47th International Congress of Meat Science and Technology*, p. 62-63, August 26th-31st, Kraków, Poland.
- SAS Institute Inc. 2000. SAS/STAT user's guide: release 8.1 edition. Statistical Analysis Systems Institute Inc., Cary, NC.
- Sánchez, A. 2002. Utilización de sistemas antioxidantes para prolongar la vida útil de hamburguesas de vacuno envasadas en atmósfera modificada. Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza.
- Sánchez-Moreno, C. y Larrauri, J. A. 1998. Main methods used in lipid oxidation dermination. *Food Sci. Technol. Int.* 4(6), 391-399.
- Sárraga, C. y García Regueiro, J. A. 2000. Suceptibilidad a la oxidación de la carne de ave y del jamón curado. *Eurocarne*, 92, 55-60.
- Sárraga, C., Carreras, I., Guàrdia, M.D. y Guerrero, L. 2001. Utilización del licopeno como antioxidante añadido a la dieta de pollos. *Eurocarne*, 98, 67-72.
- Sárraga, C., Carreras, I. y García Regueiro, J. A. 2002. Influence of meat quality and NaCl percentage on glutathione peroxidase activity and values for acid-reactive substances of raw and dry-cured Longissimus dorsi. *Meat Sci.* 62, 503-507.
- Shlosberg, A., Ershov, E., Bellaiche, M., Hanji, V., Weisman, Y. y Soback, S. 1995. The effects of enrofloxacin on hepatic microsomal mixed function oxidases in broiler chickens. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 18, 311-313.
- Schneider, M., y Donoghue, D. J. 2002. Multiresidue analysis of fluoroquinolone antibiotics in chicken tissue using liquid chromatography-fluorescence-multiple mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 780, 83-92.
- Schwimmer, S. 1981a. «Peroxidases, other enzymes and adequacy of heat treatment and regeneration» en *Source Book of Food Enzymology*, p. 202-217, The AVI Publishing Company, INC Westport, Connecticut, USA.
- Schwimmer, S. 1981b. «Enzymatic aspects of color change and retention in meat and fish» en *Source Book of Food Enzymology*, p. 315-325, The AVI Publishing Company, INC Westport, Connecticut, USA.

- Sen, C.K., Roy, S. y Packer, L. 1999. « α -Lipoic acid: cell regulatory function and potential therapeutic implications» en *Antioxidant Food Supplements in Human Health* (Packer, L., Hiramatsu, M. y Yoshikawa, T., eds.) p. 111-119, Academic Press, California, USA.
- Serrano, L. 2002. «Actualización en farmacocinética en avicultura» en *Primer Seminario Internacional AMEVEA Perú 2002, Lima, Perú*.
<http://www.apavic.com/html/sections/presentaciones/amevea2.asp>.
- Sevanian, A. y Hochstein, P. 1985. Mechanism and consequences of lipid peroxidation in biological systems. *Ann. Rev. Nutr.* 5, 365-390.
- Shacter. 2000. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab. Rev.* 32 (3&4), 307-326.
- Shaefer, D.M., Liu, Q., Faustman, C y Yin, M.C. 1995. Supranutritional administration of vitamins E and C improves oxidative stability of beef. *J. Nutr.* 125, 1792-1798.
- Sheehy, P.J.A., Morrissey, P.A. y Flynn, A. 1991. Influence of dietary α -tocopherol on tocopherol concentrations in chick tissues. *Brit. Poultry Sci.* 32, 391-397.
- Sheldon, B. W., Curtis, P. A., Dawson, P. L. y Ferket, P. R. 1997. Effect of dietary vitamin E on the oxidative stability, flavor, color, and volatile profiles of refrigerated and frozen turkey breast meat. *Poultry Sci.* 76, 634-641.
- Shlosberg, A., Ershov, E., Bellaiche, M., Hanji, V., Weisman, Y. y Soback, S. 1995. The effects of enrofloxacin on hepatic microsomal mixed function oxidases in broiler chickens. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 18, 311-313.
- Shlosberg, A., Ershov, E., Bellaiche, M., Hanji, V., Weisman, Y. y Soback, S. 1997. The inhibitory effects of the fluoroquinolone antimicrobials norfloxacin and enrofloxacin on hepatic microsomal cytochrome P-450 monooxygenases in broiler chickens. *Drug Metab. Drug Interact.* 14(2), 109-122.
- Simic, M.G. 1981. Free radical mechanisms in autoxidation processes. *J. Chem. Educ.* 58(2), 125-131.
- Sklan, D., Tenne, Z. y Budowski, P. 1983. The effect of dietary fat and tocopherol on lipolysis and oxidation in turkey meat stored at different temperatures. *Poultry Sci.* 62, 2017-2021.
- Sosnicki, A.A., Cassens, R.G., Vimini, R.J. y Greaser, M.L. 1991. Distribution of capillaries in normal and ischemic turkey skeletal muscle. *Poultry Sci.* 70, 349-357.
- Souza, M. J., Bittencourt, C. F. y Morsch, L. M. 2002. LC determination of enrofloxacin. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 28, 1195-1199.

- Spiteller, G. 2001.** Lipid peroxidation in aging and age-dependent diseases. *Exp. Gerontol.* *36*, 1425-1457.
- St. Angelo, A.J., Vercellotti, J.R., Legendre, M.G., Vinnett, C.H., Kuan, J.W., James, C. J.R. y Dupuy, H.P. 1987.** Chemical and instrumental analysis of warmed-over flavour in beef. *J. Food Sci.* *52*, 1163-1168.
- Stadelman, W.J., Olson, V.M., Shemwell, G.A. y Pasch, S. 1988.** «Nutritional value of poultry meat» en *Egg and Poultry-Meat Processing* (Morton, I.D., Scott, R., Watson, D.H. y Lewis, M., eds.) p. 92-122, Ellis Horwood Series in Food Science and Technology, VCH Publishers, England.
- Stahl, W. y Sies, H. 1996.** Perspectives in biochemistry and biophysics. *Arch. Biochem. Biophys.* *336(1)*, 1-9.
- Stahl, W. y Sies, H. 1999.** «Carotenoids: occurrence, biochemical activities and bioavailability» en *Antioxidant Food Supplements in Human Health* (Packer, L., Hiramatsu, M. y Yoshikawa, T., eds.) p. 183-202, Academic Press, California, USA.
- Stone, H., Sidel, J., Oliver, S., Woolsey, A. y Singleton, R. C. 1974.** Sensory evaluation by Quantitative Descriptive Analysis. *Food Technol.* *28*, 24-34.
- Stratton, C. W. 1998.** Antimicrobics and infectious diseases newsletter. *AIDIEX*, *17(8)*, 57-64.
- Su, Y., Ang, C. Y. W. y Lillard, D. A. 1991.** Precooking method affects warmed-over flavor of broiler breast patties. *J. Food Sci.* *56(4)*, 881-898.
- Subagio, A. y Morita, N. 2001.** Instability of carotenoids is a reason for their promotion on lipid oxidation. *Food Res. Int.* *34*, 183-188.
- Sumano, L. H., Ocampo, C. L., Brumbaugh, G. W. y Lizarraga, R. E. 1998.** Effectiveness of two fluoroquinolones for the treatment of chronic respiratory disease outbreak in broilers. *Brit. Poultry Sci.* *39*, 42-46.
- Tang, S. Z., Kerry, J. P., Sheehan, D., Buckley, D. J. y Morrissey, P. A. 2001.** Antioxidative effect of dietary tea catechins on lipid oxidation of long-term frozen stored chicken meat. *Meat Sci.* *57*, 331-336.
- Tang, S.Z., Kerry, J.P., Sheehan, D. y Buckley, D.J. 2002.** Antioxidative mechanisms of tea catechins in chicken meat systems. *Food Chem.* *76*, 45-51.
- Tarbin, J. A., Tyler, D. J. y Shearer, G. 1992.** Analysis of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in bovine and porcine muscle by high-performance liquid chromatography following cation exchange clean-up. *Food Addit. Contam.* *9(4)*, 345-350.

- Terao, J. 1999. «Dietary flavonoids as plasma antioxidants on lipid peroxidation: significance of metabolic conversion» en *Antioxidant Food Supplements in Human Health* (Packer, L., Hiramatsu, M. y Yoshikawa, T., eds.) p. 255-268, Academic Press, California, USA.
- Thompson, R.H., McMurray, C.H. y Blanchflower, W.J. 1976. The levels of selenium and glutathione peroxidase activity in blood of sheep, cows and pigs. *Res. Vet. Sci.* 20, 229.
- Thompson, D. y Moldéus, P. 1988. Cytotoxicity of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene in isolated rat hepatocytes. *Byochem. Pharmacol.* 37, 2201-2207.
- Tims, M.J. y Watts, B.M. 1958. Protection of cooked meats with phosphates. *Food Technol.* 12, 240-243.
- Traber, M.G., Serbinova, E.A. y Packer, L. 1999. «Biological activities of tocotrienols and tocopherols» en *Antioxidant Food Supplements in Human Health* (Packer, L., Hiramatsu, M. y Yoshikawa, T., eds.) p. 55-86, Academic Press, California, USA.
- Trush, M.A., Mimnaugh, E.G. y Gram, T.E. 1982. Activation of pharmacologic agents to radical intermediates. Implications for the roles of free radicals in drug action and toxicity. *Biochem. Pharmac.* 31, 3335-3343.
- UNE 87004:1979. «Análisis sensorial. Guía para la instalación de una sala de cata» en *Análisis sensorial. Tomo I-Alimentación*. Asociación Española de Normalización (AENOR), p. 57-62, (1997) Madrid, España.
- UNE 87001:1994. «Análisis sensorial. Vocabulario (ISO 5492:1992)» en *Análisis sensorial. Tomo I-Alimentación*. Asociación Española de Normalización (AENOR), p. 19-54, (1997) Madrid, España.
- UNE 87003:1995. «Análisis sensorial. Metodología. Método de investigación de la sensibilidad gustativa (ISO 3972:1991)» en *Análisis sensorial. Tomo I-Alimentación*. Asociación Española de Normalización (AENOR), p. 19-54, (1997) Madrid, España.
- UNE 87025:1996. «Análisis sensorial. Metodología. Perfil de textura (ISO 1036:1994)» en *Análisis sensorial. Tomo I-Alimentación*. Asociación Española de Normalización (AENOR), p. 19-54, (1997) Madrid, España.
- Ursini, F., Maiorino, M. y Gregolin, C. 1985. The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biochem. Biophys. Acta* 839, 62-70.
- Vaccaro, E., Giorgi, M., Longo, V., Mengozzi, G. y Gervasi, P. G. 2003. Inhibition of cytochrome P450 enzymes by enrofloxacin in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquat. Toxicol.* 62, 27-33.

- Valenzuela, A. y Nieto, S. 1996. Synthetic and natural antioxidants: food quality protectors. *Grasas y Aceites* 47(3), 186-196.
- Van Hoff, J. 1979. Influence of *ante* and *peri-mortem* factors on biochemical and physical characteristics of turkey breast muscle. *Vet Quart* 1, 29-36.
- Vancutsem, P.M. y Babish, J.G. 1996. In vitro and in vivo study of the effects of enrofloxacin on hepatic cytochrome P450. Potential for drug interaction. *Vet. Hum. Toxicol.* 38(4), 254-259.
- Vara-Ubol, S. y Bowers, J. A. 2002. Inhibition of oxidative flavor changes in meat by α -tocopherol in combination with sodium tripolyphosphate. *Food Chem. Toxicol.* 67(4), 1300-1307.
- Vega, J.D. y Brewer, M.S. 1994. Detectable odor thresholds of selected lipid oxidation compounds at various temperatures in a gelatin model system. *J. Food Lipids* 1(3), 229-245.
- Vile, G. F. y Winterbourn, C. C. 1988. Inhibition of adriamycin-promoted microsomal lipid peroxidation by β -carotene, α -tocopherol and retinal at high and low oxygen partial pressures. *FEBS lett.* 238, 353-356.
- Wang, X. y Quinn, P. J. 1999. Vitamin E and its function in membranes. *Prog. Lipid Res.* 38, 309-336.
- Weisburger, J. H. 2000. Eat to live, not live to eat. *Nutrition*, 16, 767-773.
- Wen, J., Morrissey, P. A., Buckley, D. J. y Sheehy, P. J. A. 1997. Supranutritional vitamin E supplementation in pigs: influence on subcellular deposition of α -tocopherol and on oxidative stability by conventional and derivative spectrophotometry. *Meat Sci.* 47(3/4), 301-310.
- Wenk, C., Leonhardt, M., Scheeder, M.R.L. 2000. «Monogastric nutrition and potencial for improving muscle quality». en *Antioxidants in muscle foods. Nutritional strategies to improve quality*, p. 199-227, Decker, E.A., Faustman, C. y López-Bote, C.J., eds. John Wiley and Sons, Inc.
- Wilkinson, C., Dijksterhuis, G. B. y Minekus, M. 2000. From food structure to texture. *Trends Food Sci. Tech.* 11, 442-450.
- Williams, G.M., Iatropoulos, M.J. y Whysner, J., 1999. Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. *Food Chem. Toxicol.* 37, 1027-1038.

- Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E., Sheard, P. R. y Enser, M. 2003. Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Sci.* 66, 21-32.
- WPSA. 1987. Working Group No.5. Mead, G.C. Recommendation for a standardized method of sensory analysis for broilers. *World's Poultry Sci. J.* 43, 64-68.
- Yamauchi, K., Nagai, Y. y Ohashi, T. 1982. Quantitative relationship between alpha-tocopherol and polyunsaturated fatty acids and its connection to development of oxidative rancidity in chicken skeletal muscle. *Agric. Biol. Chem.* 46, 2719-2724.
- Yamauchi, K., Yada, K., Ohashi, T. y Pearson, A. M. 1984. The interrelationship between polyunsaturated fatty acids, α -tocopherol and glutathione peroxidase in chicken and porcine skeletal muscles. *J. Agric. Biol. Chem.* 48(11), 2831-2832.
- Yeh, S. y Hu, M. 2000. Antioxidant and pro-oxidant effects of lycopene in comparison with β -carotene on oxidant-induced damage in Hs68 cells. *J. Nutr. Biochem.* 11, 548-554.
- Yorke, J. C., y Froc, P. 2000. Quantitation of nine quinolones in chicken tissues by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr. A* 882, 63-77.
- Young, J.F., Stagsted, J., Jensen, S. K., Karlsson, A. H. y Henckel, P. 2003. Ascorbic acid, α -tocopherol, and oregano supplements reduce stress-induced deterioration of chicken meat quality. *Poultry Sci.* 82, 1343-1351.
- Yu, B.P. 1994. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol. Rev.* 74, 139-162.
- Yu, L., Scanlin, L., Wilson, J. y Schmidt, G. 2002. Rosemary extracts as inhibitors of lipid oxidation and color change in cooked turkey products during refrigerated storage. *Food Chem. Toxicol.* 67(2), 582-585.

8. ANEXOS

Tabla 1. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento T1 (control) de pechuga de pollo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	0.45					
SOD	-0.04	-0.31				
Vit E	-0.17	-0.28	0.56			
TBARS 150	-0.12	-0.41	-0.09	0.11		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacina	-	-	-	-	-	-

¹n=10

Tabla 2. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento T2 (50 ppm enrofloxacina sin retirada) de pechuga de pollo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	0.11					
SOD	0.14	-0.05				
Vit E	-0.20	-0.09	-0.36			
TBARS 150	0.55	0.11	0.27	0.20		
Ciprofloxacina	-0.46	-0.06	-0.56	0.18	-0.02	
Enrofloxacina	-0.48	0.37	-0.60	-0.00	-0.33	0.61

¹n=10

Tabla 3. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento T3 (50 ppm enrofloxacina con retirada) de pechuga de pollo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	-0.14					
SOD	-0.04	-0.41				
Vit E	-0.01	0.05	-0.58			
TBARS 150	-0.65	-0.44	0.38	-0.17		
Ciprofloxacina	-0.15	-0.24	0.10	0.35	0.19	
Enrofloxacina	0.03	-0.48	0.39	0.04	0.23	0.87

¹n=10

Tabla 4. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento T4 (100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada) de pechuga de pollo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	-0.16					
SOD	-0.04	0.40				
Vit E	0.14	-0.26	-0.08			
TBARS 150	0.14	-0.32	-0.06	0.34		
Ciprofloxacina	-0.32	0.12	-0.13	-0.52	-0.25	
Enrofloxacin	-0.32	0.12	-0.09	-0.18	0.14	0.67

¹n=10

Tabla 5. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento T5 (100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada) de pechuga de pollo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	0.30					
SOD	0.08	-0.33				
Vit E	0.01 ²	-0.48 ²	0.41 ²			
TBARS 150	0.15 ³	-0.16 ³	0.50 ³	0.53 ³		
Ciprofloxacina	0.07	0.34	-0.58	0.27 ²	0.35 ³	
Enrofloxacin	-0.14	0.16	-0.58	0.21 ²	0.27 ³	0.92

¹n=10

²n=9

³n=8

Tabla 6. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento T6 (30 ppm vitamina E) de pechuga de pollo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	-0.04					
SOD	0.04	-0.03				
Vit E	0.16	-0.49	-0.23			
TBARS 150	0.32	0.17	-0.61	0.02		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacin	-	-	-	-	-	-

¹n=10

Tabla 7. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento T7 (10 ppm licopeno) de pechuga de pollo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	-0.29					
SOD	-0.01	-0.17				
Vit E	-0.04	0.01	-0.43			
TBARS 150	-0.26	-0.33	-0.16	-0.34		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacina	-	-	-	-	-	-

¹n=10

Tabla 8. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento T8 (30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno) de pechuga de pollo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	-0.15					
SOD	-0.55	-0.04				
Vit E	0.49	-0.22	-0.20			
TBARS 150	0.31	-0.08	-0.65	-0.34		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacina	-	-	-	-	-	-

¹n=10

Tabla 9. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento T1 (control) de muslo de pollo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	0.51					
SOD	0.27	0.17				
Vit E	0.31 ²	0.27 ²	-0.22 ²			
TBARS 150	-0.15 ²	0.07 ²	-0.69 ²	0.54		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacina	-	-	-	-	-	-

¹n=10

²n=9

Tabla 10. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento T2 (50 ppm enrofloxacina sin retirada) de muslo de pollo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	0.36					
SOD	0.21	-0.09				
Vit E	0.36	0.56	-0.07			
TBARS 150	-0.35	-0.46	-0.03	-0.21		
Ciprofloxacina	0.05	-0.07	-0.39	-0.09	0.29	
Enrofloxacina	0.27	0.24	0.22	-0.25	-0.27	-0.19

¹n=9

Tabla 11. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento T3 (50 ppm enrofloxacina con retirada) de muslo de pollo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	0.23					
SOD	-0.27	-0.03				
Vit E	0.10	0.18	-0.01			
TBARS 150	-0.38	0.02	-0.15	0.11		
Ciprofloxacina	0.35	0.14	-0.54	-0.29	0.29	
Enrofloxacina	0.05	-0.01	-0.45	-0.61	0.28	0.75

¹n=10

Tabla 12. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento T4 (100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada) de muslo de pollo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	-0.28					
SOD	-0.19	0.31				
Vit E	0.46	0.42	0.04			
TBARS 150	-0.09	-0.09	0.12	-0.48		
Ciprofloxacina	0.13	0.05	0.16	-0.20	0.48	
Enrofloxacin	-0.02	0.16	0.11	-0.20	0.33	0.82

¹n=10

Tabla 13. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento T5 (100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada) de muslo de pollo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	0.47					
SOD	0.57	0.40				
Vit E	0.08 ²	0.06 ²	-0.03 ²			
TBARS 150	-0.69 ²	-0.45 ²	-0.70 ²	-0.55 ²		
Ciprofloxacina	-0.40	-0.14	-0.59	0.63 ³	0.57 ³	
Enrofloxacin	-0.01	-0.07	-0.26	0.32 ³	0.45 ³	0.85

¹n=10

²n=9

³n=8

Tabla 14. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento T6 (30 ppm vitamina E) de muslo de pollo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	-0.28					
SOD	0.01	0.45				
Vit E	0.47	-0.19	0.64			
TBARS 150	0.28	0.40	-0.17	-0.00		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacin	-	-	-	-	-	-

¹n=10

Tabla 15. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento T7 (10 ppm licopeno) de muslo de pollo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	0.15					
SOD	0.26	0.10				
Vit E	-0.29	-0.30	-0.19			
TBARS 150	0.12	0.01	0.02	-0.35		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacina	-	-	-	-	-	-

¹n=12

Tabla 16. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento T8 (30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno) de muslo de pollo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	0.12					
SOD	-0.09	-0.22				
Vit E	0.12	-0.24	-0.24			
TBARS 150	0.21	0.37	0.04	-0.55		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacina	-	-	-	-	-	-

¹n=10

Tabla 17. Coeficientes de correlación entre enzimas para el tratamiento T1 (control) de hígado de pollo¹.

	GSHPx	CAT
CAT	-0.07	
SOD	0.70	-0.57

¹n=9

Tabla 18. Coeficientes de correlación entre enzimas para el tratamiento T2 (50 ppm enrofloxacin sin retirada) de hígado de pollo¹.

	GSHPx	CAT
CAT	0.42	
SOD	-0.08	-0.16

¹n=9

Tabla 19. Coeficientes de correlación entre enzimas para el tratamiento T3 (50 ppm enrofloxacin con retirada) de hígado de pollo¹.

	GSHPx	CAT
CAT	-0.19	
SOD	0.76	-0.37

¹n=10

Tabla 20. Coeficientes de correlación entre enzimas para el tratamiento T4 (100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada) de hígado de pollo¹.

	GSHPx	CAT
CAT	-0.12	
SOD	0.32	-0.01

¹n=10

Tabla 21. Coeficientes de correlación entre enzimas para el tratamiento T5 (100 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada) de hígado de pollo¹.

	GSHPx	CAT
CAT	-0.08	
SOD	0.43	-0.67

¹n=10Tabla 22. Coeficientes de correlación entre enzimas para el tratamiento T6 (30 ppm vitamina E) de hígado de pollo¹.

	GSHPx	CAT
CAT	0.19	
SOD	-0.08	0.16

¹n=10Tabla 23. Coeficientes de correlación entre enzimas para el tratamiento T7 (10 ppm licopeno) de hígado de pollo¹.

	GSHPx	CAT
CAT	0.39	
SOD	0.20	-0.32

¹n=12Tabla 24. Coeficientes de correlación entre enzimas para el tratamiento T8 (30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno) de hígado de pollo¹.

	GSHPx	CAT
CAT	0.41	
SOD	0.54	0.31

¹n=10

Tabla 25. Coeficientes de correlación entre variables sensoriales, vitamina E y TBARS 150 para el tratamiento T1 (control) de pechuga de pollo ¹.

	Vit E	TBARS 150	Intensidad color	Hematomas	Intensidad olor	Olor hígado	WOF	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad
TBARS 150	0.11											
Intensidad color	-0.53	-0.30										
Hematomas	0.68	0.34	-0.32									
Intensidad Olor	-0.57	-0.32	0.06	-0.44								
Olor hígado	-0.07	-0.59	-0.40	-0.01	0.31							
WOF	0.63	0.14	-0.14	0.44	-0.38	-0.12						
Rancidez	0.32	-0.04	0.14	0.45	0.16	-0.24	0.26					
Jugosidad	0.09	0.62	-0.19	0.10	-0.06	-0.29	0.62	-0.16				
Dureza	0.34	-0.71	0.11	0.19	-0.32	0.40	0.04	0.21	-0.73			
Pastosidad	0.11	0.38	-0.59	0.32	0.04	0.28	0.26	-0.01	0.61	-0.58		
Fibrosidad	-0.00	-0.71	0.41	-0.03	0.13	0.13	-0.38	0.34	-0.87	0.71	-0.55	
Adhesividad	-0.13	-0.24	-0.39	-0.11	0.67	0.44	-0.60	0.10	-0.45	-0.01	0.33	0.36

¹ n=8

Tabla 26. Coeficientes de correlación entre variables sensoriales, vitamina E y TBARS 150 para el tratamiento T6 (30 ppm vitamina E) de pechuga de pollo¹.

	Vit E	TBARS 150	Intensidad color	Hematomas	Intensidad olor	Olor hígado	WOF	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad
TBARS 150	0.02											
Intensidad color	0.64	-0.05										
Hematomas	0.61	0.47	0.76									
Intensidad Olor	-0.11	-0.49	0.25	-0.29								
Olor hígado	0.18	-0.71	0.13	-0.45	0.65							
WOF	-0.26	0.13	-0.34	-0.22	-0.29	-0.42						
Rancidez	0.43	0.14	0.64	0.55	0.03	0.23	-0.78					
Jugosidad	-0.62	-0.53	-0.50	-0.84	0.67	0.42	0.11	-0.54				
Dureza	0.07	0.29	0.43	0.46	-0.21	0.00	-0.48	0.68	-0.55			
Pastosidad	-0.89	-0.06	-0.46	-0.57	0.39	-0.11	0.27	-0.46	0.77	-0.35		
Fibrosidad	0.28	0.30	0.76	0.75	0.00	-0.19	-0.17	0.43	-0.56	0.73	-0.33	
Adhesividad	-0.21	0.05	-0.01	0.07	-0.53	-0.45	0.64	-0.27	-0.25	0.18	0.11	0.23

¹ n=8

Tabla 27. Coeficientes de correlación entre variables sensoriales, vitamina E y TBARS 150 para el tratamiento T7 (10 ppm licopeno) de pechuga de pollo¹.

	Vit E	TBARS 150	Intensidad color	Hematomas	Intensidad olor	Olor hígado	WOF	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad
TBARS 150	-0.34											
Intensidad color	-0.59	0.18										
Hematomas	0.02	-0.38	0.42									
Intensidad Olor	-0.38	0.17	0.58	0.29								
Olor hígado	-0.30	0.18	0.36	-0.15	0.82							
WOF	-0.05	-0.18	0.42	0.03	0.18	-0.09						
Rancidez	-0.36	0.37	-0.13	0.20	-0.07	-0.46	0.01					
Jugosidad	0.27	0.65	-0.01	-0.38	0.06	0.28	-0.20	-0.33				
Dureza	-0.43	-0.41	-0.21	0.13	-0.13	-0.09	-0.42	0.27	-0.77			
Pastosidad	-0.31	-0.60	-0.01	0.45	0.29	0.24	-0.36	0.01	-0.61	0.76		
Fibrosidad	-0.12	-0.18	-0.35	-0.44	-0.03	0.01	0.24	0.26	-0.50	0.40	0.03	
Adhesividad	-0.40	-0.31	-0.07	0.50	0.14	-0.14	-0.19	0.57	-0.76	0.78	0.82	0.19

¹ n=8

Tabla 28. Coeficientes de correlación entre variables sensoriales, vitamina E y TBARS 150 para el tratamiento T8 (30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno) de pechuga de pollo¹.

	Vit E	TBARS 150	Intensidad color	Hematomas	Intensidad olor	Olor hígado	WOF	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad
TBARS 150	-0.34											
Intensidad color	-0.10	0.43										
Hematomas	0.42	-0.37	-0.05									
Intensidad Olor	-0.58	0.71	0.28	-0.54								
Olor hígado	-0.11	0.44	-0.03	-0.43	0.70							
WOF	-0.51	0.43	0.19	-0.35	0.21	0.26						
Rancidez	-0.03	-0.11	-0.19	0.35	0.26	-0.12	-0.67					
Jugosidad	-0.68	0.60	0.40	-0.36	0.80	0.38	0.56	0.13				
Dureza	0.18	-0.31	-0.85	0.02	-0.24	0.34	0.03	-0.15	-0.41			
Pastosidad	0.39	-0.48	-0.12	-0.24	-0.33	0.07	0.47	-0.64	-0.08	0.26		
Fibrosidad	0.52	-0.14	-0.09	0.42	0.17	0.36	-0.65	0.59	-0.18	0.10	-0.33	
Adhesividad	0.64	-0.40	-0.05	-0.30	-0.22	0.33	-0.12	-0.50	-0.48	0.36	0.56	0.11

¹ n=8

Tabla 29. Coeficientes de correlación entre variables sensoriales, vitamina E y TBARS 150 para el tratamiento T1 (control) de muslo de pollo¹.

	Vit E	TBARS 150	Amarillo piel	Rosa piel	Intens. color	Unif. color	Color grasa	Confor.	Plumas	Olor rancio	Olor crudo	Olor sangre	WOF	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad	
TBARS 150	0.54																		
Amarillo piel	0.30	-0.40																	
Rosa piel	0.43	-0.43	0.88																
Intens. color	-0.04	0.03	0.69	0.35															
Unif. color	-0.47	-0.14	-0.37	-0.69	0.00														
Color grasa	0.10	-0.16	0.36	0.54	0.06	-0.47													
Confor.	0.25	0.03	-0.24	0.20	-0.46	-0.71	0.29												
Plumas	-0.09	-0.48	-0.46	-0.30	-0.48	0.23	-0.37	0.42											
Olor rancio	-0.42	-0.20	0.19	0.07	0.48	0.17	0.30	-0.06	0.04										
Olor crudo	0.40	-0.01	0.49	0.34	0.24	0.01	0.35	-0.55	-0.76	-0.17									
Olor sangre	0.10	-0.26	0.36	0.17	0.11	0.32	0.36	-0.67	-0.53	-0.11	0.87								
WOF	-0.30	0.56	-0.65	-0.45	-0.33	-0.23	-0.28	0.61	0.36	-0.13	-0.80	-0.84							
Rancidez	0.79	0.28	0.01	-0.04	0.13	-0.12	-0.17	-0.03	-0.21	-0.27	0.38	0.04	-0.15						
Jugosidad	-0.55	0.18	-0.06	0.12	-0.21	-0.34	0.00	0.33	0.03	-0.06	-0.44	-0.39	0.51	-0.74					
Dureza	0.21	-0.58	-0.24	-0.14	-0.48	0.32	0.30	0.06	0.43	-0.01	0.13	0.40	-0.36	0.05	-0.53				
Pastosidad	-0.49	0.22	-0.71	-0.54	-0.79	0.24	-0.03	0.11	0.17	-0.25	-0.17	0.04	0.34	-0.47	0.46	0.21			
Fibrosidad	0.19	-0.75	0.14	-0.02	-0.03	0.57	-0.29	-0.44	0.42	-0.13	0.16	0.42	-0.58	0.07	-0.53	0.61	-0.20		
Adhesividad	0.04	0.09	0.58	0.27	0.77	0.01	-0.42	-0.50	-0.35	-0.05	0.14	-0.01	-0.18	0.14	0.01	-0.67	-0.66	0.11	

¹n=8

Tabla 30. Coeficientes de correlación entre variables sensoriales, vitamina E y TBARS 150 para el tratamiento T6 (30 ppm vitamina E) de muslo de pollo¹.

	Vit E	TBARS 150	Amarillo piel	Rosa piel	Intens. color	Unif. color	Color grasa	Confor.	Plumas	Olor rancio	Olor crudo	Olor sangre	WOF	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad	
TBARS 150	-0.00																		
Amarillo piel	-0.60	0.04																	
Rosa piel	0.41	0.11	-0.11																
Intens. color	-0.17	0.08	0.17	0.45															
Unif. color	0.48	-0.13	-0.64	-0.39	-0.31														
Color grasa	0.32	0.36	-0.52	0.61	0.52	-0.15													
Confor.	-0.36	-0.03	0.19	-0.26	-0.72	-0.30	-0.39												
Plumas	0.17	0.36	0.14	-0.32	-0.73	0.28	-0.58	0.37											
Olor rancio	0.20	-0.40	-0.28	0.19	0.24	0.36	-0.04	-0.51	-0.14										
Olor crudo	-0.25	0.11	0.41	-0.68	-0.39	0.21	-0.64	0.31	0.49	-0.58									
Olor sangre	-0.70	0.04	0.61	-0.68	0.23	-0.05	-0.47	-0.08	-0.01	-0.23	0.65								
WOF	-0.16	-0.54	-0.09	0.02	0.68	-0.02	0.27	-0.56	-0.87	0.39	-0.36	0.24							
Rancidez	0.22	-0.45	-0.40	-0.01	-0.58	0.06	0.02	0.62	-0.07	-0.31	0.00	-0.48	-0.12						
Jugosidad	-0.05	0.31	0.24	-0.61	-0.20	0.44	-0.53	-0.22	0.65	0.10	0.53	0.54	-0.26	-0.61					
Dureza	-0.20	-0.11	0.19	-0.65	0.14	0.48	-0.41	-0.34	0.02	-0.06	0.70	0.79	0.29	-0.33	0.58				
Pastosidad	0.33	-0.08	-0.57	0.47	-0.08	-0.22	0.67	0.18	-0.38	-0.01	-0.71	-0.77	0.10	0.59	-0.73	-0.78			
Fibrosidad	-0.34	-0.11	0.58	0.16	0.82	-0.29	-0.06	-0.61	-0.42	0.27	-0.02	0.55	0.56	-0.71	0.14	0.42	-0.53		
Adhesividad	-0.36	0.17	0.14	0.65	0.50	-0.71	0.49	0.10	-0.49	0.07	-0.63	-0.25	0.14	-0.08	-0.64	-0.63	0.41	0.22	

¹n=8

Tabla 31. Coeficientes de correlación entre variables sensoriales, vitamina E y TBARS 150 para el tratamiento T7 (10 ppm licopeno) de muslo de pollo¹.

	Vit E	TBARS 150	Amarillo piel	Rosa piel	Intens. color	Unif. color	Color grasa	Confor.	Plumas	Olor rancio	Olor crudo	Olor sangre	WOF	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad	
TBARS 150	-0.35																		
Amarillo piel	-0.17	0.13																	
Rosa piel	0.28	0.26	0.81																
Intens. color	-0.25	0.12	0.79	0.70															
Unif. color	0.46	0.22	0.47	0.52	0.04														
Color grasa	0.64	0.35	0.26	0.56	0.12	0.79													
Confor.	0.16	-0.64	-0.40	-0.41	-0.38	-0.40	-0.35												
Plumas	0.60	-0.19	-0.06	0.10	0.08	0.43	0.68	-0.13											
Olor rancio	-0.04	0.61	-0.12	0.17	0.14	-0.17	-0.03	-0.31	-0.29										
Olor crudo	-0.45	-0.06	0.79	0.35	0.50	0.35	-0.10	-0.42	-0.18	-0.36									
Olor sangre	-0.49	-0.11	0.86	0.45	0.73	0.17	-0.19	-0.29	-0.22	-0.22	0.92								
WOF	-0.62	0.34	0.05	-0.11	0.53	-0.46	-0.20	-0.32	0.05	0.29	0.03	0.21							
Rancidez	0.55	-0.35	0.19	0.28	-0.26	0.52	-0.34	0.02	0.18	-0.59	0.24	0.01	-0.81						
Jugosidad	-0.40	-0.06	-0.36	-0.40	0.04	-0.75	-0.54	0.56	-0.34	0.35	-0.44	-0.15	0.49	-0.80					
Dureza	0.56	0.21	0.36	0.57	0.13	0.77	0.85	-0.54	0.61	-0.26	0.18	-0.01	-0.30	0.64	-0.87				
Pastosidad	0.25	0.31	-0.57	-0.36	-0.63	0.11	0.34	-0.19	0.29	-0.13	-0.44	-0.71	-0.12	0.27	-0.35	0.42			
Fibrosidad	-0.07	0.60	0.40	0.44	0.12	0.47	0.36	-0.83	-0.09	0.07	0.42	0.19	-0.08	0.39	-0.74	0.65	0.39		
Adhesividad	-0.71	0.41	0.20	0.03	0.43	-0.43	-0.33	-0.56	-0.32	0.16	0.31	0.33	0.70	-0.34	0.06	-0.09	0.07	0.47	

¹n=8

Tabla 32. Coeficientes de correlación entre variables sensoriales, vitamina E y TBARS 150 para el tratamiento T8 (30 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno) de muslo de pollo¹.

	Vit E	TBARS 150	Amarillo piel	Rosa piel	Intens. color	Unif. color	Color grasa	Confor.	Plumas	Olor rancio	Olor crudo	Olor sangre	WOF	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad	
TBARS 150	-0.55																		
Amarillo piel	-0.18	-0.00																	
Rosa piel	-0.26	-0.05	0.76																
Intens. color	-0.34	-0.24	0.55	0.39															
Unif. color	0.48	-0.12	-0.27	-0.52	-0.21														
Color grasa	-0.52	0.23	0.82	0.83	0.34	-0.63													
Confor.	0.44	0.07	-0.32	-0.33	-0.74	0.06	-0.15												
Plumas	-0.37	0.29	-0.24	-0.46	-0.13	0.37	-0.09	0.06											
Olor rancio	-0.23	0.04	0.17	0.05	0.46	-0.41	0.25	0.18	-0.08										
Olor crudo	0.25	0.16	-0.03	0.25	-0.63	-0.43	0.18	0.56	-0.56	-0.15									
Olor sangre	-0.39	0.03	0.66	0.83	0.29	-0.20	0.76	-0.35	0.07	-0.19	-0.07								
WOF	-0.27	-0.05	0.66	0.58	0.39	0.16	0.58	-0.41	0.31	-0.21	-0.41	0.89							
Rancidez	0.08	0.36	-0.60	-0.72	-0.55	0.51	-0.65	0.05	0.34	-0.60	-0.00	-0.52	-0.38						
Jugosidad	0.79	-0.61	0.01	-0.18	0.18	0.39	-0.43	0.18	-0.47	0.26	-0.08	-0.43	-0.25	-0.20					
Dureza	-0.16	0.59	0.53	0.23	-0.06	0.24	0.34	-0.13	0.02	-0.31	0.11	0.28	0.37	0.26	-0.19				
Pastosidad	-0.16	-0.02	0.45	0.65	-0.14	-0.56	0.66	-0.07	-0.23	-0.39	0.53	0.60	0.33	-0.22	-0.51	0.19			
Fibrosidad	-0.41	0.53	0.49	0.47	0.18	0.16	0.38	-0.51	-0.01	-0.37	-0.08	0.57	0.58	0.11	-0.35	0.82	0.21		
Adhesividad	-0.63	0.39	0.17	0.51	-0.02	-0.90	0.63	-0.08	-0.20	0.09	0.51	0.34	-0.05	-0.24	-0.70	-0.03	0.68	0.12	

¹n=8

Tabla 33. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento P1 (control) de pechuga de pavo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	-0.10					
SOD	0.51	0.24				
Vit E	-0.07	0.30	0.28			
TBARS 150	-0.27	-0.52	-0.80	-0.52		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacina	-	-	-	-	-	-

¹n=10

Tabla 34. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento P2 (50 ppm enrofloxacina sin retirada) de pechuga de pavo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	-0.00					
SOD	0.06	-0.03				
Vit E	-0.18	-0.17	0.59			
TBARS 150	-0.48	-0.14	-0.16	0.22		
Ciprofloxacina	-0.27 ²	0.15 ²	0.33 ²	0.62 ²	0.38 ²	
Enrofloxacina	0.25	0.57	-0.36	-0.42	-0.04	0.31 ²

¹n=10

²n=9

Tabla 35. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento P3 (50 ppm enrofloxacina con retirada) de pechuga de pavo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	-0.13					
SOD	-0.11	0.40				
Vit E	0.42	-0.15	0.11			
TBARS 150	0.09	-0.10	0.31	-0.06		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacina	-	-	-	-	-	-

¹n=10

Tabla 36. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento P4 (200 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada) de pechuga de pavo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	-0.43					
SOD	-0.18	-0.50				
Vit E	0.17	0.35	0.01			
TBARS 150	0.36	-0.35	0.23	-0.16		
Ciprofloxacina	-0.57	0.49	-0.12	0.29	0.01	
Enrofloxacin	-0.34	0.19	-0.17	-0.56	0.06	0.34

¹n=10

Tabla 37. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento P5 (200 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada) de pechuga de pavo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	-0.36					
SOD	-0.56	0.60				
Vit E	0.52	-0.65	-0.35			
TBARS 150	-0.33	0.29	-0.26	-0.20		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacin	-	-	-	-	-	-

¹n=7

Tabla 38. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento P6 (50 ppm vitamina E) de pechuga de pavo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	0.36					
SOD	0.20	0.45				
Vit E	-0.11	0.36	0.09			
TBARS 150	0.43	0.39	0.45	0.17		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacin	-	-	-	-	-	-

¹n=10

Tabla 39. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento P7 (50 vitamina E + 15 ppm β -caroteno) de pechuga de pavo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	0.49					
SOD	0.41	0.66				
Vit E	0.00	-0.36	-0.26			
TBARS 150	-0.69	-0.27	-0.22	0.23		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacina	-	-	-	-	-	-

¹n=10

Tabla 40. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento P1 (control) de muslo de pavo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	0.19					
SOD	0.37	-0.22				
Vit E	-0.71	-0.26	-0.21			
TBARS 150	0.35	0.14	-0.12	0.09		
Ciprofloxacina	-	-	-	-		
Enrofloxacina	-	-	-	-	-	-

¹n=10

Tabla 41. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento P2 (50 ppm enrofloxacina sin retirada) de muslo de pavo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	0.48					
SOD	-0.34	0.23				
Vit E	-0.16	0.02	0.24			
TBARS 150	-0.57	-0.56	-0.03	-0.11		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacina	-0.62	0.21	0.20	0.24	0.32	-

¹n=10

Tabla 42. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento P3 (50 ppm enrofloxacina con retirada) de muslo de pavo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	-0.01					
SOD	0.10	0.04				
Vit E	0.32	0.34	0.36			
TBARS 150	-0.70	-0.28	-0.19	-0.64		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacina	-	-	-	-	-	-

¹n=10

Tabla 43. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento P4 (200 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada) de muslo de pavo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	0.23					
SOD	-0.35	-0.18				
Vit E	-0.62	-0.52	0.14			
TBARS 150	0.25	0.80	-0.25	-0.26		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacin	-0.55	-0.49	0.18	0.37	-0.58	-

¹n=10

Tabla 44. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento P5 (200 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada) de muslo de pavo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	VIT E	TBARS 150	CIPROFLOXACINA
CAT	0.17 ^a					
SOD	-0.23 ^a	0.41 ^a				
Vit E	-0.28 ^a	0.04 ^a	0.29 ^a			
TBARS 150	0.39 ^a	0.69 ^a	0.18 ^a	0.21 ^a		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacin	-	-	-	-	-	-

¹ n=7

Tabla 45. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento P6 (50 ppm vitamina E) de muslo de pavo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	0.34					
SOD	-0.16	0.46				
Vit E	-0.26	0.49	0.69			
TBARS 150	-0.34	-0.04	-0.36	-0.08		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacin	-	-	-	-	-	-

¹n=10

Tabla 46. Coeficientes de correlación entre variables químicas para el tratamiento P7 (50 vitamina E + 15 ppm β -caroteno) de muslo de pavo¹.

	GSHPx	CAT	SOD	Vit E	TBARS 150	Ciprofloxacina
CAT	0.58					
SOD	0.74	0.33				
Vit E	-0.10	-0.71	0.12			
TBARS 150	-0.26	0.23	-0.25	-0.48		
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	
Enrofloxacin	-	-	-	-	-	-

¹n=10

Tabla 47. Coeficientes de correlación entre enzimas para el tratamiento P1 (control) de hígado de pavo¹.

	GSHPx	CAT
CAT	0.27	
SOD	-0.49	0.38

¹n=10

Tabla 48. Coeficientes de correlación entre enzimas para el tratamiento P2 (50 ppm enrofloxacin sin retirada) de hígado de pavo¹.

	GSHPx	CAT
CAT	0.36	
SOD	0.20	-0.53

¹n=10

Tabla 49. Coeficientes de correlación entre enzimas para el tratamiento P3 (50 ppm enrofloxacin con retirada) de hígado de pavo¹.

	GSHPx	CAT
CAT	0.53	
SOD	0.66	0.02

¹n=10

Tabla 50. Coeficientes de correlación entre enzimas para el tratamiento P4 (200 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin sin retirada) de hígado de pavo¹.

	GSHPx	CAT
CAT	0.05	
SOD	0.44	0.18

¹n=10

Tabla 51. Coeficientes de correlación entre enzimas para el tratamiento P5 (200 ppm vitamina E + 50 ppm enrofloxacin con retirada) de hígado de pavo¹.

	GSHPx	CAT
CAT	0.52	
SOD	0.99	0.52

¹n=5

Tabla 52. Coeficientes de correlación entre enzimas para el tratamiento P6 (50 ppm vitamina E) de hígado de pavo¹.

	GSHPx	CAT
CAT	0.55	
SOD	-0.18	-0.07

¹n=10

Tabla 53. Coeficientes de correlación entre enzimas para el tratamiento P7 (50 vitamina E + 15 ppm β -caroteno) de hígado de pavo¹.

	GSHPx	CAT
CAT	-0.29	
SOD	0.17	-0.04

¹n=10

Tabla 54. Coeficientes de correlación entre variables sensoriales para el tratamiento P1 (control) de pechuga de pavo¹.

	Intensidad color	Hematomas	Intensidad olor	Olor hígado	WOF	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad
Hematomas	-0.05									
Intensidad olor	-0.06	-0.33								
Olor hígado	0.20	-0.53	0.77							
WOF	0.43	0.59	0.00	-0.06						
Rancidez	-0.07	-0.05	-0.51	-0.44	-0.10					
Jugosidad	-0.13	-0.38	0.35	0.06	-0.39	-0.21				
Dureza	0.05	0.12	0.06	0.17	0.57	-0.16	-0.61			
Pastosidad	0.13	-0.12	-0.23	-0.30	-0.04	0.41	0.31	-0.32		
Fibrosidad	0.23	0.08	0.30	0.39	0.46	-0.46	-0.51	0.79	-0.72	
Adhesividad	-0.00	-0.07	-0.33	-0.32	0.01	0.51	0.04	-0.09	0.92	-0.59

¹n=12

Tabla 55. Coeficientes de correlación entre variables sensoriales para el tratamiento P6 (50 ppm vitamina E) de pechuga de pavo¹.

	Intensidad color	Hematomas	Intensidad olor	Olor hígado	WOF	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad
Hematomas	0.24									
Intensidad olor	-0.05	0.12								
Olor hígado	-0.06	-0.01	0.84							
WOF	0.10	-0.02	-0.63	-0.49						
Rancidez	0.10	0.11	-0.33	-0.36	0.14					
Jugosidad	0.17	-0.24	-0.29	-0.39	0.28	-0.19				
Dureza	-0.11	0.07	0.27	0.32	-0.22	0.35	-0.82			
Pastosidad	0.14	-0.26	-0.01	-0.11	-0.01	-0.50	0.57	-0.80		
Fibrosidad	-0.07	0.17	0.19	0.23	-0.07	0.25	-0.72	0.91	-0.87	
Adhesividad	-0.27	-0.06	0.25	0.32	-0.30	-0.43	0.10	-0.38	0.59	-0.61

¹n=12

Tabla 56. Coeficientes de correlación entre variables sensoriales para el tratamiento P7 (50 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno) de pechuga de pavo¹.

	Intensidad color	Hematomas	Intensidad olor	Olor hígado	WOF	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad
Hematomas	0.48									
Intensidad olor	0.16	0.49								
Olor hígado	0.21	0.63	0.64							
WOF	0.15	0.17	0.56	0.05						
Rancidez	0.10	-0.23	-0.53	-0.40	-0.41					
Jugosidad	-0.48	-0.48	-0.29	-0.62	0.33	-0.03				
Dureza	0.22	0.23	0.02	0.19	-0.42	0.22	-0.81			
Pastosidad	-0.13	-0.29	0.30	-0.00	0.65	-0.42	0.23	-0.28		
Fibrosidad	0.40	0.22	-0.14	-0.01	-0.51	0.27	-0.53	0.71	-0.67	
Adhesividad	-0.35	-0.18	0.28	0.11	0.38	-0.45	-0.01	0.06	0.84	-0.53

¹n=12

Tabla 57. Coeficientes de correlación entre variables sensoriales para el tratamiento P1 (control) de muslo de pavo ¹.

	Amarillo piel	Rosa piel	Intens. color	Unif. color	Color grasa	Confor.	Plumas	Olor rancio	Olor crudo	Olor sangre	WOF	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad
Rosa piel	-0.05															
Intens. color	0.46	-0.06														
Unif. color	0.78	-0.11	0.32													
Color grasa	0.12	-0.46	0.08	-0.09												
Confor.	-0.33	0.69	-0.18	-0.49	0.07											
Plumas	-0.25	0.09	-0.66	-0.29	0.20	0.34										
Olor rancio	-0.30	0.39	-0.10	-0.21	-0.37	0.48	0.18									
Olor crudo	-0.09	-0.48	-0.31	-0.09	0.08	-0.52	0.14	0.02								
Olor sangre	0.07	-0.31	-0.36	0.16	0.38	-0.12	0.22	0.55	0.05							
WOF	0.19	-0.12	0.04	0.19	-0.02	-0.03	0.21	0.30	0.03	-0.24						
Rancidez	-0.25	-0.20	0.24	-0.17	-0.25	-0.26	-0.13	0.17	0.29	-0.57	-0.12					
Jugosidad	0.10	-0.12	0.07	0.08	-0.11	-0.29	-0.72	-0.43	0.04	0.10	-0.26	-0.07				
Dureza	-0.25	0.54	-0.44	-0.18	-0.15	0.51	0.62	0.44	0.03	0.01	0.42	-0.29	-0.49			
Pastosidad	0.02	-0.60	0.09	0.03	0.10	-0.45	-0.26	-0.10	0.34	0.09	-0.48	0.38	0.18	-0.78		
Fibrosidad	0.13	0.27	-0.06	0.28	-0.16	0.10	0.04	-0.07	-0.21	0.05	0.58	-0.23	0.12	0.56	-0.82	
Adhesividad	-0.13	-0.36	-0.17	-0.01	0.24	-0.05	0.57	0.19	0.21	-0.06	0.09	0.52	-0.62	-0.01	0.33	-0.25

¹n=12

Intens. Color= intensidad de color; Unif. color= uniformidad de color; Confor.= conformación.

Tabla 58. Coeficientes de correlación entre variables sensoriales para el tratamiento P6 (50 ppm vitamina E) de muslo de pavo ¹.

	Amarillo piel	Rosa piel	Intens. color	Unif. color	Color grasa	Confor.	Plumas	Olor rancio	Olor crudo	Olor sangre	WOF	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad
Rosa piel	-0.35															
Intens. color	0.57	-0.57														
Unif. color	0.17	-0.07	-0.08													
Color grasa	0.54	-0.25	0.59	0.01												
Confor.	-0.05	0.37	-0.27	0.34	-0.09											
Plumas	0.12	0.17	-0.24	0.10	0.30	-0.06										
Olor rancio	-0.46	0.03	-0.26	-0.14	-0.29	0.45	-0.34									
Olor crudo	0.01	-0.62	-0.02	0.21	-0.23	-0.09	-0.04	0.48								
Olor sangre	0.28	-0.37	0.27	-0.03	0.20	-0.79	0.25	-0.74	-0.09							
WOF	-0.42	0.12	-0.43	0.02	0.14	0.32	0.36	0.57	0.27	-0.45						
Rancidez	0.10	-0.49	0.12	0.12	-0.17	0.14	-0.34	0.38	0.53	-0.24	-0.09					
Jugosidad	0.16	0.15	0.06	-0.07	-0.09	-0.53	-0.14	-0.48	-0.24	0.52	-0.68	-0.33				
Dureza	-0.30	0.12	-0.16	-0.08	0.05	0.68	0.23	0.46	-0.02	-0.60	0.62	0.02	-0.82			
Pastosidad	-0.31	0.26	-0.57	-0.10	-0.55	0.16	0.06	0.02	-0.14	-0.04	0.12	0.14	-0.38	0.23		
Fibrosidad	0.03	0.11	0.21	0.13	0.47	0.37	0.22	-0.15	-0.37	-0.18	0.03	-0.23	-0.01	0.42	-0.50	
Adhesividad	0.05	-0.33	-0.13	-0.01	0.07	-0.09	-0.29	0.34	0.38	-0.11	0.30	0.55	-0.28	-0.16	0.23	-0.53

¹n=12

Intens. Color= intensidad de color; Unif. color= uniformidad de color; Confor.= conformación.

Tabla 59. Coeficientes de correlación entre variables sensoriales para el tratamiento P7 (50 ppm vitamina E + 15 ppm β -caroteno) de muslo de pavo ¹.

	Amarillo piel	Rosa piel	Intens. color	Unif. color	Color grasa	Confor.	Plumas	Olor rancio	Olor crudo	Olor sangre	WOF	Rancidez	Jugosidad	Dureza	Pastosidad	Fibrosidad
Rosa piel	-0.43															
Intens. color	0.04	0.44														
Unif. color	0.02	-0.33	-0.41													
Color grasa	-0.62	0.08	-0.02	-0.43												
Confor.	-0.25	0.04	-0.24	-0.22	0.41											
Plumas	-0.16	-0.07	-0.67	0.02	0.03	0.53										
Olor rancio	-0.13	-0.24	-0.01	0.40	0.08	0.03	-0.49									
Olor crudo	0.02	-0.67	-0.78	0.43	0.02	-0.04	0.19	0.46								
Olor sangre	0.30	-0.39	-0.38	0.22	-0.23	-0.05	0.21	-0.18	0.38							
WOF	0.26	-0.51	-0.55	0.76	-0.37	-0.42	-0.01	0.33	0.62	0.06						
Rancidez	-0.04	-0.19	-0.25	-0.32	-0.03	-0.06	0.23	-0.15	0.42	0.36	-0.11					
Jugosidad	0.35	0.07	0.50	-0.27	0.02	-0.47	-0.63	-0.07	-0.27	-0.08	-0.06	-0.09				
Dureza	-0.07	-0.15	-0.50	0.02	-0.05	0.44	0.50	0.08	0.36	0.05	0.00	0.17	-0.81			
Pastosidad	-0.15	0.01	-0.61	0.27	-0.15	-0.25	0.42	-0.04	0.47	0.00	0.57	0.28	-0.42	0.30		
Fibrosidad	0.51	-0.22	0.04	-0.18	-0.16	0.20	-0.10	-0.11	-0.09	0.02	-0.14	-0.20	0.16	0.32	-0.53	
Adhesividad	-0.23	-0.14	-0.59	0.47	-0.17	0.01	0.52	-0.09	0.40	0.36	0.44	0.34	-0.57	0.17	0.68	-0.62

¹n=12

ens. Color= intensidad de color; Unif.color= uniformidad de color; Confor.= conformación.

9. PUBLICACIONES

PUBLICACIONES EN REVISTAS INTERNACIONALES

Sárraga, C., Carreras, I. and García Regueiro, J.A. 2002. Influence of meat quality and NaCl percentage on glutathione peroxidase activity and values for acid-reactive substances of raw and dry-cured *Longissimus dorsi*. Meat Science 62, 503-507.

Carreras, I., Guerrero, L., Guàrdia, M.D., Esteve-García, E., García Regueiro, J.A. and Sárraga, C. 2004. Vitamin E levels, thiobarbituric acid test and sensory evaluation of breast muscles from broilers fed α -tocopheryl acetate and β -carotene supplemented diets. Journal of the Science of Food and Agriculture 84, 313-317.

Carreras, I., Castellari, M., García Regueiro, J.A., Guerrero, L., Esteve-García, E. and Sárraga, C. 2004. Influence of enrofloxacin administration and α -tocopheryl acetate supplemented diets on oxidative stability of broiler tissues. Poultry Science 83, 796-802.

Carreras, I., Castellari, M., Valero, A., García Regueiro, J.A. and Sárraga, C. Influence of enrofloxacin administration on the proteolytic and antioxidant enzyme activities from raw and cooked turkey product. Journal of the Science of Food and Agriculture (enviado).

PUBLICACIONES EN REVISTAS DE DIVULGACIÓN

Sárraga, C., Carreras, I., Guàrdia, M.D. y Guerrero, L. 2001. Utilización del licopeno como antioxidante añadido a la dieta de pollos. Eurocarne 98, 67-72.

Carreras, I. y Sárraga, C. 2003. Interrelaciones entre la administración de enrofloxacin y la suplementación con vitamina E en la dieta de pollos. Eurocarne 119, 81-86.

PUBLICACIONES EN CONGRESOS, JORNADAS Y SEMINARIOS

Carreras, I., Esteve-García, E., García Regueiro, J.A. and Sárraga, C. 2002. Antioxidant enzyme activities and TBARS of breast muscles from broilers fed different natural antioxidant supplemented diets. 48th International Congress of Meat Science and Technology. 25-30 August, Rome, Italy (póster).

Carreras, I., Guerrero, L., Sárraga, C. and García Regueiro, J.A. 2002. Lipid oxidation and sensory analysis of raw breast muscles from broilers fed α -tocopherol and β -carotene supplemented diets. 48th International Congress of Meat Science and Technology. 25-30 August, Rome, Italy (póster).

Carreras, I. y Sárraga C. 2002. Utilización de antioxidantes para mejorar la calidad oxidativa de la carne. Uso de enzimas antioxidantes como indicadores del estrés oxidativo. I Curso Internacional de Tecnología de Productos Cárnicos. Centro de Tecnología de la Carne (IRTA). Monells, Girona, España (comunicación oral).

Carreras, I. 2002. Estabilitat oxidativa de la carn de pollastres alimentats amb dietes suplementades amb antioxidants naturals. Treball de recerca del programa de Doctorat de Ciències (comunicació oral).

Carreras, I., Guàrdia, M.D., Guerrero, L. and Sárraga, C. 2003. Sensory and chemical analyses of meat from broilers fed antioxidant supplemented diets. The 5th Pangborn Sensory Science Symposium. July 20-24, Boston, USA (póster).