



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SANTIAGO DEL ESTERO

Facultad de Agronomía y Agroindustrias

Tesis para la obtención del Grado Académico de

Doctora en Alimentos, orientación en Ciencia

“Aplicación de antioxidantes naturales procedentes de especies nativas del chaco semiárido en la preservación de carne refrigerada de pequeños rumiantes”

Autora: Ing. en Alimentos Silvana Cecilia Ruiz

Directora: Dra. Sandra Luz Martínez

Co-Directora: Dra. María Zimmerman

Lugar de Realización: Santiago del Estero

Año: 2021



DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

Comisión de Supervisión

- Dra. Carmen Viturro
- Dra. Gabriela Grigioni

Tribunal Examinador

- Dra. Carmen Viturro
- Dra. María Alicia Judis
- Dr. Daniel Franco Ruiz

Agradecimientos

A mis directoras, Dra. Sandra Martínez y Dra. María Zimerman por su apoyo, paciencia y constante predisposición y motivación durante el desarrollo de la Tesis.

A las Dras. Carmen Viturro y Gabriela Grigioni por su asesoramiento y sugerencias.

A mi Director de Beca el Ing. Mario Mondino por sus consejos y por siempre guiarme hacia el cumplimiento de mis objetivos.

A las Dras. Mónica Nazareno y Mariana García por su asesoramiento, enseñanza y por dejarme desarrollar parte de esta Tesis en el Laboratorio de Antioxidantes y Procesos Oxidativos.

A la Dra. Teresa Nediani por su colaboración y asesoramiento en las determinaciones microbiológicas. Al Instituto de Tecnología de los Alimentos (ITA) perteneciente al Centro de Investigaciones Agronómicas de INTA y al Laboratorio de Microbiología de Alimentos, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA por otorgar las cepas de referencias.

A mis colegas y amigas del grupo de calidad de carnes, Nati, Majo y Yan, por su colaboración en cada ensayo.

A la Ing. Alicia Córdoba y a los ayudantes del Campo Experimental Francisco Cantos de INTA por su acompañamiento y asesoramiento durante la producción de caprinos.

A los Dres. David Morcuende, Mario Estevez y la Dra. Sonia Ventanas por ser mis guías y compañía durante mi estancia en España.

Dedicatoria

A mi ángel que me guía desde el cielo

A mis amores por su apoyo incondicional Bianca, Helena y Mauricio

A mi madre quien me acompaña desde casa, mi fortaleza

A mis hermanos y sobrinas

A los que me acompañaron siempre

Las actividades experimentales desarrolladas durante el presente trabajo de investigación se realizaron en los Laboratorios de Microbiología de la Planta Piloto de Procesamiento de Alimentos y de Antioxidantes y Procesos Oxidativos de de la Universidad Nacional de Santiago del Estero, Laboratorios pertenecientes al Instituto Universitario de Investigación de Carne y Productos Cárnicos (IProCar) de la Universidad de Extremadura, España.

El desarrollo de esta Tesis estuvo enmarcado dentro de una Beca de Formación Profesional otorgada por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) con sede en la Estación Experimental del INTA Santiago del Estero, según Resolución N° 82/13.

El desarrollo de esta Tesis fue financiada mediante fondos de:

INTA

- Beca de Formación Profesional según Resolución N° 82/13.
- Proyecto PNAIyVA 1130032: Tecnologías de transformación de alimentos. INTA. Cartera: 2016- 2019.
- Proyecto TUSGO- 1231205- Contribuciones al desarrollo integral del Oeste de Santiago del Estero. INTA. Cartera 2016-2019.
- Proyecto PD I153: Estrategias tecnológicas innovadoras para la transformación y preservación de alimentos. Cartera: 2020-2022.

UNSE

- Proyecto N° 23/ A186. Producción de capones caprinos en sistemas sostenibles: costos y calidad de carne.
- Fondos CICyT, Secretaría de Ciencia y Técnica de la UNSE. Proyecto N° 23/ C151. Evaluación de la calidad de las canales y carnes de diferentes especies procedentes de diversos sistemas de producción.

Publicaciones

Ruiz S., Nediani T., Martínez S. (2017): Evaluación de las propiedades antimicrobianas de extractos de hojas de Algarrobo blanco (*Prosopis alba*) y Mistol (*Zizhypyus mistol*) procedentes de Santiago del Estero (Argentina). IX Congreso CyTA- CESIA, Madrid, España.

Ruiz S., Morcuente Sánchez D., Martínez S. (2017): Estudio del potencial antioxidante de hojas de *Acacia aroma*, *Prosopis alba* y *Zizhypyus mistol*, procedentes del Gran Chaco Americano (Argentina). IX Congreso CyTA- CESIA, Madrid, España.

Ruiz S., Nediani T., García M., Ramos Elwart Y., Martínez S. (2017): Evaluación de las propiedades antimicrobianas de extractos de hojas de Algarrobo blanco (*Prosopis alba*) y Tusca (*Acacia aroma*) procedentes de Santiago del Estero. Congreso CyTAL, septiembre 2017, Mar del Plata, Argentina.

Ruiz S., García M., Ramos Elwart Y., Nazareno M., Martínez S. (2017): Actividad antioxidante de extractos de hojas de Mistol (*Zizyphuz mistol*), Algarrobo blanco (*Prosopis alba*) y Tusca (*Acacia aroma*) procedentes de Santiago del Estero. Congreso CyTAL, septiembre 2017, Mar del Plata, Argentina.

González Mohino, M. Estévez, S. C. Ruiz, T. Akcan, D. Morcuende (2019): ¿Permite la pulverización de extractos antioxidantes contrarrestar el efecto pro- oxidante de una atmósfera modificada alta en oxígeno sobre chuletas de cordero? Comunicación oral. X Congreso Nacional CyTA- CESIA, León, España. 15, 16 y 17 de mayo de 2019.

Ruiz, Silvana, García, Elisa M., Zimmerman, María, Nazareno, Mónica, Martínez, Sandra (2019): *Acacia aroma*, *Prosopis alba* y *Zyziphus mistol*: Contenido total de compuestos fenólicos en hojas cosechadas en diferentes años. II Congreso Argentino de Biología y Tecnología Postcosecha. Septiembre 2019, Santiago del Estero, Argentina.

Ruiz, Silvana, Zimmerman, María, Martínez, Sandra, Morcuende Sánchez, David (2019): Contenidos de Antioxidantes específicos en hojas de *Acacia aroma*, *Prosopis alba* y *Zyziphus mistol*: procianidinas y tocoferoles. II Congreso Argentino de Biología y Tecnología Postcosecha. Septiembre 2019, Santiago del Estero, Argentina.

Ruiz, S., Zimmerman, M., Martínez, S., Morcuende Sanchez, D. (2019): Incorporación de aditivos naturales como conservantes en una matriz cárnica. XVII Congreso CyTAL 2019.

Ruiz, S., Córdoba, A., Fernández Salom, M. J., Taboada, N., Ramos Elwart, Y., Botegal, D., Zimmerman, M., Martínez, S. (2019): Valoración de la Calidad de canales de cabritos criollos de Santiago del Estero. XVII Congreso CyTAL 2019.

Ruiz, S. C., García, E. M., Nediani, T., Zimmerman, M., Nazareno, M. A., Martínez, S. (2019): Potencial antioxidante y Actividad antimicrobiana de extractos de hojas de Mistol (*Zizyphuz mistol*), Algarrobo blanco (*Prosopis alba*) y Tusca (*Acacia aroma*) procedentes de Santiago del Estero, Argentina. Revista del Foro de la Alimentacion, la Nutricion y la Salud (RFANUS) Volumen 1 (N°1), 10-19.

Ruiz, Silvana Cecilia; Martínez, Manuel; Salinas, Florencia; Renolfi, Rodolfo; Zimmerman, María; Martínez, Sandra Luz (2020). Calidad de la canal y carne de cabritos criollos de Santiago del Estero. Ponencia. 3° CONGRESO INTERNACIONAL DEL GRAN CHACO AMERICANO: Territorio e Innovación, realizado los días 10, 11, 12 y 13 de noviembre de 2020. Santiago del Estero, República Argentina.

Ruiz, S.C., Zimmerman, M., Martínez, S.L., Morcuende, D. (2020). Efecto del uso de antioxidantes naturales en el color y en la oxidación lipídica en chuletas de cordero. Revista Argentina de Producción Animal, Vol. 40 (1), 171-214.

Ruiz, S., Córdoba, A., Fernández Salom, M. J., Taboada, N.; Ramos Elwart, Y., Botegal, D., Martínez, S., Zimerman, M. (2020). Valoración de la calidad de canales y carnes de cabritos criollos de Santiago del Estero. Revista La Industria Cárnica Latinoamericana, N° 217, 42-48.

Ruiz, S. C., Nediani, T., García, M. E., Zimerman, M., Martínez, S. L. (2021). Antimicrobial activities of leaves extracts from Algarrobo blanco (*Prosopis alba*), Tusca (*Acacia aroma*) and Mistol (*Ziziphus mistol*) to be applies to fresh products. Journal of Food and Nutritional Health, Vol. 2 (1), 109. DOI: <https://doi.org/10.47275/2692-5222-109>.

Resumen

Los principales objetivos de este trabajo fueron evaluar las propiedades bioactivas de hojas de *Prosopis alba* (AB), *Acacia aroma* (T) y *Zizhipus mistol* (M) para utilizarse como conservantes; analizar el efecto de sistemas de producción caprina del Chaco Semiárido: silvopastoril y corral sobre la calidad de la carne; y estudiar el efecto conservante de los extractos al ser incorporados a productos cárnicos.

Los compuestos bioactivos de las hojas se extrajeron mediante acetona: agua y etanol: agua e infusiones con agua (90°C). Se determinó: Contenido de fenoles totales (CFT): Folin-Ciocalteu, Contenido de procianidinas (CP): Butanol-HCl, Capacidad antioxidante (CA): DPPH, CUPRAC y ABTS^{•+}, contenido y perfil de compuestos fenólicos, α - y γ -tocoferoles: HPLC; y capacidad antimicrobiana: difusión en discos en agar BHI. La mayor eficiencia de extracción se obtuvo con acetona: agua al 50:50 y 70:30v/v. No se demostró capacidad antimicrobiana. Las especies vegetales con mejor performance fueron AB y T.

La calidad de carne caprina se evaluó en animales cruzas Criollo x Anglo Nubbian de tres meses de edad en silvopastoril y corral. Se registró el pH_{45min} y pH_{24h}, peso vivo, peso de canal caliente, peso de canal fría, pérdidas por oreo y rendimiento, se determinó la Capacidad de retención de agua (CRA), color instrumental, pérdidas por cocción (PPC) y perfil de textura (TPA). La carne procedente del sistema silvopastoril presentó valores inferiores de pH_{24h}, una tendencia de valores superiores de L* e inferiores de a*, y b*. Las PPC, los parámetros de dureza y elasticidad del TPA fueron superiores en este tratamiento, mientras que la CRA no se vio afectado por el sistema de alimentación.

Se incorporaron los extractos por pulverización en chuletas de cordero y filetes de cabritos, y en la matriz cárnica para la elaboración de hamburguesas de cordero. Para evaluar el efecto de los extractos durante el almacenamiento, se determinó según el caso: color instrumental, oxidación de lípidos: TBARS, y proteínas: DNPH, evaluación sensorial: test de preferencias con consumidores, y calidad microbiológica. Se demostró que los extractos AB presentaron mejor performance antioxidante en los productos cárnicos, además la forma de incorporar el extracto influyó en su efecto antioxidante.

Palabras claves: Algarrobo blanco, Tusca, Mistol, antioxidantes naturales, conservantes, carne caprina y ovina.

Abstract

The main objectives of this work were evaluate the bioactive properties of *Prosopis alba* (AB), *Acacia aroma* (T) and *Ziziphus mistol* (M) leaf can be used as preservatives; evaluate the effect of goat production systems from Semi-arid Chaco: silvopastoral and corral on the meat quality; and evaluate the preservative extracts effect into meat products.

The leaf bioactive compounds were extracted using acetone: water and ethanol: water and water infusions (90 ° C). Total phenolic compounds (TFC): Folin-Ciocalteu, Procyanidins content (CP): Butanol-HCl, Antioxidant capacity (CA): DPPH, CUPRAC and ABTS^{·+}, phenolic compounds content and profile, α - and γ -tocopherols: HPLC and antimicrobial capacity: disc diffusion on BHI agar, were determined. The highest extraction efficiency with acetone: water at 50:50 and 70: 30v / v was obtained. The antimicrobial capacity it was not shown. AB and T were the plant species with the best performance.

The goat meat quality in three month old Criollo x Anglo Nubbian cross animals in silvopastoral and corral (alfalfa and corn rations) was evaluated. The pH_{45min} and pH_{24h}, liveweight, hot carcass weight, cold carcass weight, air loss and yield were recorded, water holding capacity (CRA), instrumental color, cooking losses (PPC) and texture profile (TPA) were determined. The silvopastoral meat presented lower pH_{24h} values, a trend of higher L* values and lower a* and b* values. The PPC and hardness and elasticity TPA parameters were higher in this treatment, while the CRA was not affected by the feeding system.

The extracts incorporation by pulverization in lamb chops and goat steaks, and in the meat matrix for the lamb burger elaboration. To evaluate the extracts effect during refrigerated storage, the following were determined according to the case: instrumental color, lipid oxidation: TBARs and proteins:(DNPH, sensory evaluation: consumer preference test, and microbiological quality. The AB leaf extracts have the best antioxidant performance in meat products was shown, and the way the extract is incorporated into meat influences its antioxidant effect.

Key Words: Algarrobo blanco, Tusca, Mistol, natural antioxidants, preservatives, goat and lamb meat.

Índice de contenidos

Agradecimientos	iv
Dedicatoria.....	v
Publicaciones	vii
Resumen	ix
Abstract.....	x
Índice de contenidos	xi
Lista de Tablas	xvii
Lista de Ilustraciones	xix
Lista de Abreviaturas y Símbolos	xxi
CAPÍTULO 1: Obtención de extractos vegetales ricos en antioxidantes provenientes de la región del Chaco Semiárido para su aplicación en carne fresca: estudio y caracterización.....	1
1. Introducción	2
1.1. Antioxidantes	2
1.1.1. Tipos de antioxidantes	6
1.2. Antimicrobianos.....	7
1.3. Fuentes de extracción de antioxidantes y antimicrobianos naturales	7
1.4. Especies nativas del Chaco Semiárido como fuentes de antioxidantes naturales	8
1.5. Métodos de extracción	9
2. Hipótesis	9
3. Objetivos.....	9
3.1. Objetivo general.....	9
3.2. Objetivos específicos	9
4. Materiales y métodos	10
4.1. Obtención del material vegetal.....	10
4.2. Extracción de compuestos bioactivos.....	10
4.3. Determinaciones realizadas.....	12
4.3.1. Contenido de fenoles totales	12
4.3.2. Extracción y determinación del contenido de procianidinas	12
4.3.3. Compuestos fenólicos por Cromatografía líquida (HPLC)	12
4.3.4. Contenido de α - y γ - Tocoferoles por Cromatografía líquida (HPLC).....	14
4.3.5. Capacidad antioxidante (CA) <i>in vitro</i>	15
4.3.5.1. Ensayo de decoloración del radical libre 1,1- difenil-2-picrilhidrazyl (DPPH)	15

4.3.5.2. Método CUPRAC	15
4.3.5.3. Método del Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS ⁺) (en infusiones).....	16
4.3.6. Actividad antimicrobiana <i>in vitro</i>	16
4.4. Análisis estadístico.....	17
5. Resultados y discusión.....	18
5.1. Contenido de fenoles totales (CFT)	18
5.2. Contenido de procianidinas.....	21
5.3. Contenido de compuestos fenólicos y α - y γ - tocoferoles por Cromatografía líquida (HPLC)	23
5.4. Capacidad antioxidante <i>in vitro</i>	28
5.5. Actividad antimicrobiana	34
6. Resultados destacados.....	34
6.1. Contenido de fenoles totales	34
6.2. Contenido de procianidinas.....	35
6.3. Capacidad antioxidante	35
6.3.1. Método del radical DPPH.....	35
6.3.2. Método de CUPRAC	35
6.4. Perfil de compuestos fenólicos determinados por HPLC	36
6.5. Contenido de Tocoferoles determinado por HPLC	36
6.6. Actividad antimicrobiana	36
7. Referencias.....	36
CAPÍTULO 2: Valoración de la calidad de carne de cabritos sometidos a dos sistemas de alimentación típicos de la región del Chaco Semiárido.	46
1. Introducción	47
1.1. Producción mundial de carne caprina	47
1.2. Producción de carne caprina en Argentina.....	49
1.3. Características de las majadas en Santiago del Estero.....	49
1.4. Calidad de carne y factores que la afectan	52
1.4.1. pH	52
1.4.2. Capacidad de retención de agua (CRA)	53
1.4.3. Color de la carne	53
1.4.4. Textura de la carne.....	53
2. Hipótesis	54
3. Objetivos.....	54
3.1. Objetivo general.....	54

3.2. Objetivos específicos	54
4. Materiales y métodos	54
4.1. Lugar de ensayo	54
4.2. Descripción del ensayo	54
4.3. Procedimiento de faena	58
4.4. Determinación de parámetros de calidad de canales y carne	59
4.4.1. Medición de pH.....	59
4.4.2. Registro de pesos y determinación de pérdidas por oreo (PPO) y rendimiento de faena (RTO).....	59
4.4.3. Toma de muestras de carne	60
4.4.4. Capacidad de Retención de Agua (CRA).....	60
4.4.5. Color instrumental.....	60
4.4.6. Perfil de Textura (TPA)	60
4.5. Análisis estadístico.....	61
5. Resultados y discusión	62
5.1. Pesos registrados, pérdidas por oreo (PPO), rendimiento de faena (RTO) y pH de la carne.....	62
5.2. Capacidad de Retención de Agua (CRA) y color instrumental	64
5.3. Perfil de textura (TPA).....	67
6. Resultados destacados.....	68
6.1. Pesos registrados, rendimiento de faena, pérdidas por oreo y pH	68
6.2. Capacidad de retención de agua	69
6.3. Color instrumental	69
6.4. Perfil de textura.....	69
7. Referencias.....	69
CAPÍTULO 3: Aplicación de antioxidantes naturales procedentes de especies nativas del Chaco Semiárido en la preservación de carne refrigerada de pequeños rumiantes.	76
1. Introducción	77
1.1. Producción de rumiantes menores.....	77
1.1.1. Carne ovina	77
1.1.2. Carne caprina	77
1.2. Características de la carne fresca	78
1.3. Factores que influyen en la calidad de la carne	78
1.3.1. Color	78
1.3.2. Procesos oxidativos.....	79
1.3.2.1. <i>La oxidación de lípidos</i>	79

1.3.2.2. <i>La oxidación de proteínas</i>	81
1.3.2. Deterioro microbiológico	83
1.4. Uso de antioxidantes naturales para minimizar los procesos de deterioro de la carne fresca	84
1.5. Antioxidantes naturales autóctonos del Chaco Semiárido	85
2. Hipótesis	86
3. Objetivos	86
3.2. Objetivos específicos	86
4. Ensayo A: Efecto de la aplicación de antioxidantes naturales procedentes del Chaco Semiárido en el color y en la oxidación lipídica de chuletas de cordero durante su almacenamiento refrigerado	87
4.1. Materiales y métodos	87
4.1.1. Materia prima	87
4.1.1.1. Material vegetal	87
4.1.1.2. Preparación de extractos naturales	87
4.1.1.3. Matriz cárnica	87
4.1.2. Aplicación de los extractos	88
4.1.3. Determinaciones realizadas	89
4.1.3.1. Color instrumental	89
4.1.3.2. Oxidación lipídica	89
4.1.3.3. Análisis sensorial	90
4.1.4. Análisis estadístico	90
4.2. Resultados y discusión	91
4.2.1. Color instrumental	91
4.2.2. Oxidación lipídica	95
4.2.3. Análisis sensorial	97
4.3. Resultados destacados	99
4.3.1. Color instrumental	99
4.3.2. Oxidación de lípidos	99
4.3.3. Análisis sensorial	99
5. Ensayo B: Evaluación del comportamiento de antioxidantes naturales procedentes del Chaco Semiárido en hamburguesas de cordero: influencia en la preservación de lípidos y proteínas.	100
5.1. Materiales y Métodos	100
5.1.1. Materia prima	100
5.1.1.1. Material vegetal	100
5.1.1.2. Preparación de extractos naturales	100
5.1.1.3. Matriz cárnica	101

5.1.2. Determinaciones realizadas.....	102
5.1.2.1. Color instrumental.....	103
5.1.2.2. Oxidación de lípidos	104
5.1.2.3. Oxidación de proteínas.....	104
5.1.2.4. Análisis sensorial	105
5.1.3. Análisis estadístico.....	107
5.2. Resultados y discusión.....	108
5.2.1. Color instrumental.....	108
5.2.2. Oxidación de lípidos	113
5.2.3. Oxidación de proteínas.....	117
5.2.4. Análisis sensorial	119
5.3. Resultados destacados.....	121
5.3.1. Color instrumental.....	121
5.3.2. Oxidación de lípidos	121
5.3.3. Oxidación de proteínas.....	121
5.3.4. Análisis sensorial	121
6. Ensayo C: Aplicación de extractos naturales en filetes de cabritos procedentes de dos sistemas productivos.	122
6.1. Materiales y métodos	122
6.1.1. Materia prima.....	122
6.1.1.1. Material vegetal.....	122
6.1.1.2. Selección de extractos naturales.....	122
6.1.1.3. Preparación de los extractos naturales.....	123
6.1.1.4. Matriz cárnica	123
6.1.1.5. Aplicación de los extractos naturales a los filetes	124
6.1.2. Determinaciones realizadas.....	125
6.1.2.1. pH	126
6.1.2.2. Color instrumental.....	126
6.1.2.3. Análisis microbiológico	127
6.1.2.4. Análisis sensorial:	128
6.1.3. Análisis estadístico.....	129
6.2. Resultados y discusión.....	130
6.2.1. pH	130
6.2.2. Color instrumental.....	132
6.2.3. Análisis microbiológico	138

6.2.4. Análisis sensorial	149
6.3. Resultados destacados.....	150
6.3.1. pH	150
6.3.2. Color instrumental.....	150
6.3.2.1. Extracto AB	150
6.3.2.1.1. <i>Filetes procedentes de alimentación a corral</i>	150
6.3.2.1.2. <i>Filetes procedentes de alimentación silvopastoril</i>	151
6.3.2.2. Extracto T.....	151
6.3.2.2.1. <i>Filetes procedentes de alimentación a corral</i>	151
6.3.2.2.2. <i>Filetes procedentes de alimentación silvopastoril</i>	151
6.3.2.3. Alimentación.....	151
6.3.3. Análisis microbiológicos.....	151
6.3.3.1. Extracto AB	152
6.3.3.1.1. <i>Filetes procedentes de alimentación a corral</i>	152
6.3.3.1.2. <i>Filetes procedentes de alimentación silvopastoril</i>	152
6.3.3.2. Extracto T.....	152
6.3.3.2.1. <i>Filetes procedentes de alimentación a corral</i>	152
6.3.3.2.2. <i>Filetes procedentes de alimentación silvopastoril</i>	152
6.3.3.3. Alimentación.....	152
6.3.4. Análisis sensorial	153
7. Referencias.....	154
CAPÍTULO 4: Aportes significativos y conclusiones finales	164
1. Innovación y desarrollo para la puesta en valor de la biodiversidad	165
2. Conclusiones Finales	165
2.1. Capítulo 1.....	165
2.2. Capítulo 2.....	166
2.3. Capítulo 3.....	167

Lista de Tablas

Tabla 1.1: Contenido de Fenoles Totales de extractos de hojas de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) con etanol: agua y acetona: agua en diferentes proporciones, y agua a 90°C.....	19
Tabla 1.2: Contenido de procianidinas de extractos de hojas de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) obtenidos con etanol: agua y acetona: agua en diferentes proporciones.	22
Tabla 1.3: Contenido de compuestos fenólicos y α - y γ - tocoferoles determinados por HPLC en hojas de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M).....	24
Tabla 1.4: Capacidad Antioxidante de los extractos de hojas de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) obtenidos con etanol y acetona en diferentes proporciones con agua y con agua a 90°C mediante los métodos DPPH., CUPRAC y ABTS.+ según corresponda.....	30
Tabla 2.1: Pesos registrados, rendimiento de faena (RTO), pérdidas por oreo (PPO) y pH a los 45 min y 24 h post mortem.....	63
Tabla 2.2: Efecto del sistema de alimentación: corral y silvopastoril en la capacidad de retención de agua y en los parámetros de color instrumental de la carne de cabrito.....	64
Tabla 2.3: Efecto del sistema de alimentación: corral y silvopastoril en los parámetros del perfil de textura (TPA) de la carne de cabrito.....	67
Tabla 3.1: Efecto de los extractos Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M), y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro L* del color en chuletas de cordero almacenadas refrigeradas.....	92
Tabla 3.2: Efecto de los extractos Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M), y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro a* del color en chuletas de cordero almacenadas refrigeradas.....	92
Tabla 3.3: Efecto de los extractos Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M), y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro b* del color en chuletas de cordero almacenadas refrigeradas.....	92
Tabla 3.4: Efecto de los extractos Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M), y del tiempo de almacenamiento sobre el índice Hue del color en chuletas de cordero almacenadas refrigeradas.....	93
Tabla 3.5: Efecto de los extractos Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M), y del tiempo de almacenamiento sobre el índice C* del color en chuletas de cordero almacenadas refrigeradas.....	93
Tabla 3.6: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) y del tiempo de almacenamiento sobre la oxidación de lípidos de chuletas de cordero refrigeradas.....	96
Tabla 3.7: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) en la preferencia de consumidores en chuletas de cordero almacenadas durante 7 días.....	98
Tabla 3.8: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro L* del color de hamburguesas de cordero refrigeradas durante 9 días.....	109
Tabla 3.9: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro a* del color de hamburguesas de cordero refrigeradas durante 9 días.....	110
Tabla 3.10: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro b* del color de hamburguesas de cordero refrigeradas durante 9 días.....	111
Tabla 3.11: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) y del tiempo de almacenamiento en la oxidación de lípidos de hamburguesas de cordero refrigeradas durante 9 días.....	114

Tabla 3.12: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) y del tiempo de almacenamiento sobre la oxidación de proteínas de hamburguesas de cordero refrigeradas durante 9 días.....	117
Tabla 3.13: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) en la preferencia de consumidores sobre hamburguesas de cordero almacenadas durante 9 días.....	119
Tabla 3.14: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y del tiempo de almacenamiento sobre el pH de la carne de cabritos procedentes del sistema Corral, almacenada refrigerada durante 10 días.....	131
Tabla 3.15: Efecto de la aplicación de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro L* de color de filetes de cabrito procedentes del sistema de alimentación a corral y silvopastoril, almacenados refrigerados.....	133
Tabla 3.16: Efecto de la aplicación de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro a* de color de filetes de cabrito procedentes del sistema de alimentación a corral y silvopastoril, almacenados refrigerados.....	134
Tabla 3.17: Efecto de la aplicación de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro b* de color de filetes de cabrito procedentes del sistema de alimentación a corral y silvopastoril, almacenados refrigerados.....	135
Tabla 3.18: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y del tiempo de almacenamiento sobre el recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales de filetes de cabritos procedentes del sistema de alimentación a corral y silvopastoril, almacenados refrigerados.....	140
Tabla 3.19: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y del tiempo de almacenamiento sobre el recuento de hongos y levaduras de filetes de cabritos procedentes del sistema de alimentación a corral y silvopastoril, almacenados refrigerados.....	141
Tabla 3.20: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y del tiempo de almacenamiento sobre el recuento de Staphilococcus aureus de filetes de cabritos procedentes del sistema de alimentación a corral y silvopastoril, almacenados refrigerados.....	142
Tabla 3.21: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y del tiempo de almacenamiento en el recuento de enterobacterias de filetes de cabritos procedentes del sistema de alimentación a corral y silvopastoril, almacenados refrigerados.....	143
Tabla 3.22: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB) y Tusca (T) en la preferencia de consumidores.....	149

Lista de Ilustraciones

Ilustración 1.1: Estructura química de los fenoles simples (Peñarrieta <i>et al.</i> , 2014).....	3
Ilustración 1.2: Estructuras de anillos heterocíclicos: pirano, pirilo y γ - pirona (Arriola y Tapia, 2017).....	4
Ilustración 1.3: Estructura básica de procianidinas (Arriola y Tapia, 2017)	5
Ilustración 1.4: Estructuras básicas de procianidinas tipo A y B (Arriola y Tapia, 2017).....	5
Ilustración 1.5: Estructuras de los principales isómeros de tocoferol: α , β , γ y δ - tocoferoles (Peh <i>et al.</i> , 2016).....	6
Ilustración 1.6: Mezclas de solventes empleados en la extracción de compuestos bioactivos a partir de hojas de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M).	11
Ilustración 1.7: Cromatograma obtenido para la especie vegetal <i>Prosopis alba</i> (Algarrobo blanco).....	25
Ilustración 1.8: Cromatograma obtenido para la especie vegetal <i>Acacia aroma</i> (Tusca)	26
Ilustración 1.9: Cromatograma obtenido para la especie vegetal <i>Ziziphus mistol</i> (Mistol).....	26
Ilustración 2.1: Existencias y faena mundial caprina del 2016 al 2019. Fuente: FAOSTAT.....	47
Ilustración 2.2: Producción mundial de carne caprina (tonaladas) durante los años 2016 al 2019. Fuente: FAOSTAT.....	48
Ilustración 2.3: 10 países con mayores existencias caprinas mundial en el año 2019. Fuente: FAOSTAT.	48
Ilustración 2.4: Animales pastoreando y ramoneando. Fuente: Contreras <i>et al.</i> (2016).	50
Ilustración 2.5: Animal ramoneando. Fuente: propia.....	51
Ilustración 2.6: Cadena de carne caprina. Fuente: Ministerio de Agroindustria Año: 2011.....	51
Ilustración 2.7: Disposición de los animales durante su alimentación en corral en la etapa inicial.....	56
Ilustración 2.8: Alimentación de animales mediante comederos durante su alimentación en corral en la etapa final.56	
Ilustración 2.9: Potrero para alimentación de animales en sistema silvopastoril. Oferta al inicio del ensayo con plena oferta forrajera en el mes de diciembre.....	57
Ilustración 2.10: Potrero para alimentación de animales en sistema silvopastoril. Oferta al inicio del ensayo con plena oferta forrajera en el mes de diciembre.	57
Ilustración 2.11: Animales en sistema silvopastoril. Oferta al final del ensayo con vegetación característica en época otoñal.....	58
Ilustración 2.12: Animales en sistema silvopastoril. Oferta al final del ensayo con vegetación característica en época otoñal.....	58
Ilustración 3.1: Representación simple de la reacción de iniciación en la oxidación de lípidos. Fuente: Dominguez <i>et al.</i> (2019).....	80
Ilustración 3.2: Representación de las reacciones de propagación e iniciación secundarias producidas durante la oxidación de lípidos. Dominguez <i>et al.</i> (2019).....	81
Ilustración 3.3: Cambios inducidos por las reacciones de oxidación a diferentes niveles: productos cárnicos, proteínas y aminoácidos. Fuente: Estévez <i>et al.</i> (2012).....	82
Ilustración 3.4: Modificación de las cadenas laterales como consecuencia de la oxidación de proteínas. Fuente: Estévez <i>et al.</i> (2012).....	83
Ilustración 3.5: Distribución según aplicación de extractos para los tiempos de almacenamiento: 0 y 7 días. Disposición y cantidad de chuletas por bandejas.....	88
Ilustración 3.6: Distribución de muestras para análisis sensorial, según la aplicación de los extractos y tiempos de almacenamiento. Disposición y cantidad de chuletas por bandejas.....	90
Ilustración 3.7: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) y del tiempo de almacenamiento sobre el porcentaje de Inhibición de la oxidación de lípidos de chuletas de corderos refrigeradas. Medias con letras distintas A-B para el efecto tratamiento y a-b para tiempo de almacenamiento son significativamente diferentes ($p < 0,05$).....	96

Ilustración 3.8: Incorporación del aditivo a la masa de carne.....	101
Ilustración 3.9: Moldeado de las hamburguesas en una máquina de moldeo circular.....	102
Ilustración 3.10: Distribución de las muestras según los extractos incorporados a la matriz cárnica y tiempos de almacenamiento refrigerado.....	103
Ilustración 3.11: Hamburguesas dispuestas en bandejas y envueltas en film adherente.....	103
Ilustración 3.12: Distribución de las muestras para análisis sensorial.....	106
Ilustración 3.13: Sala con cabinas para el análisis sensorial.....	107
Ilustración 3.14: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) y del tiempo de almacenamiento en el porcentaje de inhibición a la oxidación de lípidos de hamburguesas de cordero refrigeradas. Valores expresados como media del porcentaje de inhibición con respecto al control. Medias con letras distintas (A-C) para el efecto tratamiento y a-c para el efecto tiempo de almacenamiento son significativamente diferentes para $p < 0,05$	115
Ilustración 3.15: Cortes realizados en paletas y cuartos para obtener los filetes correspondientes.....	123
Ilustración 3.16: Filetes de cabritos obtenidos de paletas y cuartos.....	124
Ilustración 3.17: Aplicación de aditivos en superficie de filetes de cabrito.....	125
Ilustración 3.18: Esquema de preparación de muestras según la aplicación de los extractos: Control (C), Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M), tiempos de almacenamiento: 0, 5 y 10 días y determinaciones realizadas.....	126
Ilustración 3.19: Cámara de siembra.....	127
Ilustración 3.20: Preparación de las diluciones a partir del homogenato. Fuente: Camacho <i>et al.</i> (2009).....	128
Ilustración 3.21: Análisis sensorial realizado por un juez no entrenado.....	129

Lista de Abreviaturas y Símbolos

-OH Grupo hidroxilo

α - Alfa

α Nivel de confianza

γ - Gamma

β - Beta

δ - Delta

λ_{ex} Longitud de onda de excitación

λ_{em} Longitud de onda de emisión

μ L Microlitro

μ m Micrómetro

μ g Microgramo

-CH₃ grupo metilo

°C Grados centígrados

III valencia 3

< Menor

> Mayor

\geq Mayor o igual

a* Porcentaje de saturación con rojo

A Acetona: agua

AB Algarrobo blanco/ *Prosopis alba*

ABTS⁺ catión ácido 2,2'- azino- bis-3- etilbenzotiazolin-6- sulfónico

AMSA American Meat Science Association

ANMAT Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

ANOVA Análisis de la varianza

ATCC American type culture collection

atm Atmósfera

b* Porcentaje de saturación con amarillo

B₂ Tipo de procianidina

BHA Butilhidroxianisol

BHI Caldo/agar cerebro corazón

BHT Butilhidroxitolueno

BPM Buenas Prácticas de Manufactura

BSA Seroalbúmina bovina

C Carbono

C* Cromo

CA Capacidad antioxidante
CIP Ciprofloxacina
cm centímetro
CP Contenido de procianidinas
CRA Capacidad de retención de agua
CTF Contenido total de compuestos fenólicos
C₃₀H₂₆ Proantocianidina tipo A
C₃₀H₂₄O₁₂ Proantocianidina tipo B
DFD Dark, firm, dry
DNPH 2,4- dinitrofenilhidrazina
DPPH: Radical libre 1,1- difenil- 2- picrilhidrazyl
E Etanol: agua
EEA Estación Experimental Agropecuaria
ETA Enfermedad Transmitida por Alimentos
FAO Food and Agriculture Organization
FAOSTAT Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database.
FCEN Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
FDA Food and Drug Administration
g Gramo
h Horas
H: Radical hidroxilo
HCl Acido clorhídrico
HPLC Cromatografía líquida de alta eficiencia
Hue Tono
H y L Hongos y levaduras
INTA Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
ISO International Organization for Standardization
ITA Instituto de Tecnología de Alimentos
IPROCAR Instituto de Investigación de carne y productos cárnicos
ISCMSF International Commission on Microbiological Specification for Foods
Kg Kilogramos
L* Luminosidad
L Litros
LD *Longissimus dorsi*
LS Latitud sur
LW Latitud Oeste

M Mistol/ *Ziziphus mistol*

M Molar

MAGyP Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca

MAMT Microorganismos aeróbicos mesófilos totales

MAP Atmósfera modificada

MDA Malondialdehído

MetMg Metamioglobina

mg miligramos

Mg Mioglobina

mL Mililitros

mm milímetros

mM Milimoles

m.s.n.m. metros sobre el nivel del mar

MS Materia seca

N Normal

N Fuerza (Newton)

NaCl Cloruro de sodio

Na₂SO₄ Sulfato de sodio

N₂ Nitrógeno

nm nanómetros

NOA Noroeste argentino

OCDE Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico

PCC Peso de la canal caliente

PCF Peso de la canal fría

PPC Pérdidas por cocción

ppm partes por millón

PPO Pérdidas por oreo

PSE Pale, soft, exudative

PV Peso vivo

PVC Cloruro de polivinilo

R Radical alquilo

ROO Radical peróxido

ROS Especies reactivas al oxígeno

RTO Rendimiento

s segundos

S. aureus Staphilococcus aureus

S. spp Especies de *Staphilococcus*

SAGyP Secretaría de Agricultura Ganadería y Pesca

SENASA Servicio Nacional de Sanidad Agroalimentaria

Seg. Segundos

T Tusca/ *Acacia aroma*

TBARs Acido 2- tiobarbitúrico

TBHQ Terbutil hidroquinona

TCA Acido tricloroacético

TEP 1,1,3,3- tetratoxipropano

TPA Perfil de textura

UBA Universidad de Buenos Aires

UFC Unidades formadoras de colonias

UNSE Universidad Nacional de Santiago del Estero

USA Estados Unidos de América

UV Ultravioleta

Var. Variedad

v/v volumen/ volumen

El presente trabajo de Tesis se presenta en cuatro Capítulos, a saber:

- Capítulo 1: Obtención de extractos vegetales ricos en antioxidantes provenientes de la región del Chaco Semiárido para su aplicación en carne fresca: estudio y caracterización.
- Capítulo 2: Valoración de la calidad de carne de cabritos sometidos a dos sistemas de alimentación típicos de la región del Chaco Semiárido.
- Capítulo 3: Aplicación de antioxidantes naturales procedentes de especies nativas del chaco semiárido en la preservación de carne de pequeños rumiantes refrigerada.
- Capítulo 4: Aportes significativos y conclusiones finales.

A continuación, se desarrollan cada uno de los mencionados capítulos.



CAPÍTULO 1: Obtención de extractos vegetales ricos en antioxidantes provenientes de la región del Chaco Semiárido para su aplicación en carne fresca: estudio y caracterización.

1. Introducción

El consumo de alimentos seguros se ha vuelto cada vez más exigente, ante lo cual el mercado busca implementar diversas estrategias en la presentación y conservación de estos productos, preservando o extendiendo su vida útil, manteniendo sus características organolépticas y garantizando que su consumo no cause daños en la salud (Hernández Bautista, 2010). Las formas de deterioro más importante de los alimentos son la oxidación de lípidos, así como también las alteraciones producidas por microorganismos, que representan un factor limitante en su vida útil. Para evitar este tipo de alteraciones la industria alimentaria utiliza diferentes técnicas, que van desde el envasado al vacío hasta el uso de sustancias con propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Ibañez *et al.*, 2003).

En la actualidad, se han desarrollado numerosas investigaciones respecto a la obtención de extractos ricos en compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Rodríguez- Carpena *et al.*, 2011; Rodríguez Saucedo, 2011; Kim *et al.*, 2013; Fernández López *et al.*, 2005; Armenteros *et al.*, 2013; Cando *et al.*, 2014; Ganhão *et al.*, 2011; Utrera *et al.*, 2015), los cuales podrían ser utilizados como aditivos capaces de extender la vida útil de un producto alimenticio.

1.1. Antioxidantes

Un antioxidante es cualquier molécula capaz de prevenir o retardar un proceso oxidativo, destacando aquellos antioxidantes fenólicos que está provistos de uno o más anillos aromáticos con uno o más grupos hidroxilos (OH) capaces de donar un radical H[•] con el fin de estabilizar moléculas biológicas desapareado como consecuencia de un ataque de radicales libres, a partir del cual se podría detener un proceso oxidativo (Valenzuela y Perez, 2016; Khan *et al.*, 2020). El número de grupos OH presentes en el anillo es directamente proporcional a la actividad antioxidante que presente el compuesto (Khan *et al.*, 2020).

Los antioxidantes se pueden clasificar de diferentes maneras: por un lado, pueden agruparse en enzimáticos o no enzimáticos (Hicks, 2006); otra forma de clasificación se basa en su estructura química, donde destacan los compuestos fenólicos que son metabolitos secundarios que se encuentran en las plantas y frutos (Reyes Mungía, 2011). En base a su estructura, los polifenoles simples son compuestos que tienen dos (en las posiciones 1,2; 1,3

o 1,4) o tres (en las posiciones 1,3,5 o 1,2,3) grupos OH en el anillo aromático (Peñarrieta *et al.*, 2014) Ejemplos de estas estructuras se encuentran en la Ilustración 1.1.

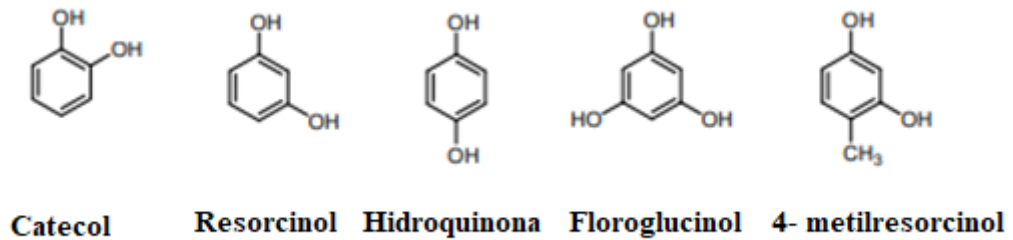


Ilustración 3.1: Estructura química de los fenoles simples (Peñarrieta *et al.*, 2014)

Por otro lado, dentro de los compuestos fenólicos se encuentran los flavonoides, los cuales constituyen el grupo más amplio, diverso y abundante en alimentos de origen vegetal. Los mismos son empleados en la industria alimentaria como saborizantes, colorantes, edulcorantes y conservantes (Mateos Martín, 2013). Los flavonoides están constituidos por dos anillos de benceno unidos por un anillo heterocíclico del tipo pirano, pirilo o γ - pirona (Arriola y Tapia, 2017). Estas estructuras se muestran en la Ilustración 1.2.

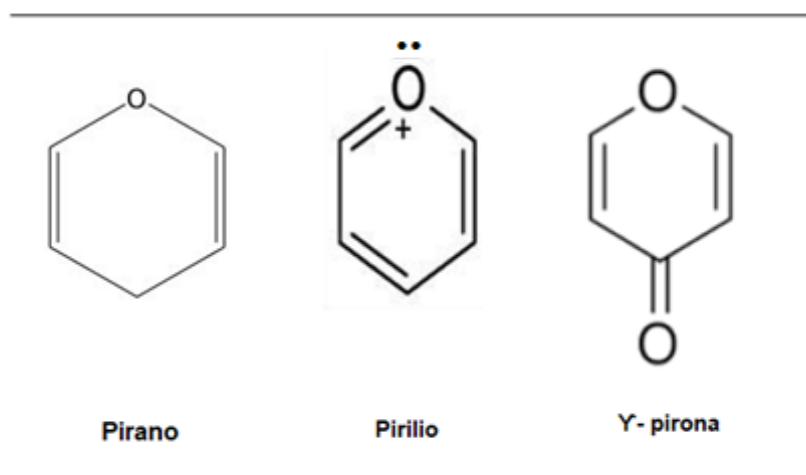


Ilustración 1.4: Estructuras de anillos heterocíclicos: pirano, pirilo y Y- pirona (Arriola y Tapia, 2017)

Según la estructura base, Arriola y Tapia, (2017) clasifican los flavonoides en:

- Flavanoles: derivados del pirano.
- Antocianos: derivados del pirilo.
- Flavonoles: derivados del Y- pirona.

Dentro del grupo flavonoles se encuentran los taninos (Arriola y Tapia, 2017), los cuales son característicos en la industria del vino (Mateos Martín, 2013) también con propiedades antioxidantes, que resultan de la polimerización de moléculas con función fenólica, y según la naturaleza de las moléculas se pueden agrupar en taninos hidrolizables (polímeros de ácidos fenólicos) o condensados (polímeros de flavan 3-oles) (Reyes Munguía *et al.* 2011; Elejalde Caravaca, 1999; Arriola y Tapia 2017). Dentro de los taninos condensados se encuentran las procianidinas o proantocianidinas, los cuales son compuestos que presentan un grado de polimerización. Son monómeros u oligómeros de flavan-3-oles, conocidos como catequinas y de flavan-3,4-dioles. Según el número de unidades de flavanol que presente en su estructura, se clasifican en dímeros, oligómeros y polímeros, si tienen más de 5 unidades monoméricas (Elejalde Caravaca, 1999). La Ilustración 1.3 muestra la estructura básica de las procianidinas.

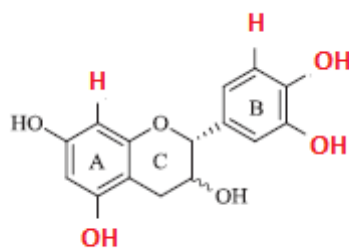


Ilustración 1.5: Estructura básica de procianidinas (Arriola y Tapia, 2017)

Según el tipo de unión, las proantocianidinas pueden ser del tipo A ($C_{30}H_{26}O_{12}$) y del tipo B ($C_{30}H_{24}O_{12}$), sus estructuras básicas se pueden observar en la Ilustración 1.4. Las procianidinas del tipo A son dímeros que presentan una unión interflavano C4-C8 o C4-C6 y un enlace éter entre los carbonos 5 o 7 (C5 o C7) de la unidad terminal y el carbono 2 (C2) de la unidad superior. Por otro lado, las procianidinas del tipo B se forman por la condensación de dos unidades de flavan-3-oles unidas entre sí por un enlace C4-C8 dando lugar a las procianidias B₁ a B₄, o bien uniones en C4-C6 obteniendo procianidinas B₅ a B₈ (Arriola y Tapia 2017).

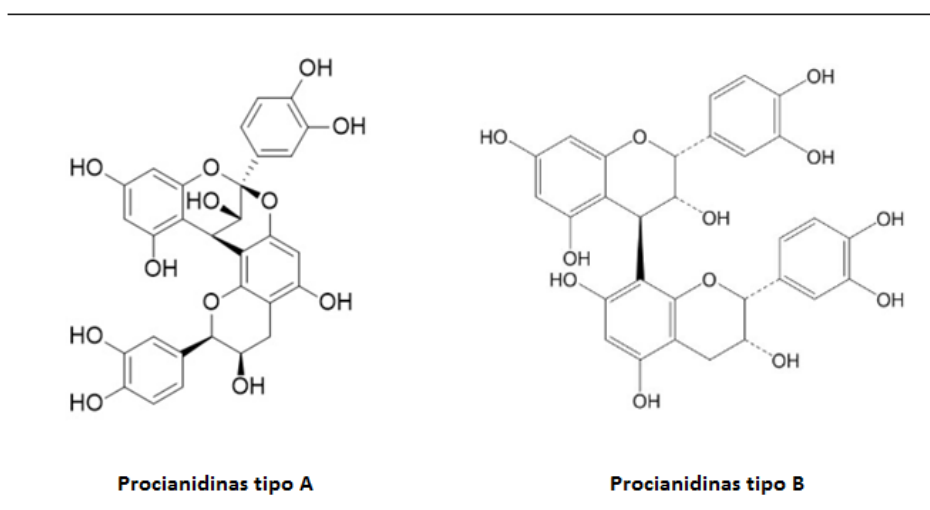
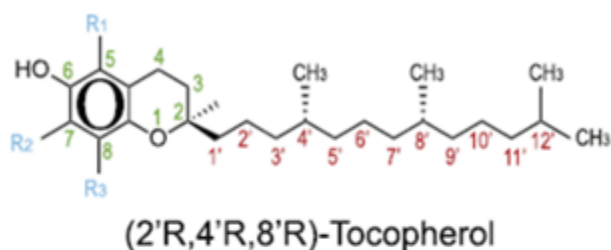


Ilustración 1.6: Estructuras básicas de procianidinas tipo A y B (Arriola y Tapia, 2017)

Otros antioxidantes muy importantes son los tocoferoles (Chasquibol *et al.*, 2003), estos se agrupan en 4 isómeros más importantes como α - tocoferol o vitamina E, γ - tocoferol, β - tocoferol y δ - tocoferol (Saini *et al.*, 2016). Sus estructuras se encuentran determinadas por el número y la posición (5 o 7) de los grupos metilos (-CH₃) presentes en el anillo de cromanol (Saini *et al.*, 2016; Azzi, 2018). En la Ilustración 1.5 se muestran las estructuras de los distintos tipos de tocoferoles extraído de Peh *et al.* (2016). Todos los tocoferoles tienen una cadena lateral de 16 átomos de carbono unidas al grupo polar: un anillo de cromanol (Saini *et al.*, 2016). Al ser compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes actúan como tal frente a radicales libres en la oxidación de lípidos (Saini *et al.*, 2016).



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

Ilustración 1.7: Estructuras de los principales isómeros de tocoferol: α , β , γ y δ - tocoferoles (Peh *et al.*, 2016)

Los tocoferoles son compuestos lábiles al calor y se encuentran en las plantas (Saini *et al.*, 2016). En particular, el α - tocoferol se localiza preferentemente en los cloroplastos de las células vegetales, mientras que las formas γ , β y δ - tocoferol en el espacio extracelular (Chasquibol *et al.*, 2003). La actividad antioxidante se basa en la capacidad de protección de las membranas celulares e impide su oxidación por radicales libres (Sayago *et al.*, 2007).

1.1.1. Tipos de antioxidantes

Los antioxidantes pueden ser sintéticos o naturales (Manzoor *et al.*, 2014). El uso de antioxidantes sintéticos tales como butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT),

terbutilhidroquinona (TBHQ), entre otros, es muy cuestionado y son cada vez menos utilizados en los alimentos por el riesgo que pueden generar en la salud de los consumidores, ya que han sido relacionados con ciertas actividades promotoras de cáncer y/o tumores (Sánchez Escalante *et al.*, 2008). Es por ello, que en los últimos años ha surgido una gran demanda de antioxidantes obtenidos de fuentes naturales (Manzoor *et al.*, 2014), los que “a priori” pueden ser mejores que los sintéticos constituyendo de esta manera, una buena alternativa para la industria cárnica (Khan *et al.*, 2020).

1.2. Antimicrobianos

El deterioro de los alimentos también es causado por el desarrollo de microorganismos y una forma de prevenirlo es mediante el uso de conservantes (Mostafa *et al.*, 2018). De igual forma, a la que se mencionó anteriormente, pueden ser químicos o naturales (Silva *et al.*, 2018; Mostafa *et al.*, 2018), sin embargo, los conservantes del tipo químicos pueden tener efectos adversos en la salud de los consumidores, como náuseas, alergias, asma, insuficiencia renal, formación de células cancerígenas; por lo que una buena alternativa serían los de origen natural (Silva *et al.*, 2016; Bondi *et al.*, 2017; Mostafa *et al.*, 2018). Los compuestos fenólicos además de ser antioxidantes pueden ser antimicrobianos, es decir ser capaces de inhibir el desarrollo de bacterias, especialmente Gram positivas, sin embargo, pueden resultar poco eficaces contra bacterias Gram negativas resistentes, debido a su bicapa lipídica que ejerce un efecto protector de las mismas (Silva *et al.*, 2018).

1.3. Fuentes de extracción de antioxidantes y antimicrobianos naturales

Los antioxidantes naturales pueden ser obtenidos de diversas fuentes naturales, como alimentos (Mejía Lotero *et al.*, 2018), residuos agroalimentarios (Serrano León *et al.*, 2018; Schmidt *et al.*, 2020), pétalos de flores (Khan *et al.*, 2020) o en general, a partir de diferentes partes de las plantas, tales como tallos, hojas, semillas o frutos (García Andrade *et al.*, 2013; Kumar Sharma *et al.*, 2014; Orqueda *et al.*, 2017; Mejía Lotero *et al.*, 2018), que se caracterizan por ser una fuente importante de compuestos con propiedades antioxidantes tales como ácido ascórbico, α -tocoferol, catequinas, ácido elágico, resveratrol y flavonoles (Khan *et al.*, 2020).

1.4. Especies nativas del Chaco Semiárido como fuentes de antioxidantes naturales

Santiago del Estero es una provincia que integra el Gran Chaco Americano, rica en vegetación autóctona, que constituyen parte de la flora nativa de la provincia (Palacio y Roger, 2016). Las especies pertenecientes a la familia de Leguminosas son muy abundantes e importantes para la población, ya que además de formar parte de los bosques nativos son muy empleadas por sus múltiples usos alimenticios, forrajes, medicinales, fabricación de artesanías, leña y tintóreas. Dentro de los géneros mejor representados de esta familia se encuentran *Prosopis* y *Acacia*, entre otros. El género *Prosopis* abarca aproximadamente 44 especies de composición arbórea y arbustiva de zonas áridas y semiáridas. *Prosopis alba* Griseb. var. *Alba* es conocido vulgarmente como “Algarrobo blanco”, un árbol corpulento con espinas y hojas bipinadas, flores pequeñas, y frutos legumbre (Palacio y Roger, 2016). El segundo género más representativo corresponde a *Acacia* Mill, que incluye aproximadamente unas 600 especies propias de regiones subtropicales y templado- cálidas. En Argentina hay aproximadamente cerca de 20 especies de éste género distribuidas en todo el territorio. El género *Acacia aroma* Gillies ex Hook. et Arn. conocido vulgarmente como “Tusca” es un arbusto caducifolio con espinas geminadas, hojas alternas bipinadas o agrupadas en fascículos, de flores pequeñas y fruto tipo vaina alargada generalmente con varias semillas (Palacio y Roger, 2016). Otra especie autóctona abundante en la región es la correspondiente al género *Sarcomphalus mistol* (Griseb.) Hauenschild o *Ziziphus mistol*, conocido vulgarmente como “Mistol”, perteneciente a la familia de Ramnáceas. Es una especie arbórea exclusiva del Chaco argentino y se encuentra en todo el territorio santiagueño. También tiene múltiple uso (forestal, alimenticio, medicinal, forrajero y tintóreo). Es un árbol espinoso de hojas simples alternas, flores pequeñas y agrupadas en cimas, con fruto tipo drupa comestible (Palacio y Roger, 2016).

De acuerdo a estudios realizados por diferentes autores, las hojas de las tres especies mencionadas anteriormente: Algarrobo blanco, Tusca y Mistol, constituyen una fuente interesante para la obtención de conservantes naturales e ingredientes por las características antioxidantes que presentan (Astudillo *et al.*, 2000; Tamayo *et al.*, 2008; Colares y Arambarri, 2008; Arias *et al.*, 2004).

1.5. Métodos de extracción

Existe una amplia diversidad de métodos de extracción de los compuestos con propiedades bioactivas, como ser, el uso de baño de agua a 90°C durante 20 minutos seguido por un baño de ultrasonido a temperatura ambiente durante 15 minutos, con una mezcla de etanol: agua al 80:20 v/v (Schmidt *et al.*, 2020; Serrano León *et al.*, 2018); baño de ultrasonido con etanol 95°, mediante una triple extracción (Orqueda *et al.*, 2017), baños de ultrasonidos con mezclas de acetona: agua 70:30 v/v (Cardozo *et al.*, 2011; Ruiz *et al.*, 2019); agitación con mezclas de acetona: agua al 70:30v/v, etanol: agua al 50:50 v/v, metanol: agua 50:50 v/v y etanol, metanol y agua durante 1 hora a 20°C (Ruiz *et al.*, 2019), etanol a temperatura ambiente durante 7 días o decocción con agua destilada durante 20 minutos (Cardozo *et al.*, 2011), maceración nocturna a 4°C con etanol y agua destilada estéril (Pellarín *et al.*, 2013) o maceración con acetona: agua al 70:30 v/v (García Andrade *et al.*, 2013), infusiones o extractos hidro- alcohólicos (Taboada *et al.*, 2019), por citar algunos ejemplos.

2. Hipótesis

Los compuestos bioactivos de las especies nativas anteriormente citadas del Chaco Semiárido, tienen potencial capacidad antioxidante y antimicrobiana.

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Evaluar propiedades antioxidantes y antimicrobianas de especies autóctonas del Chaco Semiárido que puedan ser empleadas como conservantes.

3.2. Objetivos específicos

- Determinar el contenido de fenoles totales, el de procianidinas y la capacidad antioxidante y antimicrobiana de los extractos de Algarrobo blanco, Tusca y Mistol mediante el empleo de diferentes mezclas de solventes.
- Seleccionar la mejor mezcla de solventes empleados para la extracción de los compuestos antioxidantes y antimicrobianos.

- Seleccionar las especies vegetales con mejor comportamiento en términos de capacidad antioxidante y antimicrobiana.

4. Materiales y métodos

Se recolectaron hojas de plantas de *Prosopis alba* (Algarrobo blanco), *Acacia aroma* (Tusca) y *Zizhipus mistol* (Mistol) procedentes del Campo Anexo Experimental “Francisco Cantos” perteneciente a la Estación Experimental Agropecuaria Santiago del Estero de INTA (28° 03’ LS; 64° 15’ LW; 169 m.s.n.m.).

La obtención de los extractos con mezclas de solventes orgánicos, determinación de compuestos fenólicos procianidinas, contenido de fenoles y procianidinas por HPLC y su capacidad antioxidante se realizó en los laboratorios del Instituto de Investigación de Carne y Productos Cárnicos (IProCar) perteneciente a la Universidad de Extremadura, España. En tanto que la obtención de extractos del tipo infusión y determinación de contenido de fenoles totales y su capacidad antioxidante, así como la determinación de la actividad antimicrobiana de ambos tipos de extractos se realizó en los laboratorios de la Universidad Nacional de Santiago del Estero (UNSE).

4.1. Obtención del material vegetal

Se recolectaron hojas (de tres plantas por especie) de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) durante los meses de noviembre y diciembre del año 2015 y 2017, a partir de las cuales se trabajó con una muestra compuesta para cada especie (García *et al.*, 2017). Las mismas se cosecharon verdes y se secaron a temperatura ambiente dispuestas en papel absorbente en habitaciones cerradas; luego se liofilizaron, envasaron y congelaron a -20 °C hasta su procesamiento.

4.2. Extracción de compuestos bioactivos

La extracción de los compuestos bioactivos se realizó de dos formas. Por un lado, se molieron las hojas cosechadas en el año 2015 en un molino de bolas (MM 400, Retsch-Germany), y se utilizó para la extracción de estos compuestos dos tipos de solventes (etanol y acetona) en distintas proporciones con agua: 5:95, 20:80, 50:50, 70:30 y 95:5 v/v, a fin de determinar la mejor relación etanol: agua y acetona: agua, en base al mejor comportamiento

bioactivo. Se trabajó con una relación sólido: líquido (g/mL) de 1:25, empleando tubos falcon. La extracción se realizó en baño de ultrasonidos durante 45 minutos, con periodos de sonicación de 15 minutos. Los tubos se centrifugaron a 3000 g durante 3 minutos en centrífuga Eppendorf (5810R- Germany). La fracción líquida se recuperó en matraz de 25 mL mediante filtración utilizando papel de filtro Whatman N° 54. Los extractos se obtuvieron por triplicado y conservaron en frascos con tapa a rosca a -25°C hasta su posterior análisis (Ganhão *et al.*, 2010). Por otro lado, también se realizó la extracción de compuestos bioactivos con hojas cosechadas en el año 2017, con agua a 90°C (infusión) siguiendo la metodología de Lin *et al.* (2014) con algunas modificaciones. Las hojas se molieron en molino provisto de malla para tamaño de partícula de 1 mm (CT 193 Cyclotec- China), y se prepararon infusiones con una relación sólido: líquido 1:10 en agua a 90°C utilizando baño de ultrasonido durante 20 minutos. Posteriormente se separó el residuo del sobrenadante, el cual fue centrifugado a 3000 g x minuto durante 15 minutos a temperatura ambiente. El sobrenadante obtenido fue filtrado y transferido a matraces de 10 mL y enrasado. Las infusiones se prepararon por triplicado, se envasaron en frascos de color opacos y se mantuvieron en refrigeración hasta su análisis.

En la Ilustración 1.6 se detallan los distintos tipos de extractos e infusiones preparadas.

v/v	Etanol: agua					Acetona: agua					Agua
	5:95	20:80	50:50	70:30	95:5	5:95	20:80	50:50	70:30	95:5	90°C
AB	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
M	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Ilustración 1.8: Mezclas de solventes empleados en la extracción de compuestos bioactivos a partir de hojas de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M).

4.3.Determinaciones realizadas

4.3.1. Contenido de fenoles totales

El contenido total de compuestos fenólicos (CTF) se determinó por medio del reactivo Folin- Ciocalteu, siguiendo la metodología descrita por Rodríguez- Carpena *et al.* (2011). Una alícuota de 200 μ L de los extractos se mezcló en tubos eppendorff con 1000 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu al 10% y 800 μ L de carbonato de sodio al 7,5%. Se dejó reposar en oscuridad durante 30 minutos, posteriormente se midió absorbancia a 765 nm mediante espectrofotómetro UV (UV- 1800. Shimadzu- USA). La concentración de los compuestos fenólicos se calculó utilizando una curva patrón de ácido gálico con un rango de concentración de 5 hasta 100 mg de ácido gálico/L. Las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como miligramos de equivalente de ácido gálico por mL de extracto (mg ac. gálico/ mL extracto).

4.3.2. Extracción y determinación del contenido de procianidinas

A partir de los extractos de las especies vegetales obtenidos con mezclas de etanol: agua y acetona: agua se determinó el contenido de procianidinas empleando mezclas de butanol/ HCl de acuerdo al método descrito por Grabber *et al.* (2013), utilizando el reactivo de Porter. Se preparó 100 mL del reactivo con 40 mg de sulfato de amonio hierro (III) dodecahidrato en 3,3 mL de agua, 5 mL de HCl 12 N y 92 mL de la mezcla acetona: butanol (1:1). Se mezcló 50 μ L del extracto con 2 mL del reactivo de Porter en tubos eppendorf, y se calentó durante 45 minutos a 70 °C. Para la curva de calibración se utilizó como estándar, procianidinas B₂ a diferentes concentraciones (0,06- 0,25 mg de procianidinas B₂/mL). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados fueron expresados en mg de procianidinas por 100 g de materia seca (mg Procianidinas B₂/ 100 g MS).

4.3.3. Compuestos fenólicos por Cromatografía líquida (HPLC)

El perfil de compuestos fenólicos totales se analizó por HPLC. Los compuestos fenólicos monoméricos se determinaron por el método de HPLC descrito por Ganhão *et al.* (2010) y Simirgiotis *et al.* (2012) con algunas modificaciones. Se realizó una extracción de los compuestos a partir de 100 mg de hojas molidas con 1 mL de acetona: agua 70:30 v/v en baño de ultrasonidos durante 30 minutos. Los extractos se centrifugaron a 5000g durante 5

minutos y el sobrenadante se recogió y almacenó en refrigeración hasta su análisis (<24 horas). La separación analítica de los compuestos fenólicos se llevó a cabo en una columna Nova- Pack C18 (150 mm longitud 3,9 mm de diámetro interno x 4 µm de diámetro de partícula). La fase móvil consistió en fosfato de amonio dihidrógeno al 50 mM ajustado a pH 2,6 con ácido ortofosfórico (disolvente A), disolvente A al 20% con acetonitrilo al 80% (disolvente B) y ácido ortofosfórico 0,2 M ajustado con amoniaco a pH 1,5 (disolvente C). La temperatura de la columna se ajustó a 40°C. Las condiciones de elución fueron las siguientes: elución isocrática 100% A durante 0-5 minutos; gradiente lineal de 100% A a 96% A/ 4% B, durante 5-15 min; hasta 92% A/ 8% B, durante 15-25 min; paso a paso hasta 8% B/ 92% C, durante 25-25,01 minutos; gradiente lineal hasta 20% B / 80% C, 25,01-45 min; hasta 40% B / 60% C, 45-55 minutos; hasta 80% B/ 20% C, durante 55-65 minutos; elución isocrática 80% B/ 20% C, durante 65-70 minutos; gradiente lineal hasta 100% A, 70-75 minutos; *post-time* 15 minutos antes de la siguiente inyección. El caudal empleado fue de 0,5 mL/ minuto (Ganhão *et al.*, 2010).

Sobre la base del tiempo de retención y los espectros UV- Visible, los compuestos fenólicos se clasificaron en seis subclases: ácidos hidroxibenzoicos (como equivalentes de ácido gálico, 280 nm), catequinas (expresadas como equivalentes de catequinas, detección de fluorescencia $\lambda_{ex} = 280$ nm, $\lambda_{em} = 322$ nm), ácidos hidroxicinámicos (como equivalentes de ácido cafeico, 320 nm), flavonoles (como equivalentes de quercetina, 365 nm), flavonas (como equivalentes de apigenina, 330 nm) y chalconas (como equivalentes de florizina, 280 nm), expresados como miligramos por 100 g de material vegetal (mg/100 g).

Para la determinación del contenido total de procianidinas, se emplearon las siguientes condiciones de análisis: fase normal columna de sílice (Phenomenex Inc., Darmstadt, Alemania) (250 mm longitud x 4,6 mm de diámetro interno x 5 µm de diámetro de partícula). La temperatura de la columna se ajustó a 35°C. El volumen de inyección fue de 10 µl. La fase móvil consistió en A: diclorometano/ metanol/ agua/ ácido acético (41: 7: 1: 1, v/ v/ v), y B: diclorometano/ metanol/ agua/ ácido acético (5: 43: 1: 1, v/ v/ v). Se inició la elución con 100% de A, seguido de 0- 13,5% de B, durante 0-20 minutos; 13,5- 29,2% de B, durante 20- 50 minutos; 29,2- 100% de B, durante 50-55 minutos; 100% B, durante 55- 60 minutos. La separación fue monitoreada utilizando detección de UV ($\lambda = 280$ nm) y fluorescencia ($\lambda_{ex} = 280$ nm, $\lambda_{em} = 323$ nm). Como estándar para la cuantificación del

contenido total de procianidinas se empleó catequina, expresados como miligramos por 100 g de material vegetal (mg/100 g) (Ganhão *et al.*, 2010).

La identificación y cuantificación de los compuestos se realizó por triplicado.

4.3.4. Contenido de α - y γ - Tocoferoles por Cromatografía líquida (HPLC)

Se realizó la extracción de la fracción lipídica de las hojas de Algarrobo blanco, Tusca y Mistol por el método de Folch *et al.* (1957). Se pesaron 2 g de la especie vegetal liofilizada y se mezcló con 25 mL de una solución de cloroformo: metanol en la proporción 2:1 respectivamente. Dicha solución se mezcló con 10 mL de agua al 0,75% de NaCl y se centrifugó a 3000g durante 5 minutos con el fin de separar las fases, obteniendo por un lado agua y metanol y por otro, cloroformo. Se realizó la extracción de la fase orgánica (metanol y agua) mediante filtración al vacío, de esta manera la fase orgánica se recogió y lavó con una solución salina de Na₂SO₄, y a continuación se evaporó en un rotavapor (Laborota 4000-Heidolph, Alemania). Luego, con el fin de evaporar completamente el cloroformo, se pasó por una corriente de N₂ hasta sequedad. El residuo se preservó en desecador durante media hora. Posteriormente se lo re- disolvió en isopropanol y se reservó 2 mL en eppendorf a -80°C. La cuantificación de α y γ - tocoferoles de los extractos se realizó mediante HPLC de acuerdo a la técnica descrita por Rodriguez Carpena *et al.* (2012). Se utilizó un equipo de HPLC “Prominence Auto Sample” de Shimadzu (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón), equipado con un sistema de administración del disolvente cuaternario (LC-20AD), un desgasificador en línea DGU- 20AS, con muestreador automático SIL- 20A, detector de fluorescencia RF-10A XL y un controlador del sistema CBM-20A. La separación de los componentes se realizó mediante una columna de fase reversa C18 (100 mm longitud x 4,6 mm de diámetro interno, 5 μ m de diámetro de partícula) fabricada por Phenomenex (EEUU). Se trabajó con una fase móvil de acetonitrilo de grado HPLC, un caudal de 1 mL/ minuto y tiempo de corrida de 10 minutos. Los picos se registraron a λ_{ex} = 285 nm y λ_{em} = 235 nm. Las fases móviles se filtraron mediante un sistema de filtración al vacío “Millipore” equipado con un filtro con poros de 0,45 μ m y se inyectaron 2 μ L de cada muestra (por duplicado). El control del sistema y la obtención de los datos se realizaron utilizando un software Shimadzu “solución LC” (Shimadzu corporation, Kyoto, Japón). Las curvas de calibración se

prepararon utilizando estándares de α y γ - tocoferol de Sigma- Aldrich (Steinheim, Alemania). Los resultados se expresaron en mg tocoferol/100 g material vegetal.

4.3.5. Capacidad antioxidante (CA) *in vitro*

4.3.5.1. Ensayo de decoloración del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazyl (DPPH \cdot)

Para determinar la capacidad de inhibición de los extractos por la técnica de DPPH \cdot se preparó una solución de 1,1- difenil-2-picrilhidrazyl 0,1 M en metanol de acuerdo al método descrito por Ganhão *et al.* (2010). Previamente a la realización de esta prueba se ajustó la concentración de los extractos a las condiciones del ensayo. Posteriormente se mezclaron en tubos eppendorf 33 μ L de cada extracto con 2000 μ L del radical libre DPPH \cdot (Absorbancia \sim 1200), se dejaron reposar durante 6 minutos en oscuridad y se midió la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro UV (UV- 1800. Shimadzu- USA). Se utilizó una curva patrón de Trolox a diferentes concentraciones (0,25; 0,5; 1; 1,5; y 2 mM). Las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron en mM Trolox por mL de extracto (mM Trolox/ mL extracto).

4.3.5.2. Método CUPRAC

Se determinó la capacidad antioxidante mediante el método de CUPRAC, utilizando cobre y neocuproína como agente oxidante cromogénico (Apak *et al.*, 2004). Este método determina la habilidad de los extractos para reducir el ión cobre. En un tubo de ensayo con tapa rosca se agregó 1 mL de cada reactivo (cloruro de cobre 0,2 M, neocuproína 7,5 mM en etanol, y acetato amónico), 0,1 mL de extracto y 1 mL de agua destilada. Se mezcló y dejó reposar en oscuridad durante 30 minutos, y se midió la absorbancia a 450 nm en un espectrofotómetro UV (UV- 1800. Shimadzu- USA). Se utilizó una curva patrón de Trolox a diferentes concentraciones (0,25; 0,5; 1; 1,5; y 2 mM). Las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron en mM Trolox por mL de extracto (mM Trolox/ mL extracto).

4.3.5.3. Método del Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS^{·+}) (en infusiones)

Se realizó siguiendo la metodología propuesta por Ozgen *et al.* (2006). Se preparó una solución del radical catiónico mezclando una solución stock de ABTS (7 mM) con una solución de persulfato de potasio (22,45 mM). Las soluciones permanecieron a temperatura ambiente en condiciones de oscuridad durante 16 horas. Posteriormente se realizó una dilución con agua destilada hasta alcanzar una absorbancia de 0,7-1 medida con espectrofotómetro UV-Visible a 734 nm. Para realizar las determinaciones se tomó 3 mL de solución de ABTS, a la cual se agregó una alícuota de cada extracto de hojas y se midió la evolución de la absorbancia a 734 nm en función del tiempo. Las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron en mM Trolox por mL de extracto (mM Trolox/ mL extracto).

4.3.6. Actividad antimicrobiana *in vitro*

La determinación de la actividad antimicrobiana se realizó sobre los extractos que obtuvieron los mejores resultados en cuanto al CFT y CA determinada en los apartados precedentemente descritos; así como también en infusiones, ambos, de las tres especies en estudio: AB, T y M.

Para evaluar el efecto antimicrobiano de los extractos e infusiones se utilizaron ocho cepas bacterianas de referencia: *Bacillus cereus* (FCEN-UBA), *Listeria monocytogenes* (ATCC 15313), *Escherichia coli* (ATCC 25922 y ATCC 8739) y *Salmonella enteritidis* (ATCC 13036), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 15442).

Todas las cepas bacterianas utilizadas corresponden a patógenos de origen alimentario susceptibles de ser encontrados en productos cárnicos, las cuales proceden del cepario del Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA) pertenecientes al Centro de Investigaciones Agronómicas de INTA y del Laboratorio de Microbiología de Alimentos, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA. Previo a su utilización, fueron activadas por inoculación en caldo cerebro corazón (caldo

BHI, Britania, Argentina). Se transfirieron 10 μ L de cultivo a 10 mL del caldo. Los medios inoculados se incubaron a 37°C durante 24 h para tener células en fase de crecimiento exponencial.

Para la determinación de la actividad antimicrobiana se empleó el método de difusión en discos en agar cerebro corazón (agar BHI, Britania, Argentina), siguiendo la metodología descrita por Rodríguez- Carpena *et al.* (2011). Una alícuota de 100 μ L de los cultivos bacterianos con aproximadamente 10^6 UFC/ mL (medido con escala de Mc Farland, Britania, Argentina) se extendió sobre la superficie de agar BHI. A continuación, se impregnaron discos de papel estériles con 20 μ L de cada extracto (dejando secar antes de ser colocados en los agares correspondientes). Como control positivo se utilizaron discos de ciprofloxacina (CIP) de 5 μ g, con el fin de verificar la acción bacteriana de las diferentes cepas estudiadas. Las determinaciones se realizaron por triplicado. Las placas, una vez inoculadas, se incubaron a 37°C durante 24 h. Posteriormente, se evaluó la actividad antimicrobiana a través de la medición del halo de inhibición (zona clara) desarrollada alrededor del disco de papel mediante el uso de calibre digital. La determinación de las medidas realizadas incluyó el diámetro de los discos (6 mm).

4.4. Análisis estadístico

Se trabajó con un diseño factorial incompleto de 3x11, donde el factor A corresponde a las especies vegetales, con tres niveles: AB, T y M, y el factor B a los solventes de extracción con 11 niveles: acetona: agua y etanol: agua en las diferentes proporciones (5:95, 20:80, 50:50, 70:30 y 95:5 v/v) y agua a 90°C. Para ello se utilizó el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} es la observación de las variables respuestas correspondiente al i -ésimo nivel del factor A, y al j -ésimo nivel del factor B (para el CFT, contenido de procianidinas, tocoferoles, CA por CUPRAC, DPPH· y actividad antimicrobiana).

μ es la media general

A_i es el efecto fijo debido al i -ésimo nivel de la especie vegetal (i : 1, 2 y 3).

B_j es el efecto fijo debido al j -ésimo nivel del solvente en diferentes proporciones (j : 1, 2,3,4,5,6,7,8,9,10,11).

ε_{ij} es el error o residuo del modelo.

La comparación de medias se realizó a través de un análisis de la varianza (ANOVA). Como test a posteriori, se contrastaron las medias utilizando la prueba de Tukey, considerando una significancia de $\alpha= 0,05$. Para el análisis de datos se utilizó el software estadístico InfoStat versión Professional, 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2017).

5. Resultados y discusión

5.1. Contenido de fenoles totales (CFT)

El CFT de las especies AB, T y M extraído con diferentes proporciones de etanol: agua y acetona: agua, y agua a 90°C se muestran en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1: Contenido de Fenoles Totales de extractos de hojas de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) con etanol: agua y acetona: agua en diferentes proporciones, y agua a 90°C.

	CFT: mg ácido gálico/mL			<i>p</i> - valor Especies vegetales
	AB	T	M	
E 5:95	0,03±0,003 fg	0,01±0,003 fg	0,03±0,002 ef	
E 20:80	0,03±0,002 fg	0,03±0,002 d	0,04±0,003 de	
E 50:50	0,05±0,0005 cd	0,05±0,002 c	0,05±0,003 cd	
E 70:30	0,05±0,002 c	0,05±0,002 bc	0,06±0,01 c	
E 95:5	0,02±0,001 g	0,03±0,001 e	0,02±0,001 f	
A 5:95	0,03±0,002 g	0,01±0,002 f	0,04±0,01 e	
A 20:80	0,04±0,002 ef	0,01±0,002 f	0,06±0,0006 c	
A 50:50	0,07±0,004 Bb	0,07±0,001 Ba	0,09±0,004 Aa	0,005
A 70:30	0,08±0,003 Aa	0,06±0,01 Bb	0,07±0,002 Ab	0,001
A 95:5	0,04±0,001 de	0,03±0,002 d	0,02±0,001 f	
Agua 90°C	8,2x10 ⁻⁵ ±3,0x10 ⁻⁶ h	5,0x10 ⁻⁵ ±2,0x10 ⁻⁶ g	1,0x10 ⁻⁴ ±2,0x10 ⁻⁶ g	
<i>p</i>- valor Solventes	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

Datos expresados como promedio ± desviación estándar. Medias con letras distintas A-B para el efecto extracto y a-h para el efecto solvente son significativamente diferentes ($p < 0,05$). E: etanol: agua; A: Acetona: agua.

La polaridad de los solventes de extracción y sus mezclas tuvieron un impacto significativo en la extracción de compuestos fenólicos. La mayor eficiencia de extracción de compuestos bioactivos fue obtenido con las mezclas de acetona: agua y etanol: agua en las proporciones 50:50 v/v y 70:30 v/v. La mayor cantidad de CFT con mezclas acetona: agua al 50:50 v/v fue obtenido con hojas de M, mientras que no se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) entre AB y T. Para la mezcla acetona: agua al 70:30 v/v, las especies de mayor CFT fueron AB y M. El efecto de las proporciones de acetona y agua en la eficiencia de extracción es consistente con lo reportado por Michiels *et al.* (2012). En la Tabla 1.1 también es posible advertir una variabilidad en el CFT de los extractos de acuerdo al tipo de solvente y a las proporciones empleadas en la extracción. Esto se corresponde con lo informado por diversos autores (Zhou *et al.*, 2004; Ojito Ramos *et al.*, 2012; Tomson *et al.*, 2012; Upadhyay *et al.*, 2013; Fernández Agulló *et al.*, 2013; Deng *et al.*, 2014). Michiels *et al.* (2012), también demostraron que el tiempo de extracción, la relación solvente- sólido y las condiciones de almacenamiento influyen en el proceso. Existen diversos métodos de extracción de las especies naturales, los cuales van desde la utilización de agua destilada (en doble extracción) (Vossen *et al.*, 2012), etanol a 40°C y liofilización (Bianchin *et al.*, 2017) hasta el uso de metanol con posterior evaporación con corriente de nitrógeno (Brannan *et al.*, 2018).

De acuerdo a la literatura consultada, García Andrade *et al.* (2013) evaluaron hojas de otra especie de *Prosopis*: *P. leavigata*, mediante extractos de acetona: agua al 70:30 v/v y reportaron valores de 70,84 mg ácido gálico/g, los que resultaron ser inferiores a los informados en el presente trabajo en hojas de AB con la misma mezcla y proporción de solvente: 0,08 mg ácido gálico/mL= 83,12 mg ácido gálico/g, sin embargo, resultaron ser próximos a los extractos de acetona: agua de AB al 50: 50 v/v del presente trabajo: 0,07 mg ácido gálico/mL= 74,58 mg ácido gálico/g. Arias *et al.* (2004) analizaron el CFT de hojas de T mediante la elaboración de extractos con etanol: agua al 60:40 v/v empleando diversos métodos de extracción como: maceración, lixiviación y decocción; pero expresaron los resultados en equivalente de cumárico, por lo que los resultados no pueden compararse con los obtenidos en el presente estudio. Taboada *et al.* (2019) determinaron el CFT de hojas de T mediante extractos hidroalcohólicos al 10% e infusión al 5%, y obtuvieron mayor cantidad de estos compuestos en infusión (94,61 mg ácido gálico/g), a diferencia de lo que ocurre en el presente trabajo, donde las infusiones permitieron extraer la menor cantidad de estos compuestos. Los

valores reportados por Taboada *et al.* (2019) en infusiones de T fueron mayores que los hallados en extractos de esta misma especie con acetona: agua 70:30 v/v: 57,90 mg ácido gálico/g y acetona: agua al 50:50 v/v: 72,84 mg/ g. Por otro lado, Colares y Arambarri (2008) realizaron solo tests rápidos para la determinación de taninos en hojas de M, mientras que Pellarín *et al.* (2013) trabajaron con extractos acuosos y etanólicos del fruto de M y reportaron valores de 7,82 y 11,33 mg ácido gálico/g respectivamente, que resultaron ser inferiores a los obtenidos en extractos de hojas de la misma especie con acetona: agua al 70:30 o 50:50 v/v. En cuanto al empleo de extractos naturales como conservantes en una matriz alimentaria, por ejemplo, Kim *et al.* (2013) utilizaron extractos etanólicos de diversas especies vegetales como aditivos en la preparación de hamburguesas e indicaron valores de CFT de 4,5 a 27,18 mg ácido gálico/ g de material seco, dependiendo de la especie vegetal, valores que resultan ser inferiores a los obtenidos en las especies vegetales AB, T y M (en sus valores expresados en g). De acuerdo con estos resultados, las hojas de las tres especies evaluadas en el presente trabajo constituyen una importante fuente de compuestos fenólicos y el comportamiento de los solventes de extracción utilizados es consistente con lo informado en la literatura disponible. En este sentido, en principio, estos extractos naturales podrían ser utilizados como preservantes en una matriz alimentaria, especialmente AB y M por sus elevados CFT.

5.2. Contenido de procianidinas

El contenido de procianidinas (CP) de los extractos obtenidos se muestra en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2: Contenido de procianidinas de extractos de hojas de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) obtenidos con etanol: agua y acetona: agua en diferentes proporciones.

	Procianidinas: mg procianidinas B2/mL			<i>p</i> - valor Especies vegetales
	AB	T	M	
E 5:95	0,04±0,004 ef	0,01±0,003 e	0,03±0,01 d	
E 20:80	0,07±0,01 e	0,22±0,01 b	0,04±0,02 d	
E 50:50	0,2±0,02 Bcd	0,2±0,01 Bb	0,3±0,01 Aa	0,0001
E 70:30	0,18±0,004 cd	0,14±0,02 c	0,18±0,03 b	
E 95:5	0,02±0,001 f	0,24±0,03 b	0,02±0,01 d	
A 5:95	0,07±0,01 e	0,02±0,01 e	0,06±0,05 cd	
A 20:80	0,17±0,01 d	0,09±0,02 d	0,13±0,03 b	
A 50:50	0,35±0,01 Aa	0,34±0,03 Aa	0,28±0,01 Ba	0,005
A 70:30	0,21±0,004 Bc	0,2±0,02 Bb	0,31±0,02 Aa	0,0004
A 95:5	0,26±0,03 Ab	0,24±0,01 Ab	0,12±0,01 Bbc	0,0002
<i>p</i>- valor Solventes	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

Datos expresados como promedio \pm desviación estándar. Medias con letras distintas A-B para el efecto extracto y a-f para el efecto solvente son significativamente diferentes ($p < 0,05$). E: etanol: agua; A: Acetona: agua.

En la Tabla 1.2 se puede observar que para los extractos de AB, el mayor CP se obtuvo, en primer lugar, usando acetona: agua al 50: 50 v/v y en segundo lugar, acetona: agua al 95:5 v/v, mientras que para los extractos T, los de mayor contenido fueron los obtenidos con las proporciones de acetona: agua al 50: 50 v/v, seguidos por acetona: agua al 95:5 v/v y 70:30 v/v y etanol: agua al 95:5, 20:80 y 50:50 v/v. Finalmente, para la especie M, los extractos de acetona: agua al 70:30 y 50: 50 v/v y etanol: agua 50:50 v/v fueron los de mayor CP, no encontrándose diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ellos. Por otro lado, para la mezcla de etanol: agua al 50:50 v/v, las hojas de Mistol fueron las que obtuvieron mayor CP, mientras que para la mezcla de acetona: agua al 50:50 y 95:5 v/v las de mayor CP fueron las hojas AB y T, no encontrándose diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ellas. En las mezclas de acetona: agua al 70:30 v/v, las hojas M fueron las de mayor CP.

De acuerdo a los resultados obtenidos, al igual que ocurre en CFT, en general, las mezclas de acetona: agua fueron más eficientes para la extracción de procianidinas, lo cual concuerda con lo informado por Michiels *et al.* (2012), con respecto al empleo

de mezclas de acetona para la obtención de mejores resultados. En la bibliografía consultada, se hallaron varios trabajos que caracterizan a los extractos de hojas, obtenidos con diversos solventes, en función del CFT y de su capacidad antioxidante, sin embargo, los mismos no incluyen a determinación del CP. Específicamente en lo que respecta a las hojas de estudio, no se halló antecedentes respecto al CP, no obstante, García *et al.* (2017) han trabajado con estas especies nativas para ser utilizadas como forraje de rumiantes menores. Estos autores han determinado el porcentaje de taninos condensados en estos tipos de hojas, recolectadas en la misma zona, pero en el año 2013, y encontraron que las hojas de T y M presentaron mayor contenido de estos compuestos con respecto a las hojas de AB. No resulta adecuado inferir o relacionar los resultados aquí obtenidos con los hallados por dichos autores, debido a que en el mencionado trabajo no se determinó el CP, sin embargo, los mismos dan una idea del contenido de estos compuestos en las mismas especies estudiadas en este experimento.

5.3. Contenido de compuestos fenólicos y α - y γ - tocoferoles por Cromatografía líquida (HPLC)

En la Tabla 1.3 se muestra el contenido de compuestos fenólicos, procianidinas y las forma α - y γ - tocoferoles determinados por métodos HPLC.

Tabla 1.3: Contenido de compuestos fenólicos y α - y γ - tocoferoles determinados por HPLC en hojas de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M).

	AB	T	M	<i>p</i> -valor Especies vegetales
Ácidos hidroxibenzoicos	- b	24,40±5,94 a	8,63±0,96 b	0,0004
Ácidos hidroxicinámicos	6,84±1,81 c	12,80±0,95 b	20,66±1,64 a	0,0001
Catequinas	27,05±1,02 c	53,83±5,39 b	85,10±4,49 a	<0,0001
Flavonoles	124,17±18,17 b	322,14±68,48 a	56,79±2,00 b	0,0005
Flavonas	173,64±6,48 a	213,70±39,96 a	66,38±2,14 b	0,0006
Chalconas	- b	- b	123,69±6,46 a	<0,0001
Procianidinas	2319,37±60,82 a	394,41±10,50 c	709,52±35,85 b	<0,0001
<i>Fenoles totales</i>	2650,97±44,56 a	1021,28±112,58 b	1079,81±36,12 b	<0,0001
<i>α- tocoferoles</i>	1,79±0,39 a	0,53±0,10 b	- b	0,0096
<i>γ- tocoferoles</i>	0,12±0,02 a	0,04±0,00 b	- b	0,0044

Datos expresados como promedio \pm desviación estándar en mg/ 100 g de material vegetal. -: no presente.

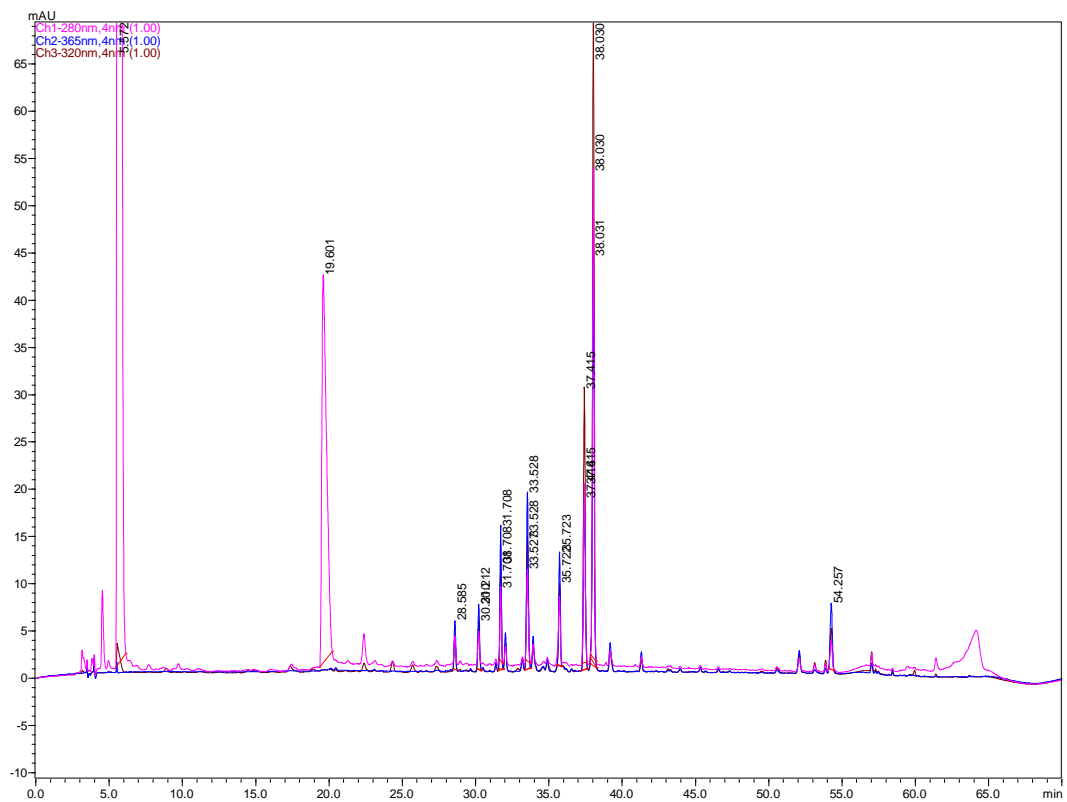


Ilustración 1.9: Cromatograma obtenido para la especie vegetal *Prosopis alba* (Algarrobo blanco)

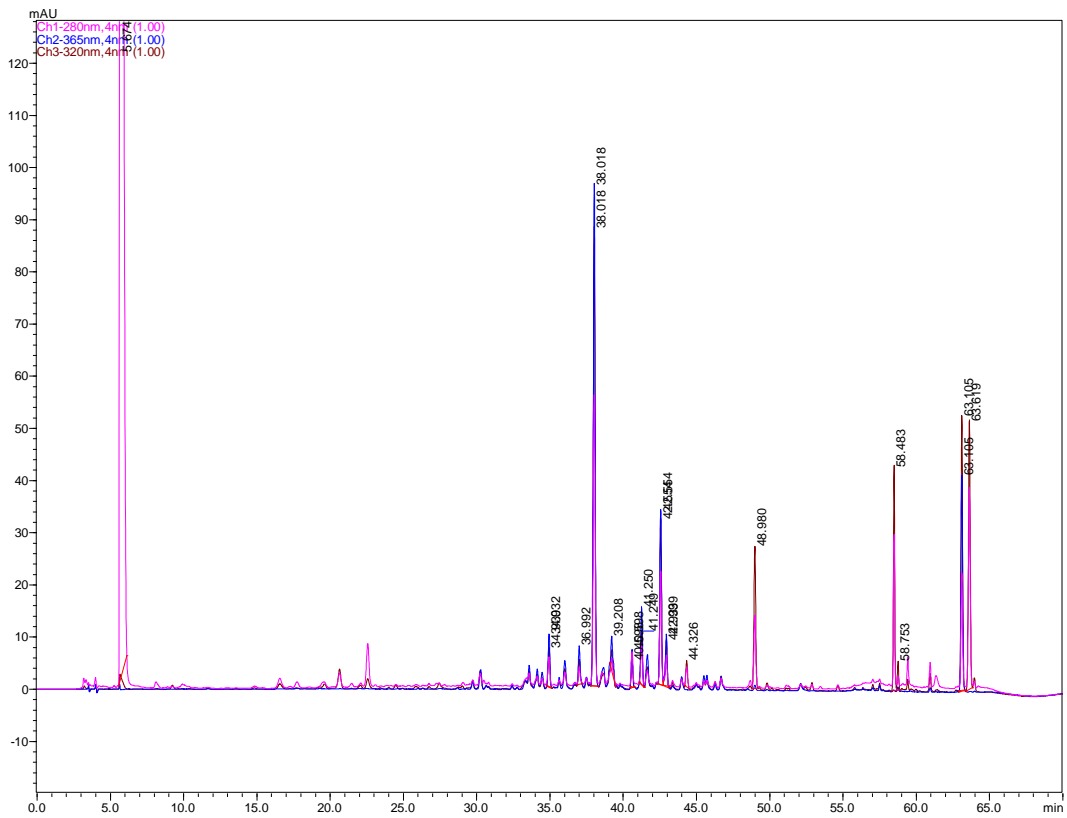


Ilustración 1.10: Cromatograma obtenido para la especie vegetal Acacia aroma (Tusca)

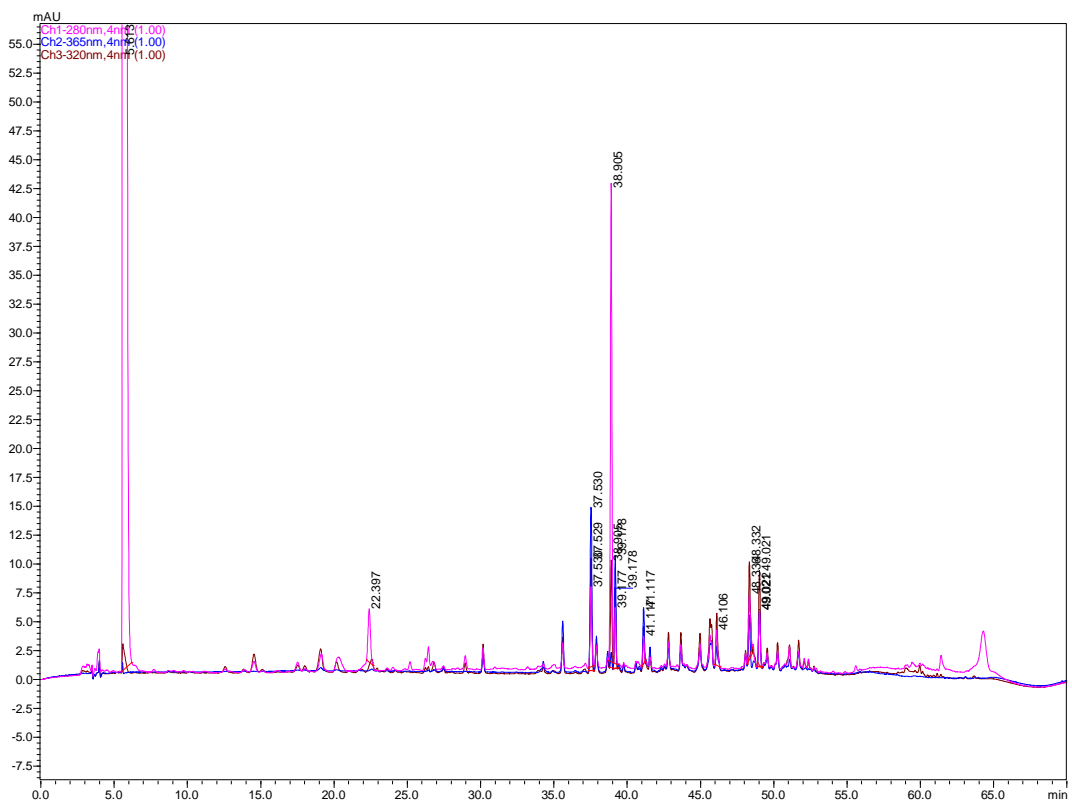


Ilustración 1.11: Cromatograma obtenido para la especie vegetal Ziziphus mistol (Mistol)

De acuerdo a los resultados expuestos en cuanto al perfil de compuestos fenólicos realizado (ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, catequinas, flavonoles, flavonas, chalconas, procianidinas) se destaca la presencia de todos estos compuestos en hojas de M, mientras que las hojas T no presentaron chalconas y las hojas de AB, no presentaron en su composición ácido hidroxibenzoicos, ni chalconas.

El contenido total de compuestos fenólicos presentes en las hojas de AB evidenciaron mayor cantidad de estos compuestos, lo cual es consistente con lo determinado por métodos espectrofotométricos utilizando extractos de acetona: agua al 70:30 v/v. Además, las procianidinas en las hojas AB representaron el 87,5% de su concentración fenólica total determinada por HPLC. Los compuestos de procianidinas son una especie de compuestos flavonoides caracterizados por sus propiedades antioxidantes, resultantes de la polimerización de moléculas como las procianidinas diméricas o triméricas (Bräunlich, *et al.*, 2013; Kalisz *et al.*, 2020).

En cuanto al contenido de compuestos fenólicos totales de las hojas T y M, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ambas. Con respecto al contenido de procianidinas, las hojas T presentaron menor cantidad que las hojas M. Las procianidinas en T representaron el 38,6% del total de compuestos fenólicos de HPLC, mientras que en las hojas M representaron el 65,7%.

En cuanto al contenido de tocoferoles, las hojas AB presentaron cantidades significativamente ($p < 0,05$) mayores de α y γ - tocoferoles, lo cual también contribuye con la CA de las hojas, ya que estos compuestos también se conocen como compuestos con propiedades antioxidantes (Joshi y Praticò, 2012), provistos de un anillo aromático, y en los cuales el número de grupos OH es directamente proporcional a la capacidad antioxidante (Khan *et al.*, 2020).

En las hojas de T también se determinó la presencia de α y γ -tocoferoles, pero en cantidades menores que en las hojas AB, mientras que las hojas M carecían de estos compuestos.

Según la literatura consultada, Hattas *et al.* (2011), han evaluado compuestos antioxidantes en varias especies leñosas de la Savana africana, entre ellas: *Acacia grandicornuta* y *Acacia exuvialis*. Determinaron una concentración total de compuestos fenólicos por HPLC más alta en *A. grandicornuta* (1760 mg/100 g) en comparación con *Acacia exuvialis* (1130 mg/100 g); este último con un valor cercano al hallado en el presente trabajo en las hojas de T y M. Estos autores también han determinado los taninos condensados totales en las especies mencionadas, pero no específicamente el

contenido de procianidinas (un tipo de tanino condensado), por lo que en este caso no se podría realizar una comparación de estos compuestos con las especies aquí estudiadas. Hattas *et al.* (2011), también evaluaron el contenido de compuestos fenólicos en especies leñosas como *Euclea divinorum* (2420 mg/100 g) y encontraron cantidades similares a las halladas en el presente trabajo en hojas AB (2651 mg/100g). Por otro lado, Astudillo *et al.* (2000), también evaluaron el contenido total de compuestos fenólicos en diferentes especies de hojas del género *Prosopis*: *P. alba*, *P. tamarugo* y *P. chilensis*. Estos autores informaron valores inferiores en hojas de *P. alba* (1950 mg/100g), en comparación con los reportados en el presente estudio en hojas del mismo tipo. También indicaron que las hojas de *P. tamarugo* y *P. chilensis* presentaron valores más altos que las hojas de *P. alba*: 5810 mg/100g y 4300 mg/100 g respectivamente. García Andrade *et al.* (2013) han analizado estos compuestos en hojas de *P. leavigata*, utilizando un extracto crudo con mezcla acetona: agua 70:30 v/v, y reportaron valores inferiores (1193 mg/100g) que los hallados en hojas de AB en el presente estudio. Estas diferencias observadas en las biopropiedades de las especies de *Prosopis* también fueron informadas por Hattas *et al.* (2011) en especies de *Acacia*.

De acuerdo con la revisión de la literatura realizada, la mayoría de los autores reportan la cantidad total de compuestos fenólicos determinados por HPLC, pero no específicamente el perfil de estos compuestos fenólicos (donde se incluyen las procianidinas), ni tocoferoles, sin embargo, se reportan los taninos condensados totales, que como se mencionara anteriormente, corresponde al grupo de compuestos en el que se encuentran las procianidinas. De esta forma, tanto el perfil de compuestos fenólicos y tocoferoles implican un aporte original y valioso en la caracterización de estas especies vegetales nativas, consecuentes de este estudio. Los cromatogramas obtenidos de las tres especies vegetales se muestran en las Ilustraciones 1.7, 1.8 y 1.9.

De acuerdo con los resultados expuestos, las especies vegetales evaluadas en este trabajo, constituyen una fuente valiosa de compuestos bioactivos y podrían en principio ser utilizadas para extender la vida útil de productos cárnicos. Además, podrían proporcionar productos seguros con propiedades funcionales con mejores características (Khan *et al.*, 2020).

5.4. Capacidad antioxidante *in vitro*

En la Tabla 1.4 se presenta la capacidad antioxidante (CA) de los extractos determinada por diferentes métodos. Se emplearon los métodos DPPH· y CUPRAC en

los extractos obtenidos con acetona y etanol, mientras que para las extracciones con agua a 90°C la CA fue determinada por DPPH· y ABTS^{·+}. Las diferentes combinaciones de métodos empleados en la determinación de CA de los extractos se deben a que las extracciones y determinaciones a base de acetona y etanol se realizaron en los laboratorios de IPROCAR, España, mientras que las infusiones, en los laboratorios de antioxidantes y procesos oxidativos de la UNSE, Argentina.

Tabla 1.4: Capacidad Antioxidante de los extractos de hojas de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) obtenidos con etanol y acetona en diferentes proporciones con agua y con agua a 90°C mediante los métodos DPPH, CUPRAC y ABTS+ según corresponda.

	AB	T	M	<i>p</i> - valor Especies vegetales	
DPPH: mM Trolox/mL	E 5:95	117,89±26,50 cd	46,19±8,77 e	35,51±8,73 ef	
	E 20:80	146,10±13,00 cd	220,97±31,20 d	116,26±42,12 cd	
	E 50:50	301,77±6,69 b	308,39±48,46 c	166,84±17,29 bc	
	E 70:30	326,23±20,00 b	402,94±20,48 ab	178,58±5,29 b	
	E 95:5	113,94±14,52 cd	173,38±29,71 d	41,94±5,53 ef	
	A 5:95	133,46±35,03 cd	52,05±16,69 e	97,07±27,94 de	
	A 20:80	181,07±58,52 c	73,21±15,31 e	147,80±27,96 bcd	
	A 50:50	398,45±21,27 Aa	389,37±31,92 Abc	291,14±31,21 Ba	0,0066
	A 70:30	461,42±2,59 Aa	478,02±13,59 Aa	313,57±15,83 Ba	<0,0001
	A 95:5	90,35±6,58 d	158,34±52,11 d	47,84±2,60 ef	
	Agua 90°C	6,25±0,83 e	3,80±0,81 e	10,79±0,04 f	
<i>p</i>- valor Solventes	<0,0001	<0,0001	<0,0001		

Datos expresados como promedio ± desviación estándar. Medias con letras distintas A-C para el efecto extracto y a-g para el efecto solvente son significativamente diferentes ($p < 0,05$). E: etanol: agua; A: Acetona: agua.

Continuación Tabla 1.5: Capacidad Antioxidante de los extractos de hojas de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) obtenidos con etanol y acetona en diferentes proporciones con agua y con agua a 90°C mediante los métodos DPPH[·], CUPRAC y ABTS^{·+} según corresponda.

	AB	T	M	<i>p</i> - valor Especies vegetales	
CUPRAC: mM Trolox/mL	E 5:95	218,71±19,53 cd	72,92±32,43 g	107,86±14,98 g	
	E 20:80	227,32±21,03 cd	403,91±72,81 d	173,40±26,11 fg	
	E 50:50	429,44±8,72 b	459,70±36,76 cd	350,87±29,28 bc	
	E 70:30	444,14±70,02 b	561,50±7,78 bc	312,94±33,37 cd	
	E 95:5	161,59±15,1 cd	251,65±20,10 e	132,40±5,10 fg	
	A 5:95	201,2±57,07 cd	112,30±29,09 fg	210,95±71,39 ef	
	A 20:80	273,28±4,32 c	112,02±25,71 fg	263,32±8,17 de	
	A 50:50	594,78±36,11 Ba	727,47±20,36 Aa	456,74±9,54 Ca	<0,0001
	A 70:30	561,21±33,92 Aa	638,28±61,96 Aab	403,44±18,47 Bab	0,0013
	A 95:5	209,59±45,53 d	202,79±11,38 ef	95,26±12,56 g	
<i>p</i>- valor Solventes	<0,0001	<0,0001	<0,0001		
ABTS^{·+} Agua 90°C	5,76 ± 0,78	3,59 ± 0,84	5,31 ± 0,33		

Datos expresados como promedio ± desviación estándar. Medias con letras distintas A-C para el efecto extracto y a-g para el efecto solvente son significativamente diferentes ($p < 0,05$). E: etanol: agua; A: Acetona: agua.

El efecto de los solventes de extracción mencionado anteriormente en el CFT, también tiene impacto en la CA *in vitro* determinada en las especies vegetales estudiadas.

En los extractos AB y M la mayor CA frente al radical DPPH fue la obtenida en mezclas de acetona: agua al 70:30 y 50: 50 v/v, no encontrándose diferencias significativas ($p>0,05$) entre ambas proporciones de solventes. Mientras que, para las hojas de T, la mezcla de acetona: agua al 70:30 v/v fue la más efectiva junto a la de etanol: agua al 70:30 v/v. De acuerdo a la comparación entre especies vegetales realizada, por el método de DPPH, los extractos de AB y T con mezclas de acetona: agua al 50: 50 y 70: 30 v/v, fueron los de mayor CA.

Para el método CUPRAC, los extractos de hojas de las tres especies estudiadas presentaron los mayores valores de CA cuando fueron obtenidos con acetona: agua al 50:50 y 70:30 v/v. De acuerdo a la comparación entre especies vegetales para un mismo solvente, el extracto de T con acetona: agua al 50:50 v/v fue el que obtuvo mayor CA, seguido por AB, y finalmente por M. Mientras que para acetona: agua al 70:30 v/v los extractos de T y AB presentaron mayor CA que M.

Con respecto a la CA determinada para las infusiones por los métodos del radical DPPH y ABTS+, las mismas resultaron ser sumamente inferiores a las logradas con los demás extractos evaluados.

La discrepancia entre los resultados obtenidos para los diferentes solventes de extracción, especies vegetales evaluadas y métodos de medición puede ser atribuida a los diferentes mecanismos de reacción, compuestos bioactivos extraídos, especies y proporciones de solventes empleados en la extracción, tal como lo mencionó Deng *et al.* (2014).

Los CFT extraídos en hojas de AB con acetona: agua al 70:30 v/v resultaron ser compuestos con una elevada CA, de acuerdo a los resultados obtenidos por el método del radical DPPH. Dicha elevada CA podría deberse al elevado contenido de procianidinas hallado en las hojas AB.

En T los CFT extraídos con acetona: agua al 50:50 v/v presentaron una menor CA en comparación con los extractos al 70:30 v/v, es decir, que esta última mezcla extrae menor cantidad de CFT que al 50:50 v/v pero con una mayor CA. También se

podría decir que la CA encontrada en los extractos de T con mezcla de acetona: agua y utilizando métodos espectrofotométricos, podría atribuirse a las procianidinas y tocoferoles encontrados

Finalmente, en extractos de M con acetona: agua al 50:50 v/v se obtuvo una mayor cantidad de CFT con una menor CA que en las otras dos especies vegetales, aunque no significativamente diferente ($p>0,05$) de los extractos de la misma mezcla con 70:30 v/v, es decir que con extractos de M al 70:30 v/v, se extrajo menor cantidad de CFT pero con una CA que no difirió significativamente ($p>0,05$) de las mezclas al 50:50 v/v. La menor CA encontrada en los extractos de M podría deberse a la ausencia de tocoferoles que en las otras dos especies estuvieron presentes.

De acuerdo a la literatura consultada, Krishnan *et al.* (2014), trabajaron con diferentes extractos de especies naturales (empleando una extracción acuosa en Soxhlet a 80°C durante 5 horas) para extender la vida útil de filetes de pollo. Estos autores utilizaron extractos con valores de CFT entre 17,24 y 24,65 mg ácido gálico/g (valores más bajos de los obtenidos en el presente trabajo en extractos de AB, T y M con acetona: agua al 70:30 o 50:50 v/v) y con una CA entre 3,30 y 8,19 mM Trolox/g determinada por el método del radical DPPH (valores que resultaron ser más altos en comparación con los obtenidos en este trabajo para extractos de AB, T y M con mezclas de acetona: agua al 70:30 v/v: AB: 0,46 mM Trolox/ g= 461,42 mM Trolox/mL; T: 0,47 mM Trolox/ g= 478,42 mM Trolox/mL; M: 0,31 mM Trolox/ g= 313,57 mM Trolox/mL). Serrano León *et al.* (2018) han empleado extractos de residuos agroindustriales tales como residuos de pimiento rosa, para extender la vida útil de un producto reestructurado a base de pollo. Estos residuos consistieron en hojas y pimientos de descarte y la extracción se realizó con etanol: agua al 80:20 v/v. Estos extractos presentaron valores de CFT de 45,01 mg GAE/ g con una CA de 53,50 mM Trolox/100 g determinados por el método de DPPH. Los valores de CA reportados por estos autores resultaron ser próximos a los obtenidos en extractos con acetona: agua al 70: 30 v/v de hojas de AB: 46,14 mM Trolox/100g= 461,42 mM Trolox/mL y T: 47,80 mM Trolox/100g =478,02 mM Trolox/mL.

De acuerdo a los resultados y discusiones realizadas, las hojas de estas especies nativas en estudio son una importante fuente de compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes relevantes, especialmente los extractos obtenidos de hojas de AB y T.

5.5. Actividad antimicrobiana

La elección de los extractos para la determinación de la actividad antimicrobiana se realizó teniendo en cuenta los resultados obtenidos en las determinaciones previamente presentadas. Si bien, en términos generales, las extracciones más efectivas fueron con mezclas de acetona: agua al 50:50 y 70:30 v/v, se decidió emplear la mezcla de acetona al 70:30 v/v, debido a que en estas proporciones, la eliminación de acetona por evaporación a 40° resulta más adecuada, temperatura que no afecta las propiedades bioactivas de los compuestos extraídos.

Los resultados obtenidos por el método de difusión de discos en agar tanto en extractos obtenidos a base de acetona como en infusiones fueron negativos para las tres especies vegetales en estudio, es decir, no se pudo observar el efecto antimicrobiano de dichos extractos con las cepas de referencia evaluadas. Esto probablemente se deba a que los compuestos antimicrobianos que pudieran estar presentes en las hojas de AB, T y M no sean solubles en los solventes empleados en las extracciones. También es probable que en el caso de las infusiones la temperatura del agua de extracción fuera lo suficientemente elevada como para afectar las propiedades de los compuestos bioactivos.

6. Resultados destacados

6.1. Contenido de fenoles totales

- La mayor eficiencia de extracción de los compuestos bioactivos fue obtenido con mezclas de acetona: agua al 50:50 y 70:30 v/v.
- La mayor cantidad de CFT con mezclas acetona: agua al 50:50 v/v fue obtenido con hojas de M.
- La mayor cantidad de CFT con mezclas acetona: agua al 70:30 v/v fue obtenido con hojas de AB y M.
- La variabilidad del CFT de los extractos estuvo influenciado por el tipo de solvente y las proporciones empleadas en la extracción.

6.2. Contenido de procianidinas

- Los extractos de AB presentaron mayor CP con acetona: agua al 50: 50 v/v.
- Los extractos de T presentaron mayor CP con acetona: agua al 50: 50 v/v.
- Los extractos de M presentaron mayor CP con acetona: agua al 70:30 y 50: 50 v/v y etanol: agua 50:50 v/v.
- Las hojas de AB y T fueron las de mayor CP en mezclas de acetona: agua al 50:50 v/v, mientras que en las mezclas de acetona: agua al 70:30 v/v las hojas de M fueron las de mayor CP.
- Las mezclas de acetona: agua fueron más eficientes para la extracción de procianidinas.

6.3. Capacidad antioxidante

6.3.1. Método del radical DPPH

- En los extractos de AB la mayor CA fue con mezclas de acetona: agua al 70:30 y 50: 50 v/v.
- En los extractos de T la mayor CA fue con mezclas de acetona: agua y etanol: agua en la proporción 70:30 v/v.
- En los extractos de M la mayor CA fue con mezclas de acetona: agua al 70:30 y 50: 50 v/v.
- Los extractos de AB y T con mezclas de acetona: agua al 50: 50 y 70: 30 v/v fueron los de mayor CA.
- La CA de las infusiones resultó ser sumamente inferior a la de los extractos con mezclas de acetona y etanol con agua.

6.3.2. Método de CUPRAC

- Los extractos de las hojas de AB, T y M presentaron mayores valores de CA en mezclas de acetona: agua al 50:50 y 70:30 v/v.
- Con la mezcla de acetona: agua al 50:50 v/v los extractos de las hojas de T presentaron mayores valores de CA que AB y M.

- Con la mezcla de acetona: agua al 70:30 v/v los extractos de T y AB presentaron mayor CA que M.
- La CA de las infusiones resultó ser sumamente inferior a la de los extractos con mezclas de acetona y etanol con agua.

6.4. Perfil de compuestos fenólicos determinados por HPLC

- El perfil de compuestos fenólicos de las hojas de AB indica la presencia de ácidos hidroxicinámicos, catequinas, flavonoles, flavonas y procianidinas. Además, evidenciaron mayor cantidad de CFT. Se destaca que las procianidinas en las hojas AB representaron el 87,5% de su concentración fenólica total.
- El perfil de compuestos fenólicos de las hojas de T indica la presencia de ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, catequinas, flavonoles, flavonas y procianidinas, y cantidades menores de CFT en comparación con las hojas de AB. Las procianidinas en T representaron el 38,6% del total de compuestos fenólicos.
- El perfil de compuestos fenólicos de las hojas de M indica la presencia de ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, catequinas, flavonoles, flavonas, chalconas y procianidinas, y cantidades similares a las hojas de T en lo que respecta al CFT. Las procianidinas en M representaron el 65,7% del total de compuestos fenólicos.

6.5. Contenido de Tocoferoles determinado por HPLC

- Las hojas AB presentaron mayores cantidades de α y γ - tocoferoles en comparación con las hojas de T.
- En hojas de M no se detectó la presencia de α y γ - tocoferoles.

6.6. Actividad antimicrobiana

Las infusiones y extractos de acetona: agua al 70:30 v/v de las tres especies vegetales no presentaron actividad antimicrobiana para las cepas de referencia empleadas.

7. Referencias

Apak, R., Güçlü K., Özyürek, M., Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E using their

cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *J. Agric. Food Chem.*, 52 (26), 7970–7981.

Arias, M. E., Gomez, J. D., Cudmani, N. M., Vattuone, M. A., Isla, M. I. (2004). Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Acacia aroma* Gill. ex Hook et Arn. *Life Sciences*, 75, 191–202.

Armenteros, M., Morcuende, D., Ventanas, S., Estévez, M. (2013). Application of Natural Antioxidants from Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L.) and Dog Rose (*Rosa canina* L.) to Frankfurters Subjected to Refrigerated Storage. *Journal of Integrative Agriculture*, 12(11), 1972-1981.

Arriola, A., Tapia, M. L. (2017). Análisis de oxidaciones controladas en mostos y vinos. *Trabajo final de Diplomatura de postgrado en procesos enológicos, Universidad de Cuyo*, 109 pag. Disponible en: http://www.bdigital.uncuyo.edu.ar/objetos_digitales/9825/analisis-de-oxidaciones-controladas-de-mostos-y-vinos-arriola-tapia.pdf

Astudillo, L., Schmeda-Hirschmann, G., Herrera, J. P., Cortes, M. (2000). Proximate composition and biological activity of Chilean *Prosopis* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 567-573.

Azzi, A. (2018). Many tocopherols, one vitamine E. *Molecular aspect of Medicine*, 61: 92- 103.

Bianchin, M., Pereira, D., Soares dos Reis, A., De Florio Almeida, J., Danghi da Silva, L., Moura, C., Carpes, S. T. (2017). Rosemary Essential Oil and Lyophilized Extract a natural antioxidant source to prevent lipid oxidation in pork sausage. *Advane Journal of Food Science and Technology*, 13 (5): 210-217.

Bondi, M., Lauková, A., De Niederhausern, S., Messi, P., Papadopoulou, Ch. (2017). Natural preservatives to improve food quality and safety. *Journal of food quality*, 3p. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2017/1090932>

Brannan, R., Peters, T. E., Black, K. J., Kukor, B. J. (2018). Valorization of underutilized North American pawpaw (*Asimina triloba*): investigation as a lipid

oxidation inhibitor in turkey homogenate model system. *J. Sci. Food Agric.*; 98. 2210-2214.

Bräunlich, M., Slimestad, R., Wangensteen, H., Brede, C., Malterud, K. E., Barsett, H. (2013). Extracts, anthocyanins and procyanidins from *Aronia melanocarpa* as radical scavengers and enzyme inhibitors. *Nutrients*, 5, 663-678.

Cando, D., Morcuende, D., Utrera, M., Estévez, M. (2014). Phenolic-rich extracts from Willowherb (*Epilobium hirsutum L.*) inhibit lipid oxidation but accelerate protein carbonylation and discoloration of beef patties. *Eur Food Res Technol*, 238; 741–751.

Cardozo, M L., Ordoñez, R. M., Alberto, M. R., Zampini, I. C., Isla, M. I. (2011). Antioxidant and anti-inflammatory activity characterization and genotoxicity evaluation of *Ziziphus mistol* ripe berries, exotic Argentinean fruit. *Food Research International*, 44, 2063- 2071.

Chasquibol, S. N., Lengua, C. L., Delmán, I., Rivera, C. D., Bazán, D., Aguirre, M. R., Bravo, M. A. (2003). Alimentos funcionales o fitoquímicos, clasificación e importancia. *Rev. Per. Quím. Ing. Química*, 5 (2), 9-20.

Colares, M. N. y Arambarri, A. M. (2008). *Ziziphus mistol* (Rhamnaceae): Morfo-anatomía y Arquitectura Foliar. *Latin American Journal of Pharmacy*, 27 (4): 568-77.

Deng, Y., Guiyun, Y., Yue, J., Qian, B., Liu, Z., Wang, D., Zhong, Y., Zhao, Y. (2014). Influences of ripening stages and extracting solvents on the polyphenolic compounds, antimicrobial and antioxidant activities of blueberry leaf extracts. *Food control*, 38, 184- 191

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C. W. (2017). InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Elejalde Caravaca, E. (1999). Extracción y caracterización de antocianos y procianidinas de distintas variedades de uva empleadas en la elaboración del txakoli

tinto de Bizkaia. Universidad del País Vasco. Facultad de Ciencias, Dpto. de Química Orgánica, 5, 67- 82.

Fernández Agulló, A., Pereira, E., Freire, M. S., Valentão, P., Andrade, P. B., González Álvarez, J., Pereira, J. A., (2013). Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia L.*) Green husk extracts. *Industrial crops and products*, 42, 126-123.

Fernández López, J., Zhi, N., Aleson- Carbonell, L., Pérez- Alvarez, J. A., Kuri, V. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Science*, 69, 371- 380.

Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275.

Ganhão, R., Estévez, M., Kylli, P., Heinonen, M., Morcuende, D. (2010). Characterization of selected wild mediterranean fruits and comparative efficacy as inhibitors of oxidative reactions in emulsified raw pork burger patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 8854–8861.

Ganhão, R., Estévez, M., Morcuende, D. (2011). Suitability of the TBA method for assessing lipid oxidation in a meat system with added phenolic-rich materials. *Food Chemistry*, 126, 772–778.

García, M. E., Cherry, N., Lambert, B. D., Muir, J. P., Nazareno, M. A., Arroquy, J. I. (2017). Exploring the biological activity of condensed tannins and nutritional value of tree and shrub leaves from native species of the Argentinean Dry Chaco. *J Sci Food Agric*: DOI 10.1002/jsfa.8382.

García Andrade, M., Gonzalez Laredo, R. F., Rocha Guzmán, N. E., Gallegos Infante, J. A. (2013). Mesquite leaves (*Prosopis leavigata*) a natural resource with antioxidant capacity and cardioprotection potential. *Industrial Crops and Products*, 44, 336-342.

Grabber J. H., Zeller W. E., Mueller Harvey I. (2013). Acetone enhances the direct analysis of Procyanidin and Prodelphinidin. Based condensed tannins in *Lotus*

species by the butanol HCl Iron assay. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 61, 2669-2678.

Hattas, D., Hjältén, J., Julkunen-Tiitto, R., Scogings, P. F., Rookee, T.(2011). Differential phenolic profiles in six African Savanna Woody species in relation to antiherbivore defense. *Phytochemistry*, 72, 1796-1803.

Hernández Bautista, J., Río Rincón, G. F. (2010). ¿Calidad de carne o carne de calidad? *Nacameh*, Vol. 4 N° 1, 1-10.

Hicks, J. J., Torres Ramos, Y. D., Sierra Vargas, M. P. (2006). Estrés Oxidante: Concepto y clasificación. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 14 (4), 223- 226.

Ibáñez, F. C., Torre, P., Irigoyen, A. (2003). Aditivos alimentarios. Disponible en: <https://muybio.com/wp-content/uploads/2012/10/aditivos-alimentarios.pdf>.

Joshi, Y. B., Praticò, D. (2012). Vitamin E in aging, dementia, and Alzheimer's disease. *Biofactors and Cognitive Function*, 38, 90-97.

Khan, A. I., Xu, W., Wang, D., Yun, A., Khan, A., Zongshuai, Z., Ijaz, M. U., Yiqun, C., Hussain, M., Huang, M. (2020). Antioxidant potential of *Chrysanthemum morifolium* flower extract on lipid and protein oxidation in goat meat patties during refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 85, 618-627.

Kalisz, S., Oszmiański, J., Kolniak- Ostek, J., Grobelna, A., Kieliszek, M., Cendrowski, A. (2020). Efecto de una variedad de compuestos polifenoles y propiedades antioxidantes del ruibarbo (*Rheum rhabarbarum*). *LWT. Food Science and Technology*, 118, 108775.

Kim, S. J., Cho Ah, R., Han, J. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of leafy Green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. *Food control*, 29: 112-120.

Krishnan, R., Babuskin, S., Saravana, P. A., Sasikala, M., Sabina, K., Archana, G., (2014). Antimicrobial and antioxidant effects of spice extracts on the shelf life extension of raw chicken meat. *Int J Food Microbiol.*, 171: 32-40.

Kumar Sharma, A., Kumar, A., Kumar Yodov, S., Rahal, A. (2014). Studies on antimicrobial and immunomodulatory effect of hot aqueous extract of *Acacia nilotica* L. leaves against common veterinary pathogens. *Veterinary Medicine International*, 9 pag.

Lin, S., Yang, J., Hsieh, Y., Liu, E., Mau, J. (2014). Effect of different brewing methods on quality of green tea. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38, 1234-1243.

Manzoor, A. S., Sowriappan, J., Shabir, A. M. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*, 98, 21-33.

Mateos Martín, M. L. (2013). Relación estructura/ actividad de proantocianidinas procedente de fuentes naturales de origen vegetal. *Tesis Doctoral, Universidad de Barcelona, España*. Disponible en: <http://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/52744>.

Mejía Lotero, F. M., Salcedo Gil, J. E., Vargas Londoño, S., Serna Jiménez, J. A., Torres Valenzuela, L. S. (2018). Capacidad antioxidante y antimicrobiana de tubérculos andinos (*Tropaeolum tuberosum* y *Ullucus tuberosus*). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 21 (2), 449 – 456

Michiels, J. A., Kevers, C., Pincemal, J., Defraigne, J. O., Dommes, J. (2012): Extraction conditions can greatly influence antioxidant capacity assays in plant food matrices. *Food chemistry*, 130, 986- 993.

Mostafa, A. A., Al- Askar, A. A., Almaary, K. S., Dawoud, T. M., Sholkamy, E. N., Bakri, M. M. (2018). Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25, 361-366.

Ojito Ramos, K., Herrera Sánchez, Y., Vega Pérez, N., Portal Villafañá, O. C. (2012). Actividad antioxidante in vitro y toxicidad de extractos hidroalcohólicos de hojas de *Citrus spp* (Rutaceae). *Revista cubana de plantas medicinales*, 17 (4), 368- 379.

Orqueda, M. E., Zampini, I. C., Torres, S., Alberto, M. R., Pino Ramos, L. L., Schmeda- Hirschmann, G., Isla, M. I. (2017). Chemical and functional characterization of skin, pulp and seed powder from Argentine native fruit mistol (*Ziziphus mistol*).

Effect of phenolic fraction on key enzymes involved in metabolic síndrome and oxidative stress. *Journal of Functional Foods*, 37, 531-540.

Ozgen, M., Reese, R. N., Tulio, A. Z., Jr., Scheerens, J. C., Miller, A. R. (2006). Modified 2,2-azino-bis-3-thylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2 1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 1151–1157.

Palacio, M., Roger, E. (2016). Árboles autóctonos de Santiago del Estero. Guía para su reconocimiento en el Jardín Botánico Ing. Lucas D. Roic. *EDUNCE, Editorial Universitaria*.

Peh, H. Y., Tan, W. S. D., Liao, W., Wang, W. S. F. (2016). Vitamine E therapy beyond cáncer: Tocopherol versus Tocotrienol. *Pharmacology and Therapeutics*, 162, 152-169.

Pellarín, M. G., Albrecht, C., Rojas, M. J., Aguilar, J. J., Konigheim B. S., Paraje, M. G., Albasa, I., Eraso, A. J. (2013). Inhibition of cytotoxicity of shiga toxin of *Escherichia coli* O157:47 on Vero cells by *Prosopis alba* Griseb (*Fabaceae*) and *Ziziphus mistol* Griseb (*Rhamnaceae*) extracts. *Journal of Food Protection*, 76 (10), 1733-1739.

Peñarrieta, J. M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., Bravo, J. A. (2014). Phenolic compounds in Food. *Revista Boliviana de Química. Bolivian Journal of Chemistry*, 31, 68-81.

Reyes Munguía, A., Galicia Cards, M. T., Carrillo Inungaray, M. L. (2011). Antioxidantes: la magia de lo natural. *Revista Académica de Investigación*, 8, 16 p.

Rodriguez Carpena, J., G., Morcuende, D., Andrade, M. J., Kylli, P., Estevez, M. (2011). Avocado (*Persea americana* Mill) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and Inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 5625- 5635.

Rodríguez-Carpena, J.G.; Morcuende, D.; Estévez, M. (2012). Avocado, sunflower and olive oils as replacers of pork back-fat in burger patties: Effect on lipid composition, oxidative stability and quality traits. *Meat Sci.*, 90(1), 106-115.

Rodríguez Saucedo, E. N. (2011). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Revista de sociedad, cultura y desarrollo sustentable*, 7 (1), 153-170.

Ruiz, S. C., García, E. M., Nediani, T., Zimmerman, M., Nazareno, M. A., Martínez, S. (2019). Potencial antioxidante y actividad antimicrobiana de extractos de hojas de Mistletoe (*Zizyphuz mistol*), Algarrobo blanco (*Prosopis alba*) y Tusca (*Acacia aroma*) procedentes de Santiago del Estero, Argentina. *Revista FANUS: Foro de la alimentación, la nutrición y la salud (RFANUS)*, 1 (1), 10-19.

Saini, R. K., Keum, Y. (2016). Tocopherols and tocotrienols in plants and their products: A review on methods of extraction chromatographic separation and detection. *Food Research International*, 82, 59-70.

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

Sayago, A., Marín, M. I., Aparicio, R., Morales, M. T. (2007). Vitamina E y aceites vegetales. *Grasas y aceites*, 58 (1), 74-86.

Schmidt, M. B., Selani, M. M., Saldaña, E., Patinho, I., Pereira Diniz, J., Siqueira Melo, P., Pimentel Filho, N. J., Contreras Castillo, C. J. (2020). Pink pepper extract as a natural antioxidant in chicken burger: effects on oxidative stability and dynamic sensory profile using temporal dominance os sensations. *LWT- Food Science and Technology*, 121, 108986.

Serrano León, J. S., Bergamaschi, K. B., Yoshida, C. M. P., Saldaña, E., Selani, M. M., Rios- Mera, J. D., Severino, M. A., Contreras- Castillo, C. J. (2018). Chitosan active film containing agro- industrial residue extracts for shelf life extensión of chicken restructured product. *Food Research International*, 108, 93-100.

Silva, V., Igrejas, G., Falco, V., Santos, T. P., Torres, C., Oliveira, A. M. P., Pereira, J. E., Amaral, J. S., Poeta, P. (2018). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of phenolic compounds extracted from wine industry by-products. *Food Control*, 92, 516-522.

Silva, M. M., Lidon, F. C. (2016). Food preservatives. An overview on applications and side effects. *Emirates Journal of food an agriculture*, 28 (6), 366-373.

Simirgiotis, M. J., Silva, M., Becerra, J., Schmeda-Hirschmann, G. (2012). Direct characterisation of phenolic antioxidants in infusions from four Mapuche medicinal plants by liquid chromatography with diode array detection (HPLC-DAD) and electrospray ionisation tandem mass spectrometry (HPLC-ESI-MS). *Food Chemistry*, 131, 318-327.

Taboada, F. F., Habib, N. C., Genta, S. B. (2019). Gastroprotective effect of *Acacia aroma* Gill ex Hook and Arm. Leaves extracts in gastric ulcer models in rats. *Int. And Pharm. Investigation*, 9, 187-194.

Tamayo, L. M. A., Arteaga González, D. M., Garcés, Y. J. (2008). Propiedades farmacológicas del Algarrobo (*Hymenaea courbaril* Linneaus) de interés para la industria de alimentos. *Revista Lasallista de Investigación*, 5 (2), 100- 111.

Tomsone, L., Kruma, Z., Galoburda, R. (2012). Comparison of different solvents and extracción methods for isolation of phenolic compounds from Horseradish Roots (*Armoracia rusticana*). *International Journal of biological, biomolecular, agricultural, food and biotechnological engineering*, 6 (4), 236-241

Upadhyay, R., Jha, A., Singh, S. P., Kumar, A., Singh, M. (2013). Appropriate solvents for extracting total phenolic, flavonoids and ascorbic acid from different kind of millets. *Association of Food Scientists & Technologists*, 52, 472- 478.

Utrera, M., Morcuende, D., Ganhão, R., Estévez, M. (2015). Role of phenolic extracting from *Rosa canina* L. on meat protein oxidation during frozen storage and beef patties processing. *Food Bioprocess Technol*, 8, 854–864.

Valenzuela, C. V., Pérez, P. M. (2016). Actualización en el uso de antioxidantes naturales derivados de frutas y verduras para prolongar la vida útil de carne y productos cárnicos. *Rev. Chil. Nutr.*, 43 (2), 188-195.

Vossen, E., Utrera, M., De Smet, S., Morcuende, D., Estévez, M. (2012). Dog Rose (*Rosa canina* L.) as a functional ingredient in porcine frankfurters without added sodium ascorbate and sodium nitrite. *Meat Science*, 92, 451- 457.

Zhou, K., Yu, L. (2004). Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. *Lebensm- Wiss u. Technol.*, 37, 717- 721.



CAPÍTULO 2: Valoración de la calidad de carne de cabritos sometidos a dos sistemas de alimentación típicos de la región del Chaco Semiárido.

1. Introducción

1.1. Producción mundial de carne caprina

Los últimos datos registrados por la FAOSTAT (Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database) respecto a las existencias y faena mundial caprina entre los años 2016 al 2019 se muestran en la Ilustración 2.1. Las existencias caprinas tuvieron un crecimiento progresivo en el tiempo, con un registro de 1094 millones de cabezas en el año 2019. En el año 2019 solo el 45,95% de las existencias se faenaron (FAOSTAT, 2021).

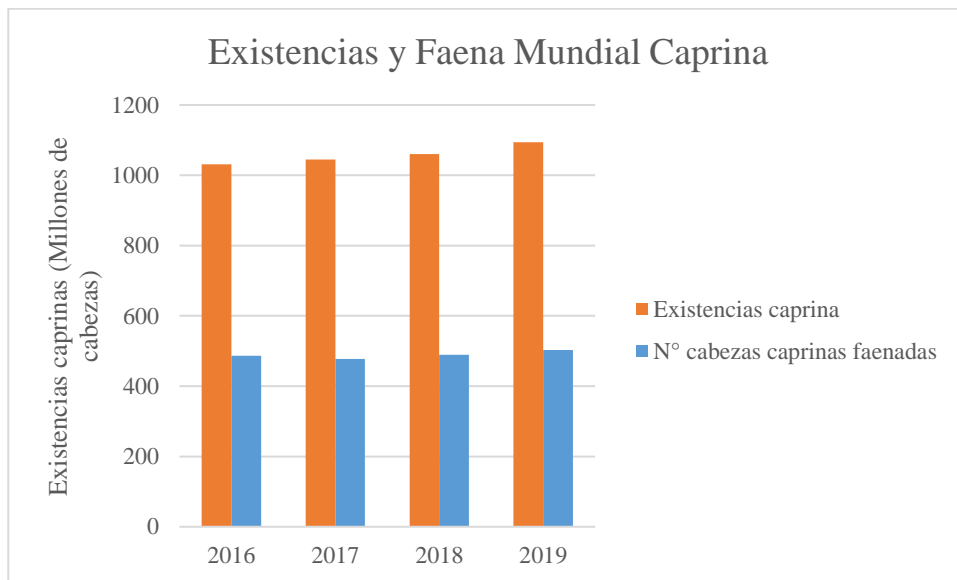


Ilustración 2.1: Existencias y faena mundial caprina del 2016 al 2019. Fuente: FAOSTAT.

En la Ilustración 2.2 se presenta la producción mundial de carne caprina durante los años 2016 al 2019 (FAOSTAT, 2021), donde se observa un aumento de la producción con el tiempo, con un total de 6.252.564 toneladas en el año 2019.

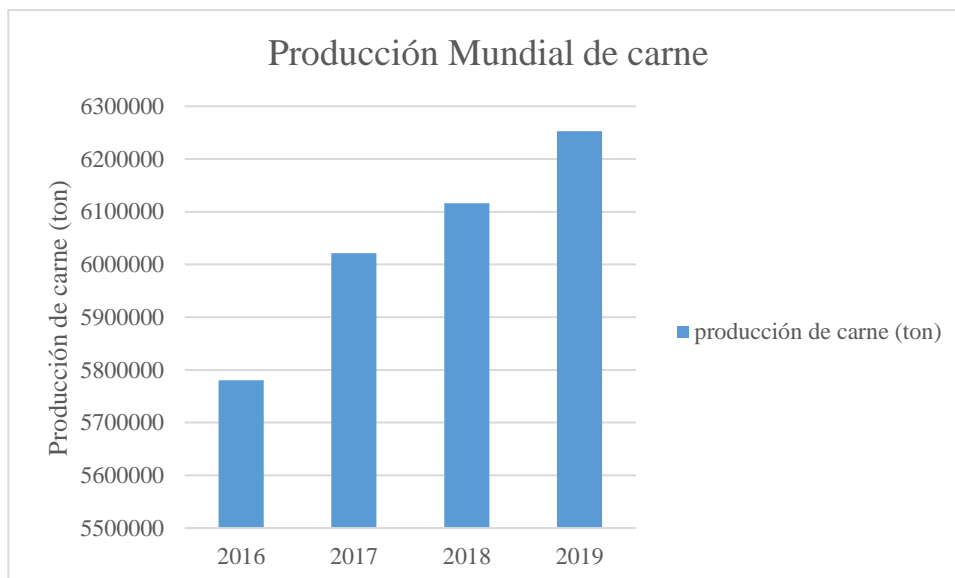


Ilustración 2.2: Producción mundial de carne caprina (tonaladas) durante los años 2016 al 2019. Fuente: FAOSTAT

En la Ilustración 2.3 se observan los 10 países con mayores existencias caprinas en el año 2019, siendo India y China los países con mayor producción, los que contribuyen con el 14% y 13% respectivamente a la existencia mundial (FAOSTAT, 2021).

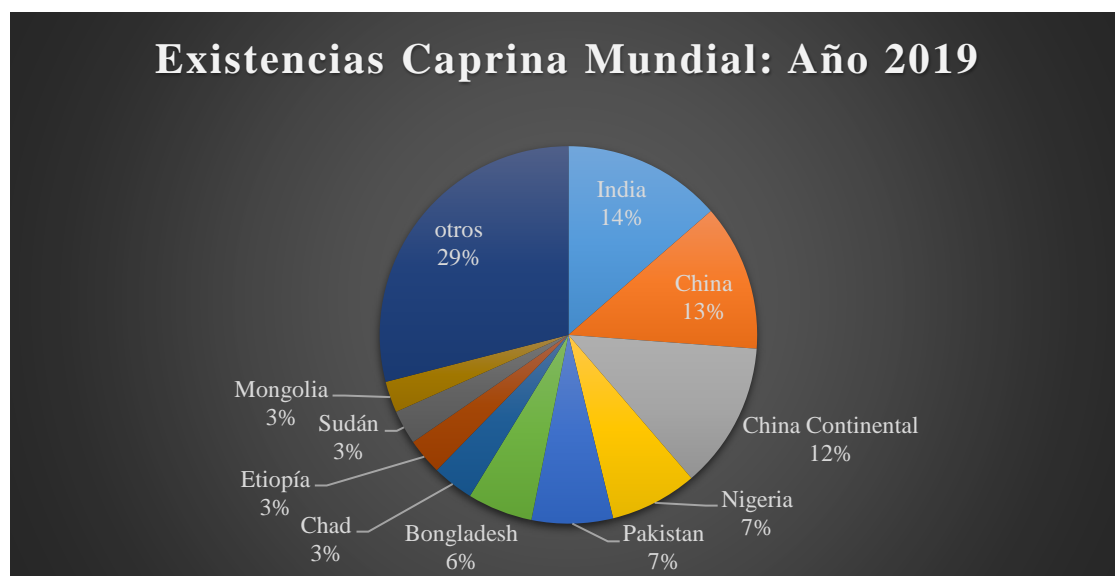


Ilustración 2.3: 10 países con mayores existencias caprinas mundial en el año 2019. Fuente: FAOSTAT.

De acuerdo a datos registrados por la FAO (2019), Argentina contribuye con el 0,42% a la existencia caprina mundial y el 0,13% a la producción mundial de carne.

1.2. Producción de carne caprina en Argentina

En el año 2020 la producción caprina registrada por SENASA fue de 4695830 cabezas, concentradas en las provincias de Neuquén (17,6%), Mendoza (15,8%), Chaco (12,5%) y Santiago del Estero (11,9%) (MAGyP, 2020). En Santiago del Estero dicha producción es empleada tanto para el autoconsumo como para la venta, constituyendo ésta la principal fuente de ingresos de las familias campesinas (Velázquez, 2019; Contreras *et al.*, 2016).

En Argentina, se registraron en el año 2017, un total de 105.109 cabezas caprinas faenadas, y una producción de 815 toneladas/ año. Con respecto a las exportaciones, las mismas sumaron un total de 172 toneladas/ año, mientras que no se realizaron importaciones para este tipo de carne (MAGyP, 2021). En el año 2018, el número de cabezas faenadas de enero a julio fue de 60468, mientras que la producción de carne para este período fue de 480 toneladas (SAGyP, 2018).

En Argentina, para las carnes tradicionales (tal como ocurre con la carne bovina o porcina) el consumidor encuentra en el mercado una amplia variedad de presentaciones. Sin embargo, en el caso de la carne caprina la presentación en general se dá en una sola pieza, generalmente en forma de canal entera o media canal (Alimentos argentinos, 2011), siendo el consumo per cápita de 0,355 kg/año (Alimentos Argentinos, 2021)

1.3. Características de las majadas en Santiago del Estero

En una encuesta realizada a productores del Oeste de Santiago del Estero, Contreras *et al.* (2016), determinaron que el número promedio de animales en una majada es 68, de los que el 60% son cabras, el 1,6% por chivos y el 38,4% cabrillas. Aproximadamente el 65% de las cabras y cabrillas corresponden a un ecotipo regional producto de diversos cruzamientos, conocido comúnmente como “caprino criollo”, el resto son animales obtenidasde cruza de este ecotipo regional con las razas Boer, Anglo Nubian o Sanen.

Los sistemas típicos de producción caprina de Santiago del Estero se basan en un aprovechamiento a pastoreo directo del forraje del monte (frutos, pastos, rebrotes, ramones, hojas, hojarasca de árboles y arbustos, entre otros). Sin embargo, hay también varios sistemas productivos en donde se lleva a cabo la implantación y aprovechamiento directo de pasturas con predominio de las siguientes especies: *Sorghum spp.*, *Cenchrus ciliaris*, *Megathyrsus maximus* y *Setaria itálica*. Los sistemas confinados son poco frecuentes, aunque su utilización en algunas etapas productivas puede ser de gran utilidad en donde la alimentación se realiza habitualmente con *Medicago sativa* (alfalfa) y *Zea mays* (maíz) (Contreras *et al.*, 2016; Ruiz *et al.*, 2020).



Ilustración 2.4: Animales pastoreando y ramoneando. Fuente: Contreras *et al.* (2016).



Ilustración 2.5: Animal ramoneando. Fuente: propia.

La cadena cárnica caprina abarca desde la producción hasta la comercialización y distribución hasta el consumidor final (Alimentos Argentinos, 2011).

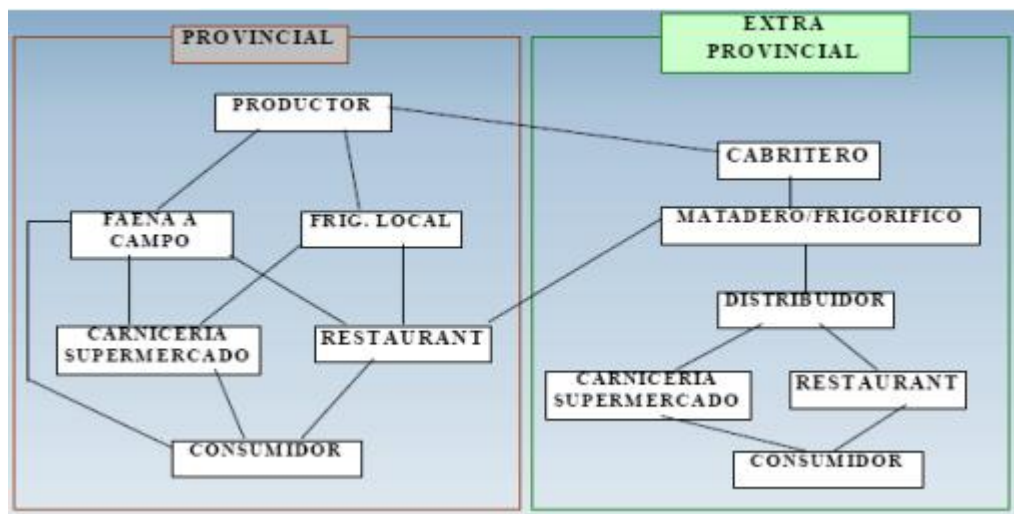


Ilustración 2.6: Cadena de carne caprina. Fuente: Ministerio de Agroindustria Año: 2011.

En la Ilustración 2.6 se puede observar la distribución de la cadena de carne caprina. En base a esto, el 85% de los productores del Oeste de Santiago del Estero vende las canales caprinas mediante intermediarios, conocidos comúnmente como cabriteros (Contreras *et al.*, 2016).

1.4. Calidad de carne y factores que la afectan

La carne de rumiantes constituye una fuente importante de nutrientes, con un elevado valor sensorial, aunque la importancia y naturaleza de estas características dependen de la alimentación que reciben los animales (Geay *et al.*, 2001; Martínez Marín, 2007). La calidad de la carne engloba diversos parámetros como el pH, la capacidad de retención de agua (CRA), color, textura, entre otros, los cuales se detallan a continuación:

1.4.1. pH

Luego del sacrificio del animal se produce la transformación del músculo en carne como resultado de los cambios bioquímicos que ocurren *post-mortem*, destacando dos como son el establecimiento del *rigor mortis* y la maduración, y es durante el *rigor mortis* donde se produce la acidificación muscular, es decir, la disminución del pH en el mismo, cuya velocidad de descenso afecta a las características organolépticas y tecnológicas de la carne (Zimmerman 2007), como por ejemplo el color (Ruiz de Huidobro *et al.*, 2003). Esta disminución del pH se produce debido a que tras la muerte del animal cesa el aporte sanguíneo de oxígeno y nutrientes al músculo, de manera que el mismo debe transformar en condiciones anaeróbicas, sus reservas de energía a través de la degradación del glucógeno en ácido láctico, el cual, al no poder ser eliminado del sistema sanguíneo, provoca el descenso del pH muscular (Warris 2003 citado por Zimmerman 2007; Peraza Mercado *et al.*, 2014; De la Vega Galán 2016). Si el pH final (una vez instaurado el *rigor mortis*) es mayor a 6, la carne se caracteriza por ser oscura, firme y seca, defecto que se conoce como “*carnes DFD*” por sus siglas en inglés: *dark, firm, dry*, que afecta negativamente a su apariencia y susceptibilidad al deterioro microbiano. Cuando se produce un descenso rápido del pH a valores inferiores a 6 en los primeros 45 minutos, las carnes resultan ser pálidas, blandas y exudativas, conocidas como “*carnes PSE*” por sus siglas en inglés: *pale, soft, exudatives* (Domingo *et al.*, 2009). El pH final es uno de los principales factores que determinan la calidad de la carne (Peraza Mercado *et al.*, 2014), cuyos valores óptimos, en rumiantes, varían normalmente entre 5,5 y 5,7 (Domingo *et al.*, 2009). Tanto el valor del pH final de la carne, como su tasa de descenso se ve afectado por diferentes factores (Peraza Mercado *et al.*, 2014), entre los que se encuentran: factores *ante-mortem*, que pueden ser inherentes al animal, como la raza, sexo, edad y peso de sacrificio, o bien externos tales como el sistema productivo

o la dieta recibida por los animales. Otros factores que afectan al pH final de la carne son los factores pre- *mortem*, es decir, aquellos que pueden ocasionar estrés durante el manejo pre- faena: carga, transporte, descarga, espera pre- faena, aturdimiento pre- sacrificio y sacrificio. Por último, el manejo post- *mortem* también tiene incidencia en el pH final, con lo cual, la refrigeración de las canales, el oreo y la maduración son etapas importantes (Zimmerman 2007; Peinado *et al.*, 2009).

1.4.2. Capacidad de retención de agua (CRA)

La carne cruda, inmediatamente tras el sacrificio contiene aproximadamente un 75% de agua, por lo tanto, resulta ser su componente mayoritario, y su contenido influye de una manera relevante en el peso de la misma. Parte del agua se pierde con el tratamiento de la carne, ya sea por evaporación durante el enfriamiento de las canales, o por goteo, como consecuencia de la sección de los tejidos, motivo por el cual se considera también a la capacidad de retención de agua (CRA) como un parámetro importante de calidad de la carne (Pla Torres 2005). Esta característica depende del pH y puede relacionarse con la jugosidad de la carne al momento de ser consumida (Ruiz de Huidobro *et al.*, 2016).

1.4.3. Color de la carne

La satisfacción de los consumidores y su impulso a comprar un producto nuevamente queda definida al momento de consumirla, mientras que la elección del producto está determinada por su aspecto visual (Oyagüe, 2007; Russell *et al.*, 2005). Existen diversos factores que afectan a la estabilidad del color, los de mayor importancia son: el pH, temperatura, humedad relativa, iluminación, desarrollo microbiológico, oxidación de lípidos y tipo de músculo, entre otros. (Sánchez Escalante *et al.*, 2008).

1.4.4. Textura de la carne

Uno de los aspectos más importantes para el consumidor es la dureza de la carne, la cual constituye el atributo de la textura, que resulta junto al color, uno de los criterios determinantes de la calidad de la carne para los consumidores (Peña *et al.*, 2012). La textura engloba un concepto muy complejo que puede definirse como: “*la manifestación sensorial de la estructura del alimento y la forma de reaccionar de la misma frente a la aplicación de fuerzas*”. Está determinada directamente por las propiedades estructurales miofibrilares, conjuntivas y del citoesqueleto. Estas son variables que dependen de

características intrínsecas de la especie, raza, sexo y edad del animal y otras extrínsecas relacionadas con aspectos productivos, destacando la alimentación (Grigioni *et al.*, 2011; Mateo *et al.*, 2016).

2. Hipótesis

Los sistemas de alimentación, silvopastoril y confinado a corral, influyen en la calidad de la carne de cabritos.

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de los sistemas de producción caprina típicos de la región del Chaco Semiárido: silvopastoril y confinados a corral, en la calidad de la carne caprina.

3.2. Objetivos específicos

- Evaluar la calidad de la carne de cabritos procedentes de ambos sistemas de producción a través de los parámetros: pH, CRA, color y perfil de textura.
- Determinar la influencia de la alimentación sobre la calidad de carne.

4. Materiales y métodos

4.1. Lugar de ensayo

El ensayo productivo se llevó a cabo en el Campo Experimental Francisco Cantos perteneciente al INTA EEA Santiago del Estero (28° 03' LS; 64° 15' LW; 169 m.s.n.m.), mientras que el análisis de los parámetros físicos y químicos de la carne se realizaron en los laboratorios del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Planta Piloto de Procesamiento de Alimentos de la Facultad de Agronomía y Agroindustrias- UNSE.

4.2. Descripción del ensayo

Se trabajó con 30 caprinos de categoría “Cabrito”, 15 machos y 15 hembras, de tres meses de edad (Peso Vivo promedio inicial: 7 kg) de cruce Criollo x Anglo Nubbian, sometidos a dos sistemas de alimentación (15 animales en cada sistema): A: pastoreo en potrero silvopastoril y B: estabulado con raciones de Alfalfa (*Medicago sativa*) y Maíz

(*Zea mays*). El sistema silvopastoril se desarrolló en un potrero de 3 hectáreas, con pastoreo directo y a voluntad sin encierre nocturno. La vegetación en este tratamiento nutricional se presenta en las Ilustraciones 2.9 y 2.10, la cual estuvo compuesta por bosque nativo con predominancia de las especies Mistol (*Zyzyhius mistol*), Tusca (*Acacia aroma*), Algarrobo blanco (*Prosopis alba*), Algarrobo negro (*Prosopis nigra*), Quebracho colorado (*Schinopsis balansae*), Quebracho blanco (*Aspidosperma quebracho- blanco*), Brea (*Cercidium australe Johnston*), Garabato (*Acacia praecox Griseb*), Vinal (*Prosopis ruscifolia Griseb*) (Saravia Sánchez 2012; Catan *et al.*, 2007) y enriquecido con Gatton panic (*Megathyrsius maximun*). En cuanto al manejo de los animales estabulados o confinados, los mismos permanecieron en un corral de 24 m², en donde, durante los primeros 45 días recibieron una ración equivalente al 6,5% del peso vivo promedio. Dicha ración estuvo compuesta por un 10% de grano de maíz partido y 90% de heno de alfalfa picado. Las raciones se entregaron diariamente en bateas ubicadas en bretes individuales en un turno diario (Ilustración 2.7). Todos los días se pesó la oferta y el rechazo de alimento para mantener la proporción de la ración entregada. Los últimos 15 días del ensayo, la alimentación se ofreció a voluntad para no restringir el consumo (Ilustración 2.8). Esta decisión se basó en la comparación de la ganancia de peso que presentó este tratamiento con respecto a los animales del silvopastoreo. En las Ilustraciones 2.11 y 2.12 se pueden observar los cabritos en el sistema silvopastoril en una época otoñal en el mes de marzo.

Todos los animales se pesaron una vez por semana con 12 horas de desbaste. El ensayo contempló 15 días de acostumbramiento a las dietas de cada tratamiento, posteriormente los animales ingresaron al sistema con las dietas correspondientes donde permanecieron durante 63 días, tiempo en el cual los animales de cada tratamiento alcanzaron una nota de condición corporal aceptable para faena ($\geq 2,5$).



Ilustración 2.7: Disposición de los animales durante su alimentación en corral en la etapa inicial.



Ilustración 2.8: Alimentación de animales mediante comederos durante su alimentación en corral en la etapa final.



Ilustración 2.9: Potrero para alimentación de animales en sistema silvopastoril. Oferta al inicio del ensayo con plena oferta forrajera en el mes de diciembre.



Ilustración 2.10: Potrero para alimentación de animales en sistema silvopastoril. Oferta al inicio del ensayo con plena oferta forrajera en el mes de diciembre.



Ilustración 2.11: Animales en sistema silvopastoril. Oferta al final del ensayo con vegetación característica en época otoñal.



Ilustración 2.12: Animales en sistema silvopastoril. Oferta al final del ensayo con vegetación característica en época otoñal.

4.3. Procedimiento de faena

Finalizado el ensayo, se seleccionaron al azar 6 ejemplares de cada tratamiento (3 machos y 3 hembras) entre aquellos que cumplían con una nota de condición corporal superior o igual a 2,5. Los animales fueron trasladados a un Frigorífico Cabritero para su posterior faena. El traslado de los animales se realizó en un vehículo habilitado y la

duración del mismo fue de 3 h. El tiempo de espera de los animales pre- faena fue de 21 h, en corrales provistos de agua de bebida. El establecimiento faenador contó con la habilitación y categorización de SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agroalimentaria) como matadero frigorífico Clase A (habilitado para el tránsito federal). El proceso de faena fue controlado con el objetivo de mantener la trazabilidad individual de los animales y de las canales obtenidas. Una vez oreadas y refrigeradas las canales, se retiraron del establecimiento y trasladaron en condiciones de refrigeración hacia la Planta Piloto de Alimentos de la UNSE, donde se mantuvieron refrigeradas hasta su procesamiento y análisis (24 h desde el momento de la faena).

4.4. Determinación de parámetros de calidad de canales y carne

4.4.1. Medición de pH

Para la determinación del pH se utilizó pH- metro portátil (Hanna HI 99163N) con electrodo de penetración (FC232D). La misma se realizó por duplicado a los 45 minutos y a las 24 h *post mortem* en el músculo *Longuissimus dorsi* (LD) de la media canal izquierda entre la cuarta y la quinta vértebra lumbar siguiendo la metodología descrita por Garrido *et al.* (2005). Los valores registrados resultaron del promedio de dichas mediciones.

4.4.2. Registro de pesos y determinación de pérdidas por oreo (PPO) y rendimiento de faena (RTO)

Se registraron los siguientes pesos a través del uso de balanza digital:

4.4.2.1. *Peso vivo pre faena (PV pref, kg):* se registró inmediatamente antes del sacrificio del animal.

4.4.2.2. *Peso de la canal caliente (PCC, kg):* se determinó inmediatamente finalizado el proceso de faena.

4.4.2.3. *Peso de la canal fría (PCF, kg):* una vez oreadas, las canales se refrigeraron a 4 ± 1 °C, y a las 24 h de faenadas se registró el peso de las mismas.

4.4.2.4. *Pérdida por oreo (PPO, %):* se calculó a partir de la diferencia entre PCC y PCF.

Los pesos de la canal caliente y fría se registraron sin cabeza.

Se calculó el *Rendimiento de faena* (*RTO*, %) a través del empleo de la siguiente fórmula:

$$RTO = \frac{PCC}{PV\ pref.} * 100$$

4.4.3. Toma de muestras de carne

A las 24 h *post mortem* se separó de cada una de las medias canales izquierdas la sección correspondiente al músculo *Longissimus Dorsi* (LD) ubicado entre la 6° vértebra torácica y la 6° vértebra lumbar.

4.4.4. Capacidad de Retención de Agua (CRA)

Se determinó a las 24 h *post mortem* sobre una muestra tomada a la altura de la 6° vértebra torácica, por el método del “Jugo exprimible de la carne cruda”, siguiendo la metodología descrita por Pla Torres (2005). Se realizaron dos determinaciones por muestra y el valor expresado resultó de promediar ambas mediciones.

4.4.5. Color instrumental

Se determinó a las 24 h *post mortem* sobre muestras tomadas a la altura de la primera vértebra lumbar, utilizando colorímetro portátil (Minolta Modelo CR-400), con iluminante C, siguiendo la metodología descrita por Alberti *et al.* (2005). El equipo se calibró en el sistema de espacio de color CIELab utilizando un plato de calibración blanco, donde el valor L* indica luminosidad (L*= 0 negro, L*= 100 blanco), el valor a* indica porcentaje de saturación con rojo (-a*= verde, +a*= rojo), y el valor b* indica porcentaje de saturación con amarillo (-b*= azul, +b*= amarillo). La medición de color se realizó por duplicado luego de realizar el corte y con un tiempo de oxigenación de 30 min (*blooming time*).

4.4.6. Perfil de Textura (TPA)

Se determinó en muestras de LD tomadas entre la 6° y 13° vértebra torácica a las 24 h post-faena. Las mismas se envasaron al vacío con envasadora Ehrlich (Modelo Beth

Vacuum. Argentina) y se conservaron refrigeradas a $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ en oscuridad durante 2 días para lograr un tiempo de maduración total de 3 días. Luego se congelaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis. Previo al análisis, las muestras se descongelaron a $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante 24 h, posteriormente se cocinaron mediante el empleo de un grill de doble contacto a $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta alcanzar $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ en el centro térmico de la carne medido con un termopar digital tipo “K” con punta de acero inoxidable (modelo 305, Rosario-Argentina), siguiendo las recomendaciones generales de la AMSA (American Meat Science Association, 2012). Finalmente, las muestras fueron utilizadas para la medición del perfil de textura de la carne (Texture Profile Analysis: TPA) empleando un texturómetro TA. XT Plus (Stable Micro Systems, UK) con software Exponent Stable Micro System, empleando una sonda de compresión cilíndrica de 40 mm de diámetro. La calibración de altura de la sonda del equipo se realizó teniendo en cuenta: distancia de retorno: 25 mm, velocidad de retorno 5 mm/seg y fuerza de contacto: 1 g. Los parámetros utilizados para medir el perfil de textura en este tipo de carne fueron los siguientes:

- Velocidad Pre- prueba: 3 (mm/seg)
- Velocidad de prueba: 1 (mm/seg)
- Velocidad Post- prueba: 5 (mm/seg)
- Modo: Esfuerzo
- Esfuerzo: 70%.
- Tiempo: 1 seg
- Tipo de disparo: Auto (Fuerza)
- Fuerza del disparo: 0,04903 N.

Las variables del perfil de textura registradas por el equipo fueron: dureza, elasticidad, adhesividad, cohesividad, gomosidad, masticabilidad y resiliencia. Aunque las discutidas e informadas en este trabajo fueron dureza, elasticidad y masticabilidad, por ser las de mayor interés en carne fresca cocida.

4.5. Análisis estadístico

Se trabajó con un diseño completamente aleatorizado. La comparación de medias se realizó a través de un análisis de varianza, en donde el objeto de estudio fue

la dieta de los animales: silvopastoril y estabulados o confinados a corral, utilizando el siguiente modelo estadístico:

$$Y_i = \mu + A_i + \varepsilon_i$$

Donde:

Y_i es una variable aleatoria que representa al conjunto de valores posibles de la variable dependiente correspondiente al i -ésimo nivel del efecto A.

μ es la media general

A_i es el efecto dieta de los animales correspondiente al nivel i -ésimo del factor A (i : 1, 2).

ε_i es el error o residuo del modelo.

Las diferencias se consideraron significativas para valores de $p < 0,05$. Para el análisis de datos se utilizó el software estadístico InfoStat (Di Renzo *et al.*, 2017).

5. Resultados y discusión

5.1. Pesos registrados, pérdidas por oreo (PPO), rendimiento de faena (RTO) y pH de la carne

Los resultados de las determinaciones de pérdidas por oreo, rendimiento de faena y mediciones de pH se presentan en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1: Pesos registrados, rendimiento de faena (RTO), pérdidas por oreo (PPO) y pH a los 45 minutos y 24 h *post mortem*.

	Corral	Silvopastoril	p- valor
PV_{pref}	11,45±1,50	15,72±1,41	0,0005
PCC	4,33±0,69	6,00±0,51	0,0008
PCF	4,12±0,66	5,78±0,48	0,0005
RTO (%)	37,76±1,73	38,22±1,82	0,6670
PPO (%)	21,33±4,13	22,17± 6,21	0,7899
pH 45'	6,83±0,36	6,76±0,24	0,6868
pH 24 h	5,91±0,04	5,73±0,07	0,0003

Datos expresados como promedio ± desviación estándar.

En el presente trabajo se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en PV_{pref}, PCC, PCF, siendo estos valores mayores en animales y canales procedentes del sistema de alimentación de silvopastoril, sin embargo, con respecto al rendimiento de faena, no se hallaron diferencias significativas ($p > 0,667$) entre ambos sistemas de alimentación, aunque se observa una tendencia de presentar mayores valores en canales procedentes del sistema silvopastoril. Idéntico comportamiento se observa en las PPO. Al igual que en el presente trabajo, Ricarte *et al.* (2009), han evaluado el rendimiento de canales sin cabeza de cabritos lechales $\frac{3}{4}$ criollos y $\frac{1}{4}$ Boer de 50 a 56 días de edad y registraron valores ligeramente superiores a los hallados en el presente trabajo (~ 43%). Meneses *et al.* (2004) también han reportado rendimientos próximos a los establecidos en el presente trabajo, pero en caprinos Criollos cruzados con Cashemira, de 6 meses de edad con 32 kg (~ 42%). Diferencias asociadas al genotipo y al procedimiento de pesado y posterior despiece de las canales podrían explicar estas diferencias obtenidas en el rendimiento de la canal con respecto a otros trabajos.

Con respecto al pH, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,6868$) a los 45 minutos *post mortem*, sin embargo, las diferencias fueron significativas ($p = 0,0003$) en el pH 24 h *post mortem*, en donde se observa que los valores en el tratamiento corral fueron más elevados que los del silvopastoril. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), las carnes con pH elevado son más oscuras, secas y con una textura más firme que lo normal, esto debido a que el glucógeno muscular se consume durante el transporte y/o etapas de estrés previas al sacrificio, por

lo que la generación de ácido láctico es escasa (FAO; Webb *et al.*, 2005). Además, otros autores (Casey y Webb, 2010; Lemes *et al.*, 2011; Zimmerman *et al.*, 2013; Zimmerman *et al.*, 2018), establecen que la carne caprina tiene una tendencia a presentar valores de pH final elevados, debido a que son animales susceptibles al estrés pre- faena.

5.2. Capacidad de Retención de Agua (CRA) y color instrumental

Los resultados obtenidos de la capacidad de retención de agua (CRA) y los parámetros de color instrumental de la carne de cabrito se muestran en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2: Efecto del sistema de alimentación: corral y silvopastoril en la capacidad de retención de agua y en los parámetros de color instrumental de la carne de cabrito

Sistema	Corral	Silvopastoril	<i>p</i> - valor
CRA	45,79±24,99	43,15±24,38	0,5623
L*	44,02±5,50	47,66±4,40	0,0876
a*	54,42±4,04	51,74±2,95	0,0768
b*	24,39±1,53	19,74±1,43	<0,0001

Valores expresados como promedio ± desviación estándar.

No se encontraron diferencias significativas ($p= 0,5623$) en los valores de la CRA de la carne de cabritos obtenidos en corral y silvopastoril. De acuerdo a la literatura consultada, y al igual que en el presente trabajo, García *et al.* (2019) y Díaz *et al.* (2002) tampoco han encontrado diferencias significativas ($p>0,05$) en la CRA de la carne de cabritos y corderos de ~ 24 y 28 kg, respectivamente, alimentados bajo diferentes sistemas de producción, por lo que se podría decir que el tipo de alimentación que recibieron los animales del presente trabajo no influyeron en la CRA del producto obtenido. De acuerdo a una revisión realizada por Huff- Lonergan y Lonergan (2005), dichos autores concluyen que el mecanismo de retención de agua en la carne se basa en la capacidad de las estructuras proteicas de atrapar el agua. También indican que factores tales como el pH, fuerza iónica y capacidad de oxidación de las proteínas miofibrilares influyen en la CRA. Con respecto al pH, a partir del punto isoeléctrico de las proteínas miofibrilares (pH= 5,5), si el pH de la carne aumenta, aumenta la CRA, de esta manera, se producen menores pérdidas de peso en los procesos de transformación del músculo en carne y una mayor calidad de los productos obtenidos (Urieta *et al.*, 2001). De esta manera, y en base a los resultados obtenidos en el presente trabajo, la carne procedente

del sistema de alimentación a corral debería tener una mayor CRA en comparación con la carne procedente de silvopastoril, teniendo en cuenta que los valores de pH informados para corral fueron mayores. Sin embargo, este efecto no se puede observar claramente en la Tabla 6, ya que las diferencias no fueron significativas ($p > 0,05$) entre ambos sistemas de alimentación. García *et al.* (2019), han realizado un ensayo con cabritos Criollos de 180 días de edad a los que se les suministró diferentes dietas: uno control (C) con alfalfa, maíz y harina de soja, y otros dos tratamientos a los cuales se reemplazó parte de la alfalfa por hojas de *Larrea divaricata* (LD) y *Acacia aroma* (AA) respectivamente. Estos autores han reportado que la carne de cabritos alimentados con AA tenía similar valor de CRA (43,83 %) a la obtenida en la carne del sistema silvopastoril evaluada en el presente trabajo. Por su parte Ricarte *et al.* (2009) han estudiado cabritos lechales Criollos, $\frac{1}{2}$ Criollos + $\frac{1}{2}$ Boer y $\frac{3}{4}$ Criollos + $\frac{1}{4}$ Boer; y reportaron un valor de CRA del 45,63% para los animales cruzados con $\frac{1}{4}$ Boer. Dicho valor se asemeja a los hallados en el presente trabajo. Además, estos autores manifestaron que la CRA de la carne varió según el genotipo, reportando los menores valores (26,33%) para animales 100% Criollos. Por su parte, Zimerman *et al.* (2011), han estudiado cabritos $\frac{3}{4}$ Criollo Neuquino + $\frac{1}{4}$ Angora de 189 días de edad alimentados en un sistema pastoril extensivo, y reportaron una CRA del 29,9%, valor menor al encontrado en este estudio.

En lo que respecta al color de la carne fresca, el mismo es considerado uno de los principales atributos que se aprecia al momento de la compra (Peraza Mercado *et al.*, 2014). En este trabajo, si bien las diferencias no fueron significativas ($p > 0,05$) entre la carne de cabritos procedente de los dos sistemas de alimentación estudiados en los parámetros L^* (luminosidad) y a^* (saturación con rojo), se puede observar una tendencia a diferenciarse entre ambos sistemas de alimentación, en donde la carne procedente del sistema silvopastoril presentó mayor luminosidad y menor saturación con rojo que la procedente de la alimentación a corral. Los animales del sistema silvopastoril contaron con disponibilidad de diversas especies nativas, que de acuerdo al estudio realizado por García *et al.* (2017) algunos de estos arbustos y árboles (evaluados en la misma zona), como el Quebracho colorado, Algarrobo blanco y negro, Tusca, Mistol y Brea presentan taninos en su composición, y de acuerdo a Priolo *et al.* (2007) la incorporación de taninos en la dieta afecta al color de la carne de rumiantes menores obteniendo un producto de un color más claro, debido a que la presencia de

taninos reduce la biosíntesis de vitamina B12, el cual es precursor de la síntesis de hemoglobina, con lo cual, una menor producción de hemoglobina, daría lugar a una menor cantidad de mioglobina en el músculo, y por lo tanto, una carne con menor saturación de rojos. Esto explicaría la tendencia observada en la carne procedente del sistema silvopastoril, en donde la saturación de rojos fue menor que la de corral. Con respecto al valor de b^* (saturación con amarillo), las diferencias fueron significativas ($p < 0,0001$) entre los sistemas de alimentación evaluados, encontrándose valores superiores en el tratamiento a corral. Según Lemes *et al.* (2011) un valor alto de b^* indicaría una mayor concentración de carotenoides, entre otros pigmentos de coloración amarilla, lo cual podría relacionarse con el tipo de alimento ofrecido a los animales en el corral (raciones de maíz y alfalfa). Sin embargo, en el estudio de Priolo *et al.* (2005), los autores han obtenido resultados totalmente opuestos para el parámetro b^* , en donde encontraron una mayor saturación con amarillo (b^*) en el tratamiento con pastizales, e indican que el mayor valor de b^* se debe a los pigmentos carotenoides que se encuentran presentes y abundantes en los pastizales verdes. (Prache *et al.*, 2003 en Priolo *et al.*, 2005). Estos autores también obtuvieron valores de L^* mayores en carnes de pastizales, al igual que ocurre en este trabajo, una tendencia a presentar valores de L^* más altos en carnes procedentes de silvopastoril. Por otro lado, en un estudio realizado por Lee *et al.* (2008), en donde compararon la carne de cabritos suplementados mediante dietas con maíz, alfalfa, harina de soja, sales y vitaminas y dietas solo a base de heno de alfalfa; hallaron valores de L^* y b^* mayores en carnes obtenidas con dietas de alfalfa y sin el agregado de maíz. En el presente trabajo, contrastando las dietas de silvopastoril y la de corral (alfalfa y maíz), podría ser la alfalfa (y no el maíz) la responsable del mayor valor de b^* en carnes procedentes de corral.

Resulta importante aclarar que las determinaciones de los parámetros del color fueron realizadas con colorímetro Minolta CR-400, utilizando iluminante C, el cual no es específico para carnes. En la bibliografía consultada, como en los trabajos de referencia publicados sobre calidad de carnes utilizan el iluminante D65, no sería adecuado comparar los valores de L^* , a^* y b^* obtenidos en este trabajo con los reportados por otros autores, sin embargo, si se podría comparar la tendencia de los resultados obtenidos del contraste de diferentes sistemas de alimentación, tal como se discutió previamente.

5.3. Perfil de textura (TPA)

En la Tabla 2.3 se presentan los resultados obtenidos de los parámetros del TPA: dureza, elasticidad y masticabilidad de la carne de cabrito procedente de dos tipos de alimentación ensayados, a corral y silvopastoril.

Tabla 2.3: Efecto del sistema de alimentación: corral y silvopastoril en los parámetros del perfil de textura (TPA) de la carne de cabrito.

Sistema	Corral	Silvopastoril	<i>p</i> - valor
Dureza	25,66±4,25	19,73±4,4	<0,0001
Elasticidad	0,46±0,1	0,41±0,07	0,0473
Masticabilidad	5,8±1,81	5,62±1,91	0,7115

Valores expresados como promedio ± desviación estándar, para una n=6.

De acuerdo a los resultados expuestos de los parámetros de TPA, es posible advertir que la carne procedente de la alimentación a corral presentó una dureza y elasticidad significativamente ($p < 0,05$) mayor que la de silvopastoril, mientras que no se encontraron diferencias significativas ($p = 0,7115$) para el parámetro masticabilidad. Esto se corresponde con lo informado por Carrasco *et al.* (2007) quienes han evaluado la dureza de la carne de corderos faenados con 22-24 kg de peso vivo sometidos a diferentes sistemas de manejo con sus madres: pastoreo en pradera, pastoreo y suplementación con concentrados, intensivo en donde las madres pastoreaban 8 h diarias, mientras que los corderos permanecían encerrados, y posteriormente las madres eran encerradas para amamantar a los corderos. En este sistema, los corderos disponían de concentrados y las madres de cebada. Los corderos fueron destetados a los 45 días y posteriormente alimentados con pienso y paja. También trabajaron con un sistema de alimentación estabulado, donde madres y corderos no tenían acceso al pasto y los corderos disponían de concentrado mientras que las madres, de una mezcla comercial de unifeed *ad libitum*, y al igual que el caso anterior, los corderos fueron destetados a los 45 días y cebados. Estos autores han reportado que la carne de cordero madurada 4 días era menos dura cuando los animales se alimentaban con pasto y más dura en los tratamientos con suplementos. Esto mismo observaron Salles *et al.* (2013) en carne de cabritos Saanen de 120 días de edad criados en sistemas confinados y semiconfinados. Estos autores midieron la dureza de la carne mediante la fuerza de cizalla y encontraron

que la carne procedente del sistema confinado presentaba mayor dureza. Esta misma tendencia se observó en el presente trabajo. Carrasco *et al.* (2007), concluyen que la carne procedente de corderos criados en pastizales puede ser más tierna debido a un mayor desarrollo miofibrilar y menor proporción relativa de colágeno acumulado en el músculo.

Por otro lado, Santos Silva *et al.* (2002), estudiaron corderos Merino Branco y France x Merino Branco de 42 a 60 días de edad, faenados con 24 y 30 kg de PV, alimentados de diferentes maneras: a pasto (*Lalium multiflorum* spp Lemmos), pasto y suplementados con concentrados y en confinamiento con concentrados. Estos autores, y a diferencia de lo hallado en el presente trabajo, no encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) en la dureza de la carne procedente de los distintos sistemas de alimentación. De la misma manera, Gonzalez (2013) no halló diferencias significativas ($p > 0,05$) debidas al alimento en la dureza de la carne de corderos Merino y corderos INTA- 60 de 21 kg de PV alimentados con heno de alfalfa y suplementados con maíz al 0,5 y 1% / PV (heno de alfalfa vs heno de alfalfa y maíz).

6. Resultados destacados

6.1. Pesos registrados, rendimiento de faena, pérdidas por oreo y pH

- Los PV_{pref} , PCC y PCF registrados fueron mayores en canales procedentes del sistema de alimentación silvopastoril.
- No se encontraron diferencias en los rendimientos de canales procedentes de los sistemas corral y silvopastoril.
- No se encontraron diferencias en las PPO de canales procedentes de los sistemas corral y silvopastoril.
- No se encontraron diferencias en el pH de la carne procedente de los sistemas corral y silvopastoril.
- Los valores pH 24 h post faena fueron más elevados en animales procedentes de corral.

6.2. Capacidad de retención de agua

No se encontraron diferencias en la CRA de la carne procedentes de ambos sistemas de alimentación: corral y silvopastoril.

6.3. Color instrumental

- Se observa una tendencia en los parámetros L^* y a^* a diferenciarse entre los sistemas de alimentación, en donde la carne procedente de silvopastoril presenta un mayor valor de L^* y menor valor de a^* que la procedente de la alimentación a corral.
- El valor de b^* fue mayor en carne procedente del sistema de alimentación a corral.

6.4. Perfil de textura

La dureza y elasticidad de la carne procedente del sistema de alimentación a corral fue mayor que la procedente de silvopastoril, mientras que no se encontraron diferencias en la masticabilidad de la carne procedentes de ambos sistemas de alimentación.

7. Referencias

Adeyemi, K., Sabow, A. B., Shittu, R. M., Karim, R., Sazili, A. Q. (2015). Influence of dietary canola oil and palm oil blend and refrigerated storage on fatty acid, miofibrillar proteins, chemical composition, antioxidant profile and quality attributes of *Semimembranosus* muscle in goats. *Journal of animal Science and Biotechnology*, 6, 51.

Alimentos argentinos (2011). Caracterización del sector caprino en la Argentina. *PlaNet Finance*. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/procal/estudios/04_Caprino/SectorCaprino_Argentina.pdf

Alimentos Argentinos (2021). Carnes alternativas: panorama. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/html/39/39_05_Carnes_alternativas.htm. Acceso: 12 de enero de 2021.

Alberti, P., Panea, B., Ripoll, G., Sañudo, C., Olleta, J. L., Hegueruela, I., Campo, M. M. y Serra, X. (2005). Medición del color. En: Cañeque, V y Sañudo, C. (Eds.), Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. *Monografías INIA*, Madrid, España, Serie Ganadera N° 3, 216-225.

American Meat Science Association (AMSA) (2012). Meat color measurement guidelines. Section VII: visual- color scoring scales. 35-42.

Carrasco, S., Panea, B., Ripoll, G., Alvarez Rodríguez, J., Sanz, A., Joy, M. (2007). Efecto del Sistema de manejo sobre la textura y el análisis sensorial de la carne de cordero de Raza Churra Tensina. *Research Gate*. Disponible en: <https://www.researgate.net/publication/236888183>.

Casey, N. H., Webb, E. C. (2010). Managing goat production for meat quality. *Small Ruminant Research*, 89, 218–224.

Catán, A., Degano, C. A. M. (2007). Composición botánica de la dieta de caprinos en un bosque del Chaco Semiárido (Argentina). *Quebracho*, 14, 15-22.

Contreras, M., Auhad, L., Renolfi, R., Ruiz, S., Martínez, M., Piedrasanta, R., Orellana, P., Lazarte, M., Pisano, P. (2016). Caracterización del manejo de la majada caprina en el suroeste Santiaguense. *Serie de informes técnicos EEA Santiago del Estero*. 24 pág.

De la Vega Galán (2016). Calidad de la canal y de la carne de cabritos de las razas autóctonas Payoya y Blanca Andaluza en sistemas de pastoreo. *Tesis doctoral. Departamento de Ciencias agroforestales. Universidad de Sevilla*. Disponible en: <https://idus.us.es/handle/11441/36587>

Díaz, M. T., Velasco, S., Cañeque, V., Lauzurica, S., Ruiz de Hudiobro, F., Pérez, C., González, J., Manzanares, C. (2002). Use of concentrate or pasture for fattening lambs and its effects on carcass and meat quality. *Small Ruminant Research*, 43, 257- 268.

Di Rienzo, JA, Casanoves, F, Balzarini, MG, Gonzalez, L, Tablada, M, Robledo, C. W. InfoStat version 2017. *Grupo InfoStat*, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Domingo, E., Zimerman, M. (2009). Tecnología de Carne Caprina. *Memorias del curso de Actualización en producción caprina*, 165-177.

FAOSTAT Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2021). Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA>. Acceso: 13 de enero de 2021.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Efecto del estrés y las lesiones en la calidad de carne y de los subproductos. Capítulo 2. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/005/x6909S/x6909s04.htm>

García, M. E., Cherry, N., Lambert, B. D., Muir, J. P., Nazareno, M. A., Arroquy, J. L. (2017). Exploring the biological activity of condensed tannins and nutritional value of tree and shrub leaves from native species of the Argentinean Dry Chaco. *J. Sci Food Agric*. Wileyonlinelibrary.com. DOI10.1002/jsfa.8382.

García, M. E., López, A., Zimerman, M., Hernández, O., Arroquy, J. I., Nazareno, M. A. (2019). Enhanced oxidative stability of meat by including tannin- rich leaves of woody plants in goat diet. *AJAS*, 32, 1439-1447.

Garrido, M. D., Bañón, S., Alvarez, D. (2005). Medida de pH. En: Cañeque, V y Sañudo. C. (Eds.), Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. *Monografías INIA*, Madrid, España, Serie Ganadera N° 3, 206- 215.

Gonzalez, D. M. (2013). Efecto de la suplementación energética y el efecto del genotipo sobre las variables de la calidad de carne de corderos Merino e INTA- 60. *Sitio Argentino de Producción Animal. Avances en Calidad de Carne de ovinos, caprinos, porcinos y aves. Avances en Bienestar Animal. Implicancias de la alimentación, genética y manejo*. Capítulo 14, 75-80.

Grigioni, G., Almada, C. A., Bonato, P. I., Carduza, F., Cossu, M. E., Irurueta, M., Perlo, F., Picallo, A. B., Teira, G. A. (2011). Manual de procedimientos: determinación de los parámetros de calidad física y sensorial de carne bovina. *1° ed. Ediciones INTA, Ciudad Autónoma de Buenos Aires*. 87 pag.

Huff- Lonergan, E., Lonergan, S. M. (2005). Mechanisms of water- holding capacity of meat: The role of post- mortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, 71, 194- 204.

Lee, J. H., Konakou, B., Kannan, G. (2008). Chemical composition and quality characteristics of chevon from goats fed three different post- weaning diets. *Small Ruminant Research*, 75, 177-184.

Lemes, J. S., Osorio, M. T. M., Osorio, J. C. S., Borba, M. F., Macedo, R. F., Martins, L., Resconi, V. (2011). Calidad de carne de caprinos de Alto Camaqua (Brasil) de diferentes edades. *XIX Jornadas sobre producción animal*. Tomo II, 694-696.

MAGyP (2020). Stock caprino por departamento y estratificación al 31-12 (2012-2018). Disponible en: <https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/caprinos/estadisticas/>. Acceso: 2 de abril de 2020.

MAGyP (2021). Indicadores de carne caprina. Disponible en: <https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/caprinos/estadisticas/>. Acceso: 12 de enero de 2021.

Martinez Marín, A. L. (2007). Influencia de la nutrición sobre el contenido y tipo de ácidos grasos en la carne de los rumiantes. *Arch. Zootec.*, 56, 46-66.

Mateo, J., Caro, I., Morán, T., Carmona- Viveros, M. G., Soto, S., Serrano, E. (2016). Efecto del tipo de alimentación sobre el perfil de textura y el contenido de colágeno de la carne de terneros de raza Tundanca. *Raças autóctones não espaciais ibérico: Um recurso sustentável*, 85-91.

Oyagüe, J. M., (2007). Estabilidad del color de la carne fresca. *Nacameh*, 1, 67-74.

Peinado, B., Almela, L., Duchi, N., Poto, A. (2009). Parámetros de calidad de la canal y carne de cerdo Chato Murciano. *Eurocarne*, 173, 64-80.

Peña, F. R., Durán, D. S., Baleta Medrano, L. C., Gualdrón, G. J. A. (2012). Efecto del marinado con NaCl y Tripolifosfato- sódico sobre las propiedades microbiológicas y la ternura de la carne de cabra. *Revista Spei Domus*, 8 (17), 22-30.

Peraza Mercado, G., Jaramillo López, E., Rubio Tabarez, M. C., Molinas Holguín, F., Itzá Ortiz, M., Piña Cárdenas, B. A. (2014). Efecto del tiempo de almacenamiento de la carne de *Capra aegagrus hircus* sobre el color y pH. *CULCYT Calidad de los Alimentos*. 53 (11), 42-47.

Pla Torres, M. (2005). Capacidad de retención de agua. Cañeque, V. y Sañudo. C. (Eds.), Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. *Monografías INIA*, Madrid, España, Serie Ganadera N° 3, 243-250.

Priolo, A., Bella, M., Lanza, M., Galofaro, V., Biondi, L., Barbagallo, D. (2005). Carcass and meat quality of lambs fed fresh sulla (*Hedysorum coronarium* L.) with or without polyethylene glycol or concentrate. *Small Ruminant Research*, 59, 281-288.

Priolo, A., Vasta, V. (2007). Effects of tannin containing diets on small ruminant meat quality. *Italian Journal of Animal Science* 6 (1), 527-530.

Ricarte, A., Vera, T., Domingo, E., Diaz, R., Gonzalez, F., Quinteros, J., Irurueta, Grigioni, G. (2009). Características de la canal y de la carne de cabritos criollos y sus cruza x Boer, bajo pastoreo extensivo, en los llanos de La Rioja, Argentina. *VI° Congreso de la Asociación Latinoamericana de Especialistas en pequeños rumiantes y camélidos sudamericanos. XXIV Reunión Nacional de caprinocultura y XV Congreso Nacional, Asociación Mexicana de Técnicos especialistas en ovinocultura. Sección producción de carne*, 64- 69.

Ruiz, S. C., Martínez, M., Salinas, F., Renolfi, R., Zimmerman, M., Martínez, S. L. (2020). Calidad de la canal y carne de cabritos criollos de Santiago del Estero. 3° Congreso Internacional del Gran Chaco Americano, Territorio e Innovación, 10 al 13 de noviembre de 2020, Santiago del Estero, República Argentina.

Ruiz de Huidobro, F., Blázquez, B., Miguel, E., Onega, E. (2003). Metodología para la descripción de la calidad de la canal y carne de cabrito lechal. *Research Gate Alimentaria*, 32 pag. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Felipe_Ruiz_de_Huidobro/publication/272173768_METODOLOGIA_PARA_LA_DETERMINACION_DE_LA_CALIDAD_DE_LA_CANAL_Y_DE_LA_CARNE_DEL_CABRITO_LECHAL/links/578dfb1608ae81b4466eb166.pdf

Ruiz de Huidobro, F., Miguel, E., Blázquez, B., Onega, E. (2016). La calidad de la carne y su percepción por los consumidores. *Research Gate Alimentaria*, 36-46.

Russell, B. C., McAlister, G., Ross, I. S., Pethick, D. W. (2005). Lamb and sheep meat eating quality industry and scientific issues and the need for integrated research. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 45, 465-467.

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

Salles, F. M., Zambon, M. A., Alcalde, C. R., Macedo, F. A. F., Souza, R., Gomez, L. C., Dias, F. B., Molina, B. S. C. (2013). Características de carcaça de cabritos criados em dois sistemas de terminação. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 65 (6), 1867-1875.

Santos Silva, J., Mendes, I. A., Bessa, R. J. B. (2002). Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs 1. Growth, carcass composition and meat quality. *Livestock Production Science*, 76. 17-25.

Saravia Sánchez, J. J. (2012). Una alternativa de recría de vaquillonas en un sistema silvopastoril en bosque nativo del Chaco Semiárido de la provincia de Santiago del Estero. *Trabajo final de Especialización en alimentación de bovinos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias - Universidad Nacional de Córdoba*. URL: <https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/1694/Saravia%20Sanchez%20-%20Una%20alternativa%20de%20recr%C3%ADa%20de%20vaquillonas...%20.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca (SAGyP). Dirección de Estudios Económicos (2018). Indicadores de carne caprina Julio 2018. Disponible en: https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/caprinos/estadisticas/archivos/000001_Indicadores/000001_Actuales/000000_Indicadores%20Carne%20Caprina%202018-07.pdf

Urieta, L. F., Urieta, D. F., de la salud Rubio Lozano, M., Méndez Medina, R. N., Trujillo García, A. M. (2001). Análisis comparativo de carne y productos cárnicos de cabrito Alpino Francés y Alpino Francés (3/4) con Boer (1/4). *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 237- 244.

Velázquez, M. E. (2019). Los productores de caprinos y los mercados en el Departamento Figueroa, Santiago del Estero, Argentina. *Revista Latinoamericana de Estudios Rurales*, 4, 53- 79.

Webb, E. C., Casey, N. H., Simula, L. (2005). Goat meat quality. *Small Ruminant Research*. 60 (1-2); 153-166.

Zimerman, M. (2007). pH de la carne y factores que lo afectan. “Aspectos estratégicos para obtener carne ovina de calidad en el cono sur americano”. *Sañudo Astiz, C. & González, C. A.* 141-153.

Zimerman, M., Grigioni, G., Taddeo, H., Domingo, E. (2011). Physiological stress responses and meat quality traits of kids subjected to different pre- slaughter stressors. *Small Ruminant Research*, 100, 137-142.

Zimerman, M., Domingo, E., Grigioni, G., Taddeo, H. (2013). Información sobre el estado de bienestar animal y calidad de la carne de chivitos faenados en un frigorífico del norte de la Patagonia argentina. *Publicaciones técnicas de INTA*, 93, Capítulo 18, 92-97.

Zimerman, M., Saldaño, S., Ruiz, S., Méndez, R. E., Fernández Salom, M. J., Bottegal, D., Martínez, S. (2018). Calidad de las canales de Cabritos Criollos del Sur Tucumano. *Información preliminar. Comunicación. 41º Congreso Argentino de Producción Animal.*



CAPÍTULO 3: Aplicación de antioxidantes naturales procedentes de especies nativas del Chaco Semiárido en la preservación de carne refrigerada de pequeños rumiantes.

1. Introducción

1.1. Producción de rumiantes menores

La producción de pequeños rumiantes contribuye positivamente con la obtención de diferentes productos tales como carne, leche y lana, así como también otros derivados de éstos, tanto comestibles como de otras utilidades. En cuanto a la carne, se trata de un tipo de carne magra con un flavor característico y composición deseable en cuanto a ácidos grasos y proteínas (Pollo y Wilson, 2009 y Boyazoglu y Morand- Ferch, 2001, citados en Rodríguez Carías, 2013), lo que resulta una característica beneficiosa para los consumidores (Alimentos argentinos, 2011).

1.1.1. Carne ovina

La carne de cordero es considerablemente apreciable por sus características sensoriales particulares y se consume en todo el mundo, rompiendo fronteras culturales, religiosas y geográficas. El consumo per cápita mundial de la carne ovina para el año 2020 fue de 29,65 kg. Si bien el consumo de carne de cordero es muy variable de acuerdo a la región, Australia es uno de los países con mayor consumo per cápita, con 6,2 kg, mientras que en Irán el consumo per cápita de este tipo de carne es de 4,2 kg (OCDE, 2020 y 2021). Por otro lado, en Argentina, el consumo de carne de cordero es de 1 kg por habitante por año (MAGyP, 2019) y actualmente, debido al bajo consumo de este tipo de carne, se busca fomentar su consumo a través del “Programa Nacional para el consumo de carne ovina” (MAGyP, 2021).

1.1.2. Carne caprina

En Argentina la producción caprina se concentra en las provincias de Neuquén, Mendoza, Chaco y Santiago del Estero (MAGyP, 2020), aunque el mayor número de frigoríficos caprinos se concentra en la provincia de Córdoba (Alimentos Argentinos, 2020). En Argentina, como ya se indicó anteriormente, el consumo aparente de carne caprina para el año 2006 fue de 0,33 kg/ habitante/ año (Alimentos Argentinos, 2020). A partir de una encuesta realizada sobre un total de 1500 consumidores de carne caprina en la provincia de Córdoba, Argentina; se obtuvo que los aspectos más valorados al momento del consumo eran: la terneza, el color, el olor y el contenido graso. También

indicaron que es un producto de escasa oferta, a diferencia de las carnes tradicionales (Agüero *et al.*, 2007). La producción de carne de este tipo es estacional, motivo por el cual no es un producto de oferta abundante durante todo el año como ocurre en otros tipos de carnes. Su oferta se concentra entre los meses de noviembre a enero, con un pico máximo en diciembre, coincidente con una mayor demanda de este producto para las fiestas (Alimentos Argentinos, 2020).

1.2. Características de la carne fresca

La carne fresca es muy perecedera debido al deterioro de su color, aparición de procesos oxidativos y al deterioro microbiano (Zhou *et al.*, 2010). La industria alimentaria utiliza diferentes estrategias para mejorar la calidad y estabilidad de los productos durante el almacenamiento, como es el caso del super- enfriamiento (Rahman *et al.*, 2018) o bien, el uso de antioxidantes naturales y antimicrobianos, como conservantes, ya sea en el producto directamente o formando parte de recubrimientos comestibles y películas activas (Lourenço *et al.*, 2019).

1.3. Factores que influyen en la calidad de la carne

1.3.1. Color

El color de la carne es un aspecto importante para los consumidores, ya que define positiva o negativamente en la decisión de compra de un producto cárnico y su impulso a comprar el producto nuevamente (Oyagüe, 2007; Russell *et al.*, 2005).

Una forma de medir el color instrumental de la carne es mediante el uso del sistema CIELab con los parámetros de color L*, que representa la luminosidad, a*, índice de rojo y b*, índice de amarillo (Cando *et al.*, 2014). Además, también se suelen utilizar los índices Hue (tono) y C* (croma). El tono representa, por ejemplo, al rojo, naranja, amarillo, azul, etc., mientras que el croma se correlaciona con la intensidad de ese tono, es decir, es una distinción entre colores vivos, cuando el C* es más alto, o colores apagados, cuando el C* es más bajo. Estos índices se correlacionan mejor con la percepción de los consumidores respecto al color visual de la carne. Además, el parámetro a* de color y el índice C* están relacionados con la formación de metamioglobina (MetMb) (Hernandez Salueña, *et al.*, 2019).

Los cambios producidos en el color durante el almacenamiento de la carne están estrechamente relacionados a los procesos de oxidación de lípidos y proteínas (Díaz *et al.*, 2013; Ganhão *et al.*, 2010). Durante dichos procesos, se produce la oxidación de la Mioglobina (Mb) a MetMb, con la consecuente decoloración de la carne (Ripoll *et al.*, 2018). El contenido de MetMb determina la vida útil de la carne, el cual no debería ser mayor al 40% en su superficie, ya que este porcentaje se encuentra dentro del rango de aceptabilidad del consumidor (Hernandez Salueña *et al.*, 2019). A medida que aumenta el porcentaje de MetMb tanto a^* como b^* disminuyen. Durante la oxigenación y oxidación de la carne los cambios en C^* son notables y mayores que los cambios en Hue, es decir, que no se producen cambios fuertes en los tonos, sino más bien, cambios significativos en la intensidad del color (Hernandez Salueña *et al.*, 2019).

1.3.2. Procesos oxidativos

La carne fresca, al ser un producto perecedero por su composición química es susceptible al deterioro producido por procesos oxidativos (Zhou *et al.*, 2010), como la oxidación de lípidos y de proteínas.

En los alimentos como la carne, se produce normalmente la formación de radicales libres, que son moléculas inestables que se producen como consecuencia de reacciones entre otras, entre metales de transición como el hierro o cobre y el peróxido de hidrógeno u oxígeno molecular. La mayor producción de radicales libres ocurre durante el desarrollo de procesos tecnológicos tales como el picado o después de tratamientos térmicos. Los radicales son estabilizados mediante OH al abstraer átomos de hidrógeno en moléculas susceptibles como los lípidos y proteínas, dando lugar a procesos oxidativos (Estévez *et al.*, 2012).

1.3.2.1. La oxidación de lípidos

Es una de las principales causas de deterioro de la carne debido a la alta concentración de lípidos insaturados, pigmentos hemo, catalizadores de metales y agentes oxidantes presentes en el tejido muscular. Los lípidos se distribuyen ampliamente, tanto en el espacio intracelular como extracelular de la carne, formando triacilglicéridos, fosfolípidos y esteroides. Estos compuestos son químicamente inestables y, por lo tanto, fácilmente oxidables, especialmente durante el manejo y el almacenamiento *post mortem* (Falowo *et al.*, 2014). El proceso de oxidación comienza

en una fracción de ácido graso insaturado por la extracción de un átomo de hidrógeno y se propaga en una reacción en cadena (Krishnan *et al.*, 2014). Esta reacción consta de tres etapas: iniciación, propagación y terminación, que finaliza con la producción de radicales libres. La reacción de iniciación comienza cuando se extrae el hidrógeno de un ácido graso insaturado dando lugar a la formación de un radical alquilo (R \cdot) (Ilustración 3.1) (Dominguez *et al.*, 2019), el que, a su vez, en la reacción de propagación, reacciona con el oxígeno para formar un radical peróxido (ROO \cdot) (Falowo *et al.*, 2014). Aquí también se produce un proceso de iniciación secundaria en la que los hidroperóxidos formados durante la propagación se descomponen para dar lugar a nuevos radicales: hidroxilo, peroxi y alcoxi, lo cual se puede visualizar en la Ilustración 3.2 (Dominguez *et al.*, 2019). Finalmente, en la fase de terminación, se produce una reacción entre radicales con otros radicales o bien, con moléculas antioxidantes para dar lugar a productos estables no radicales. Los compuestos antioxidantes transfieren un átomo de hidrógeno al radical derivado de la oxidación de lípidos, dando lugar a un producto más estable (Dominguez *et al.*, 2019).

El proceso de oxidación lipídica tiene consecuencias negativas en los productos tales como cambios en el valor nutricional, debido a la destrucción de ácidos grasos y lípidos solubles, vitaminas A, D, E y K, disminución del contenido calórico, rancidez y cambios en la coloración, que se traducen en pérdida de la pigmentación roja y cambios en el flavor de la carne (Díaz *et al.*, 2013).

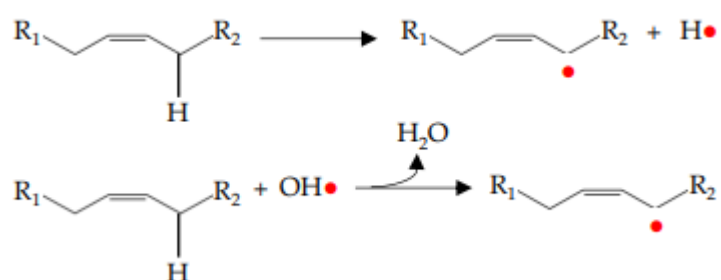


Ilustración 3.1: Representación simple de la reacción de iniciación en la oxidación de lípidos. Fuente:

Dominguez *et al.* (2019).

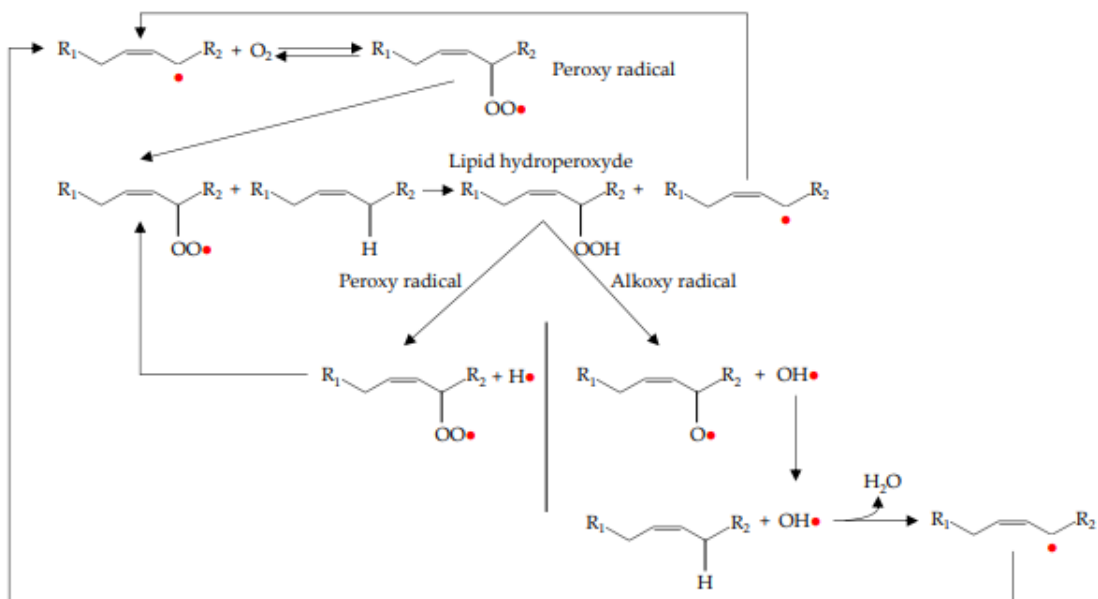


Ilustración 3.2: Representación de las reacciones de propagación e iniciación secundarias producidas durante la oxidación de lípidos. Dominguez *et al.* (2019).

1.3.2.2. La oxidación de proteínas

Es otra causa de deterioro mediante reacciones en cadena que conducen a la modificación química de las proteínas con consecuencias negativas en los alimentos. Este proceso ha constituido un desafío importante para la industria alimentaria en los últimos 15 años (Ferreira *et al.*, 2018). Se cree que este tipo de oxidación ocurre de forma simultánea con la oxidación de lípidos (Rodríguez Carpena *et al.*, 2012). En la oxidación de proteínas, al igual que en la oxidación de lípidos también se produce el secuestro de un átomo de hidrógeno en presencia de un agente oxidante, como, por ejemplo, un radical libre. Estas moléculas atacan las cadenas laterales de aminoácidos de las proteínas. La ruta de degradación y los productos obtenidos de la oxidación son muy diversos ya que cada aminoácido presenta una ruta específica de oxidación y da lugar a productos específicos (Estévez *et al.*, 2012).

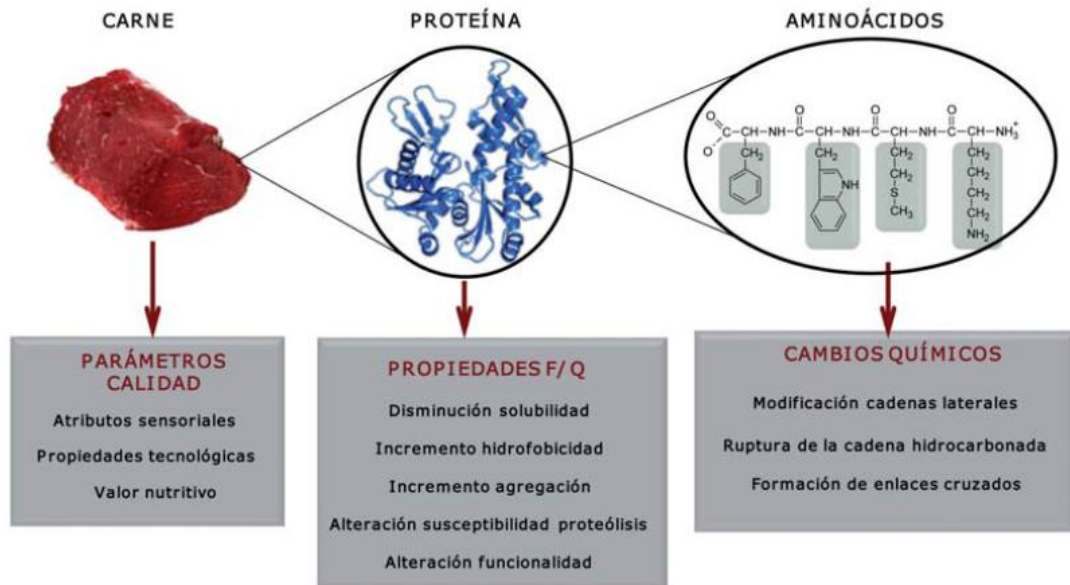


Ilustración 3.3: Cambios inducidos por las reacciones de oxidación a diferentes niveles: productos cárnicos, proteínas y aminoácidos. Fuente: Estévez *et al.* (2012)

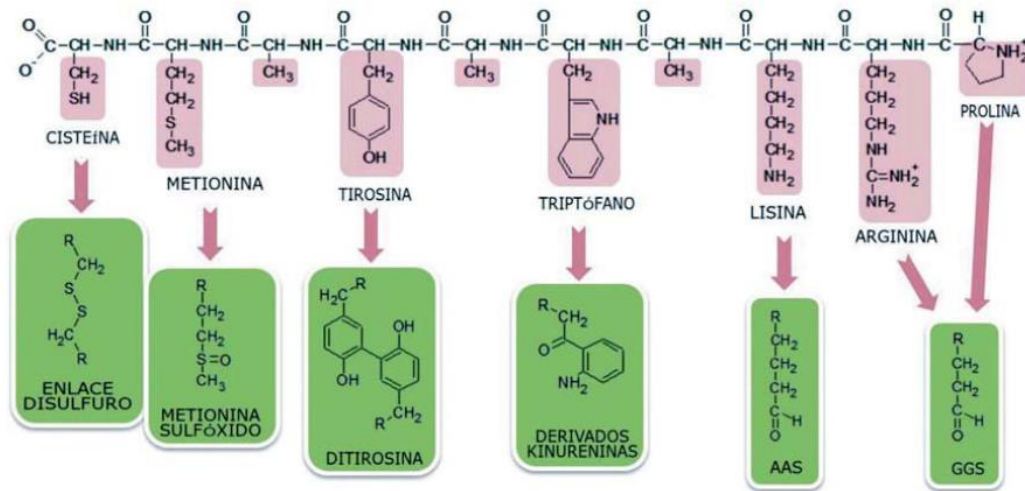


Ilustración 3.4: Modificación de las cadenas laterales como consecuencia de la oxidación de proteínas.

Fuente: Estévez *et al.* (2012)

En la Ilustración 3.3 se muestran los cambios inducidos por las reacciones de oxidación en las proteínas y aminoácidos constitutivos de los productos cárnicos: en los productos cárnicos, proteínas y aminoácidos (Estévez *et al.*, 2012). En la Ilustración 3.4 se muestran las modificaciones de las cadenas laterales de aminoácidos como consecuencia de la oxidación de las proteínas, y a partir de los cuales se producen

cambios irreversibles en los grupos funcionales de aminoácidos (Estévez *et al.*, 2012). Uno de los principales productos de la oxidación de proteínas son los carbonilos, y la consecuente obtención de amino ácidos esenciales tales como lisina, arginina y prolina (Rodríguez Carpena *et al.*, 2012; Estévez *et al.*, 2012). Este proceso oxidativo tiene un impacto muy importante en los productos cárnicos, a partir de los cuales se producen modificaciones en las propiedades sensoriales, en el valor nutritivo, la digestibilidad, al igual que en el color y textura de la matriz cárnica (Estévez *et al.*, 2012; Ganhão *et al.*, 2010- b).

1.3.2. Deterioro microbiológico

La planta de faena de los animales constituye el primer lugar en el cual se puede producir la contaminación de la carne, como consecuencia de una manipulación inadecuada de las canales desde el sacrificio de los animales hasta su comercialización. Además, si las condiciones no son adecuadas también se puede producir una contaminación ambiental (Kumar y Rao, 2016). Es por ello que las buenas prácticas de manufacturas (BPM) en la planta de faena se consideran el principal punto de control, que condiciona la carga microbiológica inicial de las canales (Bianchi *et al.*, 2011), y que garantiza la calidad higiénico-sanitaria con la que se debe comercializar el producto (Zweifel *et al.*, 2014).

Por otro lado, si las condiciones de almacenamiento no son adecuadas, se puede producir el deterioro de la carne cruda por el desarrollo de microorganismos indeseables (Doulgraki *et al.*, 2012). Además, la interacción de las distintas especies microbianas presentes en la matriz cárnica da lugar a la liberación de compuestos volátiles que afectan directamente al flavor de la carne (Casaburi *et al.*, 2015).

De acuerdo a la ANMAT (2020), existen microorganismos indicadores de calidad de un producto alimenticio, los cuales se utilizan para determinar:

- La calidad de la materia prima, problemas de almacenamiento, abuso de temperaturas, vida útil (recuento de aeróbios mesófilos totales).
- Potencial contaminación fecal o posible presencia de patógenos (*Escherichia coli*, coliformes fecales).

- Contaminación por excesiva manipulación (*Staphylococcus aureus* coagulasa positiva).
- Contaminación post tratamiento térmico (coliformes, enterobacterias, *S. aureus* coagulasa positiva, estreptococos fecales)
- Productos metabólicos de patógenos que indican un peligro para la salud (termonucleasa).

Por mencionar algunos microorganismos indicadores de calidad, el recuento de aerobios mesófilos totales (MAMT) es muy utilizado para monitorear la forma en la que se ha manipulado un alimento durante su elaboración y, por lo tanto, la implementación de las BPM (ANMAT y Ministerio de Salud, 2014; ANMAT, 2020). Los estafilococos se encuentran en las fosas nasales, la piel y en lesiones de humanos y otros mamíferos y su presencia en los alimentos puede indicar un potencial riesgo para la salud de los consumidores ya que son microorganismos productores de una toxina termoestable responsable de una enfermedad transmitida por alimentos (ETA) conocida comúnmente como intoxicación staphilocócica (ANMAT, 2020).

1.4. Uso de antioxidantes naturales para minimizar los procesos de deterioro de la carne fresca

Los compuestos antioxidantes, en pequeñas concentraciones, pueden retardar o inhibir la oxidación de sustratos susceptibles a las especies reactivas del oxígeno (ROS), tanto al inicio como en la etapa de propagación de la reacción en cadena de oxidación (Ribeiro *et al.*, 2019).

Los antioxidantes pueden ser sintéticos o naturales (Manzoor *et al.*, 2014), sin embargo, el uso de antioxidantes sintéticos como el butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), terbutilhidroquinona (TBHQ), entre otros, es muy cuestionado por el riesgo que puede causar sobre la salud de los consumidores (Ribeiro *et al.*, 2019). En los últimos años se ha incrementado la demanda de antioxidantes obtenidos de fuentes naturales (Manzoor *et al.*, 2014) en reemplazo de aditivos obtenidos por síntesis química con efectos antioxidantes como nitritos o sulfitos ya que los consumidores actualmente demandan alimentos denominados “clean-label” o de etiqueta segura (Bortnowska *et al.*, 2020; Martínez *et al.*, 2019).

La producción de productos cárnicos con el agregado de antioxidantes naturales ha tenido una atracción considerable entre los científicos, y existen numerosos trabajos donde se han evaluado diversos materiales vegetales para prolongar la vida útil de los productos cárnicos frescos (Echegaray *et al.*, 2018; Lahmar *et al.*, 2018; Bortnowska *et al.*, 2020). Sin embargo, una estrategia tecnológica consistente dirigida a proteger los productos cárnicos frente a los procesos oxidativos, requiere una caracterización detallada previa de los compuestos presentes de forma natural en dichos materiales y sus bioactividades. Se ha encontrado que los compuestos polifenólicos como flavonoles, antocianinas, flavanoles, y tocoferoles, manifiestan una variada bioactividad de interés para la industria cárnica, que incluyen antioxidantes y antimicrobianos, entre otros compuestos (Saini *et al.*, 2016; Kalogianni *et al.*, 2020; Martínez *et al.*, 2020). Si bien el efecto de estas especies químicas frente a la oxidación de lípidos es bien conocido, el impacto de los compuestos fenólicos para contrarestar la oxidación de las proteínas de la carne es un tema de debate debido a los complejos mecanismos que gobiernan las interacciones moleculares de las proteínas de la carne con los compuestos fenólicos (Estévez 2011; Estévez *et al.*, 2020). Recientemente se han llevado a cabo numerosas investigaciones para la obtención de extractos ricos en compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes y antimicrobianas para evaluar su posible aplicación en productos cárnicos (Rodríguez Carpena *et al.*, 2011; Ganhão *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2013; Armenteros *et al.*, 2013; Cando *et al.*, 2014; Utrera *et al.*, 2015; Lahmar *et al.*, 2018; Khan *et al.*, 2020).

1.5. Antioxidantes naturales autóctonos del Chaco Semiárido

Santiago del Estero es una provincia del Gran Chaco Americano, rica en vegetación autóctona, de crecimiento espontáneo, entre las que se encuentran especies como *Prosopis alba*, conocida vulgarmente como Algarrobo blanco, *Acacia aroma* o Tusca y *Ziziphuz mistol* o Mistol (Araujo *et al.*, 2008; Palacio y Roger, 2016), entre otros. Según estudios realizados por diferentes autores, las hojas del Algarrobo blanco, Tusca y Mistol, tienen características antioxidantes (Astudillo *et al.*, 2000; Tamayo *et al.*, 2008; Colares y Arambarri 2008; Arias *et al.*, 2004, Taboada *et al.*, 2019; Ruiz *et al.*, 2019). Si bien el uso de estas especies vegetales como fuentes de conservantes naturales es prometedor, actualmente se desconoce su eficacia para prolongar la vida útil de productos cárnicos frescos.

2. Hipótesis

Los antioxidantes extraídos de las hojas de Algarrobo blanco, Tusca y Mistol tienen la capacidad de minimizar los procesos de deterioro durante el almacenamiento refrigerado de productos cárnicos de rumiantes menores.

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Evaluar el efecto antioxidante de extractos obtenidos de hojas de especies nativas en el color, oxidación de lípidos y proteínas, y deterioro microbiológico de diversos productos cárnicos.

3.2. Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de las especies vegetales en el color y oxidación de lípidos y evaluación sensorial de chuletas de cordero refrigeradas.
- Evaluar el efecto de las especies vegetales en el color, oxidación de lípidos y proteínas y evaluación sensorial de hamburguesas de cordero.
- Evaluar el efecto de las especies vegetales en el pH, el color, el desarrollo microbiológico y evaluación sensorial de filetes de cabrito procedentes de dos sistemas de alimentación: silvopastoril y confinados en corral.
- Seleccionar la especie vegetal con mejor actividad antioxidante que permita obtener la mayor vida útil de los productos cárnicos estudiados.

Para el desarrollo de este capítulo se llevaron a cabo 3 ensayos de aplicación de extractos naturales sobre carne fresca de corderos y cabritos con el fin de evaluar su comportamiento durante el almacenamiento refrigerado.

4. Ensayo A: Efecto de la aplicación de antioxidantes naturales procedentes del Chaco Semiárido en el color y en la oxidación lipídica de chuletas de cordero durante su almacenamiento refrigerado.

4.1. Materiales y métodos

4.1.1. Materia prima

4.1.1.1. Material vegetal

Se colectaron hojas de *Prosopis alba* (Algarrobo blanco: AB), *Acacia aroma* (Tusca: T) y *Zizhipus mistol* (Mistol: M) del Campo Anexo Experimental Francisco Cantos perteneciente a la Estación Experimental Agropecuaria de INTA Santiago del Estero (Latitud: 28 ° 1' 21.38 "S; 64 ° 13'49.83 "O) durante los meses de noviembre y diciembre del año 2015.

4.1.1.2. Preparación de extractos naturales

Se prepararon extractos de hojas de *Prosopis alba* (Algarrobo blanco: AB), *Acacia aroma* (Tusca: T) y *Zizhipus mistol* (Mistol: M). La elección de emplear la proporción 70:30 v/v de acetona: agua en la extracción de estos compuestos para aplicarlos posteriormente a la carne, se realizó teniendo en cuenta la capacidad de evaporación del solvente a 40°C en un rotavapor y corriente de nitrógeno. Dicha extracción se realizó siguiendo la metodología descrita por Ganhão *et al.* (2010- a). Para preparar los aditivos que se utilizaron para su aplicación a la carne, los extractos se re-disolviéron en agua destilada y estéril hasta alcanzar una concentración final de 3000 mg Ácido Gálico/ L. También se trabajó con un control (C: sin extractos).

4.1.1.3. Matriz cárnica

Se utilizaron 48 chuletas de corderos de la raza Merino sacrificados a los 3 meses de edad con un peso vivo promedio de 15 kg. Las chuletas fueron tomadas de la sección torácica y obtenidas 24 h *post-mortem* de un establecimiento expendedor, procedentes

de un matadero frigorífico local de Cáceres, Extremadura, España. Las muestras fueron transportadas, refrigeradas y mantenidas en las mismas condiciones hasta la aplicación del extracto. En la Ilustración 3.5 se esquematiza la disposición y cantidad de chuletas empleadas por bandejas, la distribución según el aditivo aplicado y los tiempos de almacenamiento estudiado (0 y 7 días). En cada bandeja se ubicaron 2 chuletas. Sobre una de ellas se evaluó el color instrumental y sobre la otra, la oxidación lipídica. Para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento se trabajó con 3 unidades de análisis, en donde cada bandeja correspondió a una unidad.

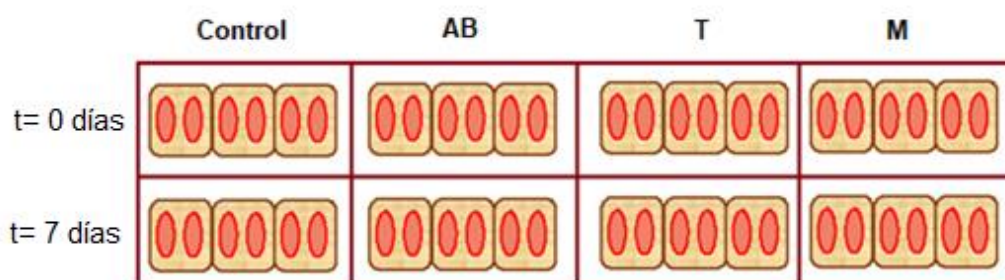


Ilustración 3.5: Distribución según aplicación de extractos para los tiempos de almacenamiento: 0 y 7 días. Disposición y cantidad de chuletas por bandejas.

4.1.2. Aplicación de los extractos

Las chuletas de cordero de aproximadamente 40 gramos se colocaron sobre papel de aluminio. La aplicación de los extractos se realizó por pulverización sobre ambos lados siguiendo la metodología de Lahamar *et al.* (2018), para lo cual se empleó un pulverizador manual, dejando absorber los extractos en cada lado por un tiempo de 2 minutos. En cada lado de las muestras se realizaron 6 aplicaciones, las cuales correspondían a un volumen aproximado de 0,57 mL de extracto, es decir, que cada chuleta recibió un total de 1,14 mL de extracto; un volumen aproximado de extracto de 28,5 mL/kg de chuleta. Posteriormente las muestras se dispusieron en bandejas de polipropileno y envolvieron en film adherente de poliamida y poliestireno. Una vez envasadas se almacenaron en condiciones de refrigeración a $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 7 días.

4.1.3. Determinaciones realizadas

El color instrumental, la oxidación lipídica y la evaluación sensorial se realizaron en los días 0 y 7.

4.1.3.1. Color instrumental

Una vez aplicado el extracto las muestras se refrigeraron a $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 2 h. de manera de estabilizar el color. Posteriormente se mantuvieron a temperatura ambiente (aproximadamente 20°C) durante 20 minutos, y a continuación se midió el color en la superficie de las chuletas por triplicado, utilizando colorímetro Minolta CR-300 (Minolta Camera Corp., Meter Division, Ramsey, NJ) con un área de medición de 8 mm de diámetro, iluminante D65, ángulo de observación de 0° (Cando *et al.*, 2014) y procesador de datos (DP-301). El equipo se calibró en el sistema de espacio de color CIELab utilizando plato de calibración blanco, donde el valor L^* indica luminosidad ($L^*=0$ oscuridad, $L^*=100$ luminosidad), el valor a^* índice rojo ($-a^*=$ verde, $+a^*=$ rojo), y el valor b^* índice amarillo ($-b^*=$ azul, $+b^*=$ amarillo) (Cando *et al.*, 2014). También se calcularon los índices: $\text{Hue} = \tan^{-1} [(a^*/b^*) \times 57,29]$ y croma $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ (Ripoll *et al.*, 2018).

4.1.3.2. Oxidación lipídica

Para la determinación de la oxidación lipídica se utilizó el método del ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) siguiendo la metodología descrita por Ganhão *et al.* (2011). Se colocó 2,5 g de muestra de carne en tubos Falcon y se homogeneizó con 7,5 mL de ácido perclórico (3,86%) y 0,25 mL de butilato de hidroxitolueno (BHT) (4,2% en etanol). Durante la homogeneización los tubos se sumergieron en un baño de hielo para minimizar el desarrollo de reacciones oxidativas durante la extracción del ácido tiobarbitúrico (TBARS). La mezcla se centrifugó (3000 g durante 4 min.), se filtró, y el filtrado se recogió en un matraz volumétrico de 10 mL, se enrazó con ácido perclórico y se centrifugó (4000 g durante 2 min.). Se mezclaron alícuotas de 2 mL con 2 mL de TBA (0,02 M) en tubos de ensayo, se colocaron en un baño de agua hirviendo (90°C) durante 30 min., conjuntamente a los tubos de la curva estándar. Una vez fríos, se midió la absorbancia a 532 nm. La curva estándar se preparó usando una solución de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) en ácido perclórico al 3,86%. Las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como mg de malondialdehído (MDA) por kg de carne.

4.1.3.3. Análisis sensorial

Se llevó a cabo una prueba hedónica de ordenamiento por preferencia con 84 jueces no entrenados (ISO 11136:2014) (consumidores) seleccionados de personal y estudiantes de la Universidad de Extremadura (España) siguiendo la metodología propuesta por Sancho *et al.* (1999), a través de sesiones realizadas en los tiempos de almacenamiento inicial y final: 0 días y 7 días. Los jueces eran consumidores habituales de carne de cordero de entre 25 y 60 años de edad. Se evaluaron las chuletas de cordero adicionadas con los extractos de AB, T y M; y también se trabajó con un control: C (chuletas sin extractos). En cada sesión, los evaluadores recibieron 4 bandejas con 2 chuletas crudas de cordero, cada una cubierta con film adherente y codificadas al azar con números aleatorios de tres dígitos. Se prepararon dos ejemplares para cada sesión, con la distribución indicada en la Ilustración 3.6, de manera que dos jueces trabajaron en forma simultánea. Se les pidió a los evaluadores que ordenasen las muestras de acuerdo a su preferencia: de la que menos les gustaba/ agradaba a la que más les gustaba/ agradaba, teniendo en cuenta su apariencia visual. El análisis sensorial se realizó en una sala destinada para tal fin.

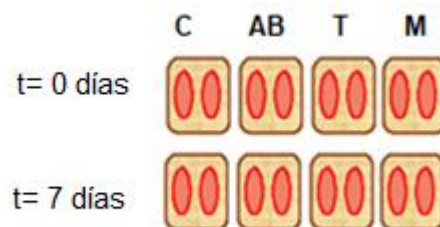


Ilustración 3.6: Distribución de muestras para análisis sensorial, según la aplicación de los extractos y tiempos de almacenamiento. Disposición y cantidad de chuletas por bandejas.

4.1.4. Análisis estadístico

Se trabajó con un diseño factorial 4 x 2, siendo el factor A el extracto antioxidante con 4 niveles: AB, T, M y C; y el factor B el tiempo de almacenamiento con dos niveles: día 0 y 7. Se utilizó el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + \epsilon_{ij}$$

Se trata de un modelo estadístico incompleto, ya que no se analizaron las interacciones, y donde:

Y_{ij} es la observación correspondiente al i -ésimo nivel del factor A y al j -ésimo nivel del factor B ($i: 1, 2, 3$ y 4 ; $j: 1$ y 2) en las determinaciones del color instrumental y oxidación lipídica.

μ es la media general

A_i es el efecto de la aplicación de los extractos en la superficie de la carne con 4 niveles ($i: 1, 2, 3$ y 4)

B_j es el efecto debido al tiempo almacenamiento de la carne con 2 niveles ($j: 0$ y 7 días)

\mathcal{E}_i es el error o residuo del modelo.

La comparación de medias se realizó a través de un análisis de la varianza (ANOVA). Como test a posteriori se utilizó la prueba de Tukey, considerando una significancia de $\alpha=0,05$.

Para el análisis sensorial se trabajó con un test de ordenación en función de la preferencia del consumidor: Prueba de Friedman, con una significancia de $\alpha=0,05$, el cual corresponde a un ANOVA no paramétrico.

El análisis de datos se realizó mediante el empleo del software estadístico InfoStat versión Professional, 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2017).

4.2. Resultados y discusión

4.2.1. Color instrumental

Los resultados de los parámetros de color L^* , a^* y b^* , e índices Hue y C^* de las chuletas de cordero almacenadas durante 7 días se presentan en las Tablas 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 y 3.5.

Tabla 3.1: Efecto de los extractos Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M), y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro L* del color en chuletas de cordero almacenadas refrigeradas.

		L*		
		0d	7d	p-valor Almacenamiento
Tratamientos	C	49,60±3,24	42,28±1,36 B	0,0005
	AB	50,44±5,10	50,06±4,49 A	0,8938
	T	51,64±2,99	48,22±2,44 A	0,0553
	M	48,15±3,18	47,22±4,87 A	0,7031
p-valor Tratamiento		0,439	0,0085	

Valores expresados como promedio ± desviación estándar. Medias con letras distintas: A-B para el efecto tratamiento son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Tabla 3.2: Efecto de los extractos Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M), y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro a* del color en chuletas de cordero almacenadas refrigeradas.

		a*		
		0d	7d	p-valor Almacenamiento
Tratamientos	C	17,93±1,54	14,94±2,97	0,0551
	AB	19,29±3,33	15,59±2,16	0,0455
	T	18,04±1,38	14,92±2,05	0,0115
	M	17,12±1,86	13,07±2,78	0,0141
p- valor Tratamiento		0,4041	0,3652	

Valores expresados como promedio ± desviación estándar.

Tabla 3.3: Efecto de los extractos Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M), y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro b* del color en chuletas de cordero almacenadas refrigeradas.

		b*		
		0d	7d	p-valor Almacenamiento
Tratamientos	C	9,73±0,5	9,33±1,79	0,6091
	AB	9,72±1,83	8,87±1,29	0,3783
	T	9,71±1,39	9,31±1,6	0,6513
	M	10,49±0,98	9,38±1,66	0,1893
p- valor Tratamiento		0,6596	0,9422	

Valores expresados como promedio ± desviación estándar.

Tabla 3.4: Efecto de los extractos Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M), y del tiempo de almacenamiento sobre el índice Hue del color en chuletas de cordero almacenadas refrigeradas.

		Hue		
		0 d	7 d	<i>p</i> - valor Almacenamiento
Tratamientos	C	61,43±1,87 A	57,95±4,54 AB	0,1125
	AB	63,33±1,83 A	60,36±1,26 A	0,0084
	T	61,80±2,10 A	58,13±2,31 AB	0,0165
	M	58,46±1,16 B	54,18±1,99 B	0,0027
<i>p</i>- valor Tratamiento		0,0011	0,0095	

Valores expresados como promedio ± desviación estándar. Medias con letras distintas: A-B para el efecto tratamiento son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Tabla 3.5: Efecto de los extractos Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M), y del tiempo de almacenamiento sobre el índice C* del color en chuletas de cordero almacenadas refrigeradas.

		C*		
		0 d	7 d	<i>p</i> - valor Almacenamiento
Tratamientos	C	20,41±1,48	17,67±3,23	0,0885
	AB	21,6±3,74	17,94±2,49	0,0735
	T	20,5±1,82	17,6±2,51	0,0448
	M	20,08±2,06	16,09±3,19	0,0313
<i>p</i>- valor tratamiento		0,724	0,6817	

Valores expresados como promedio ± desviación estándar

El análisis de los datos de la Tabla 3.1 revela que durante el almacenamiento refrigerado el valor de L* disminuyó significativamente ($p < 0,05$) para las chuletas C, mientras que se observa una tendencia en el mismo comportamiento para el tratamiento T, manteniéndose estable para el resto de los tratamientos con extractos. A los 7 días de almacenamiento, las diferencias fueron significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos con extractos y C, presentando este último la menor luminosidad.

En la Tabla 3.2 es posible advertir que los valores de a* disminuyeron significativamente ($p < 0,05$) durante el almacenamiento para los tratamientos con extractos, mientras que se observa también una tendencia a disminuir dicho valor en las chuletas C. A los 7 días de almacenamiento las diferencias no fueron significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

No se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) para los efectos tiempo de almacenamiento y tratamientos en los valores de b^* , como lo evidencia la Tabla 3.3.

Finalmente, en el índice Hue, según se muestra en la Tabla 3.4, las diferencias fueron significativas ($p<0,05$) para el tiempo de almacenamiento en los tratamientos con extractos. También se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$) entre tratamientos a los 0 y 7 días de almacenamiento, siendo a los 0 días el tratamiento M el de menor valor, mientras que las diferencias no fueron significativas ($p>0,05$) entre C, AB y T. A los 7 días de almacenamiento, AB presentó valores de Hue superiores al tratamiento M, mientras que C y M presentaron valores intermedios que no difieren de los demás tratamientos. Con respecto al índice C^* , como se observa en la Tabla 3.5, se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$) en los tiempos de almacenamientos estudiados en los tratamientos T y M, observándose una disminución de los valores de C^* . El mismo comportamiento se observó como tendencia en los tratamientos C y AB. Por otro lado, las diferencias no fueron significativas ($p>0,05$) entre tratamientos para los días 0 y 7 de almacenamiento.

De acuerdo a la bibliografía consultada la oxidación de la Mb en sus distintos estados de oxidación puede catalizar la oxidación de lípidos, de esta manera, los radicales libres que se forman en el proceso pueden oxidar átomos de hierro o desnaturalizar moléculas de Mb, dando lugar a cambios indeseados en el color de la carne, como consecuencia de la formación de MetMb (Krishnan *et al.*, 2014). A medida que aumenta el porcentaje de MetMb el valor de a^* disminuye (Hernández Salueña *et al.*, 2019). Dicho efecto durante el almacenamiento fue observado en el presente trabajo y también por Krishnan *et al.* (2014), Bellés *et al.* (2017) y Devatkal *et al.* (2010), quienes describieron este efecto en carnes aviar, ovina y caprina tratadas con extractos con propiedades antioxidantes. De acuerdo a Khliji *et al.* (2010), el valor de a^* está relacionado con la percepción de la carne fresca por parte de los consumidores, y establecen que valores inferiores a 14,8 para a^* son considerados inaceptables para carne de cordero. Teniendo en cuenta dicho valor, si bien no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$) a los 7 días de almacenamiento en el valor de a^* , numéricamente las chuletas C, AB y T se encontrarían dentro de la aceptabilidad por parte de los consumidores. En cuanto al valor de b^* , a diferencia de lo registrado en las chuletas de cordero del presente trabajo, Villalobos Delgado *et al.* (2015) observaron un aumento del valor de b^* en hamburguesas de cordero tratadas con infusión de lúpulo o lúpulo en polvo almacenadas durante 7 días. A su vez, De los Santos Ruete *et al.* (2018)

registró una disminución en el valor de b^* en hamburguesas de cordero adicionados con té verde o romero y almacenadas 9 días. Con respecto a los índices Hue y C^* , Ripoll *et al.* (2018) y Hernández Salueña *et al.* (2019) indicaron que ambos índices se correlacionan adecuadamente con la percepción de los consumidores respecto al color visual de la carne caprina y bovina respectivamente. Además, Hernández Salueña *et al.* (2019) también destacaron que los cambios en el índice C^* resultan ser mayores y más notables que los cambios en Hue, por lo que no se producen cambios fuertes en el tono (Hue), sino más bien, en la intensidad del color o índice C^* , al igual que ocurre en el presente trabajo. Respecto a ello, Ripoll *et al.* (2012) estableció que los consumidores consideran carnes aceptables a aquellas cuyo valor de C^* es superior a 17. Por lo tanto, teniendo en cuenta lo reportado por estos autores, los valores de C^* de los tratamientos C, AB y T del presente trabajo numéricamente se encontrarían dentro de la aceptabilidad del color visual por parte de los consumidores.

Por todo lo expuesto anteriormente, se considera entonces que los extractos AB y M permitieron preservar la luminosidad de la carne durante 7 días. En tanto que, AB, T y M no lograron conservar el índice de rojo de las chuletas de cordero durante el tiempo de almacenamiento estudiado. Sin embargo, tanto los valores de a^* , como del índice C^* registrados en las chuletas con extractos AB y T se encontrarían dentro de la aceptabilidad del color visual de carne por parte de consumidores.

4.2.2. Oxidación lipídica

En la Tabla 3.6 se registran los datos del efecto de la aplicación de los extractos antioxidantes en los valores de oxidación de lípidos de chuletas de cordero almacenadas en condiciones de refrigeración a $\pm 4^{\circ}\text{C}$.

Tabla 6.6: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) y del tiempo de almacenamiento sobre la oxidación de lípidos de chuletas de cordero refrigeradas.

		mg MDA/kg chuletas		
		0d	7d	<i>p</i> - valor Almacenamiento
Tratamientos	C	0,07±0,01 A	0,17±0,03 A	0,0055
	AB	0,04±0,01 B	0,09±0,00 B	0,0002
	T	0,04±0,01 B	0,09±0,02 B	0,0164
	M	0,05±0,01 B	0,13±0,02 A	0,0024
<i>p</i> -valor tratamiento		0,0087	0,0049	

Valores expresados como promedio ± desviación estándar. Medias con letras distintas A-B para el efecto tratamiento son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

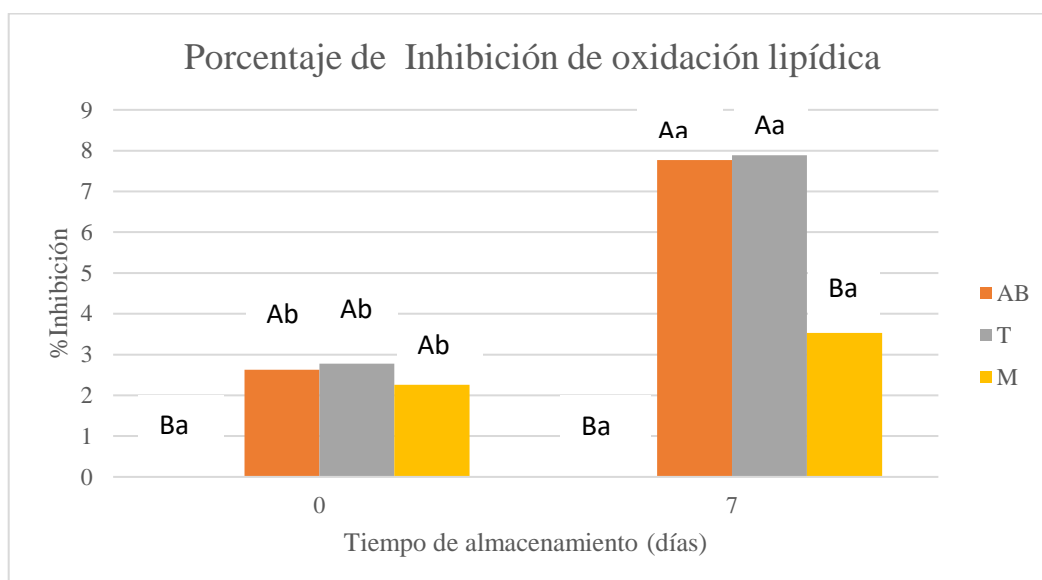


Ilustración 3.7: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) y del tiempo de almacenamiento sobre el porcentaje de Inhibición de la oxidación de lípidos de chuletas de corderos refrigeradas. Medias con letras distintas A-B para el efecto tratamiento y a-b para tiempo de almacenamiento son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

El análisis de los resultados de la Tabla 3.6 muestra que, durante el almacenamiento refrigerado, las diferencias fueron significativas ($p < 0,05$) para todos los tratamientos, lo que era de esperar, puesto que con el tiempo se produce un aumento de los niveles de oxidación. Se destaca que en el día 0, el tratamiento C presentó valores de oxidación significativamente ($p > 0,05$) mayores que los de los tratamientos con

extractos. Por otro lado, a los 7 días se puede apreciar que los niveles de oxidación fueron significativamente ($p < 0,05$) menores en los tratamientos AB y T respecto a C y M.

La Ilustración 3.7 presenta el porcentaje de inhibición ejercido por los extractos naturales en las chuletas de cordero durante el almacenamiento refrigerado en comparación con el tratamiento control. Por otro lado, se puede observar que luego de 7 días de almacenamiento refrigerado, los extractos AB y T alcanzaron un 7,77 y 7,89% de inhibición a la oxidación lipídica respectivamente, mientras que el extracto M sólo inhibió un 3,53%.

De acuerdo a la bibliografía consultada, diversos autores, tales como Krishnan *et al.* (2014); Gadekar *et al.* (2014); Rodriguez Carpena *et al.* (2011); Bellés *et al.* (2017); Baker *et al.* (2013) y Camo *et al.* (2011), demostraron que la adición de extractos naturales con propiedades antioxidantes reduce la oxidación lipídica durante el almacenamiento refrigerado en diversos tipos de carnes. Se considera importante destacar que en todos los tratamientos estudiados los niveles de oxidación no alcanzaron los 2 mg MDA/ kg, valor considerado por Campo *et al.* (2006) como el nivel máximo a partir del cual un producto podría rechazarse debido a que la oxidación lipídica puede ser percibida claramente durante una evaluación sensorial.

4.2.3. Análisis sensorial

La preferencia de los consumidores sobre las chuletas tratadas con extractos AB, T y M respecto a la apariencia visual de las mismas y almacenadas en condiciones de refrigeración durante 7 días se presenta en la Tabla 3.7.

Tabla 3.7: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) en la preferencia de consumidores en chuletas de cordero almacenadas durante 7 días.

		0d	7d
Tratamientos	C	3,31 A	3,62 A
	AB	2,10 B	2,83 B
	T	3,17 A	2,17 C
	M	1,43 C	1,48 D
p- valor tratamientos		<0,0001	<0,0001

Valores expresados como rango medio. Medias con letras distintas (A-D) son significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre tratamientos.

Los resultados expuestos indican que tanto las muestras C como las T tuvieron inicialmente mayor preferencia. Luego de 7 días de almacenamiento refrigerado las chuletas C fueron las que más gustaron; en segundo lugar, se posicionó el tratamiento AB, mientras que las chuletas M fueron las que menos gustaron, probablemente debido a la coloración verdosa en la superficie de la carne, percibida por los evaluadores. Dicha coloración podría deberse a la clorofila precipitada del extracto de M en la superficie de las chuletas. Esta coloración verdosa se corresponde con los valores obtenidos en el parámetro a^* e índice C^* del color, que si bien en ambos casos las diferencias no fueron significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos a los 7 días de almacenamientos, los mismos se hallaron numéricamente por debajo de los límites aceptable de los consumidores. De acuerdo a la bibliografía consultada, Lahmar *et al.* (2018) realizaron un trabajo similar en chuletas de cordero pulverizadas con aceite esencial al 1% de plantas endémicas del norte de Africa: *Pituranthus chloranthus benth & Hook* y *Tencrium ramosissimum Def.*, envasadas en atmósfera modificada y almacenadas durante 12 días a 4°C, simulando las condiciones de almacenamiento similares a las de supermercado. Estos autores realizaron una prueba sensorial mediante un test de intención de compra y de preferencias de consumidores basados en la apariencia visual de las chuletas de cordero, y sugieren que los aceites con propiedades antioxidantes aplicados a la carne de cordero fueron los responsables de la preservación del color y apariencia en general de las chuletas. Contrariamente a lo reportado por dichos autores,

la incorporación de los extractos AB, T y M no influyó en la preservación y apariencia general de las chuletas.

4.3. Resultados destacados

4.3.1. Color instrumental

- La incorporación de los extractos de hojas de AB, T y M preservó la luminosidad de las chuletas de cordero refrigeradas durante 7 días.
- La incorporación de los extractos de hojas de AB, T y M no afectó los tonos rojos y amarillos
- En base a los valores de a^* e índice C^* , las chuletas tratadas con AB y T alcanzaron valores numéricamente aceptables para los consumidores, teniendo en cuenta la bibliografía disponible.

4.3.2. Oxidación de lípidos

Los extractos AB y T inhibieron un 7,7 y 7,8% la oxidación de lípidos después de 7 días de almacenamiento refrigerado.

4.3.3. Análisis sensorial

- Las chuletas C tuvieron mejor aceptación que las chuletas tratadas con extractos al día 0 y 7.
- A los 7 días las chuletas AB se posicionaron en segundo lugar de preferencia de los evaluadores.
- Las chuletas M fueron las de menor preferencia, debido al aspecto verdoso presente en la superficie de las chuletas, probablemente debido a la clorofila precipitada del extracto visible en la superficie de la carne.

5. Ensayo B: Evaluación del comportamiento de antioxidantes naturales procedentes del Chaco Semiárido en hamburguesas de cordero: influencia en la preservación de lípidos y proteínas.

5.1. Materiales y Métodos

5.1.1. Materia prima

5.1.1.1. Material vegetal

Se colectaron hojas de *Prosopis alba* (Algarrobo blanco: AB), *Acacia aroma* (Tusca: T) y *Zizhipus mistol* (Mistol: M) del Campo Anexo Experimental Francisco Cantos perteneciente a la Estación Experimental Agropecuaria de INTA Santiago del Estero (Latitud: 28 ° 1' 21.38 "S; 64 ° 13'49.83 "O) durante los meses de noviembre y diciembre del año 2015.

5.1.1.2. Preparación de extractos naturales

Se prepararon aditivos de las especies vegetales utilizando una mezcla de acetona: agua al 70:30 v/v como solvente de extracción de los compuestos bioactivos, siguiendo la metodología descrita por Ganhão *et al.* (2010-a). La elección de este solvente se realizó teniendo en cuenta la misma consideración mencionada en el ensayo A. De esta manera, una vez obtenidos los extractos (siguiendo la metodología descrita en el capítulo 1 de la presente tesis) se evaporó el solvente utilizando un rotavapor (Laborota 4000- Heidolph, Alemania) a 40°C. La evaporación final se llevó a cabo por medio de una corriente de Nitrógeno, con el fin de eliminar el resto del solvente. Luego, los extractos concentrados se re- disolvieron en agua destilada y se determinó el CFT con el fin de poder ajustar la concentración de los extractos a 400 ppm (mg ácido gálico/L), para ser utilizados como extractos antioxidantes en la preparación de las hamburguesas.

5.1.1.3. Matriz cárnica

Se trabajó con carne de cordero de raza Merino, de 4 meses de edad y 13 kg de PV, obtenida de los cuartos traseros provenientes de un local de la ciudad de Cáceres, Extremadura, España. Con esta carne se elaboraron hamburguesas en la planta de elaboración a escala piloto de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Extremadura. Las hamburguesas se elaboraron a partir de una mezcla base de 1200 g de carne de cordero, 120 mL de extracto o agua destilada (para el tratamiento Control: C) y 26 g de cloruro de sodio. De esta manera se obtuvieron cuatro tratamientos:

- Tratamiento C: consistió en una receta básica solo con carne, agua destilada y cloruro de sodio.
- Tratamiento AB: consistió en una mezcla de carne, extracto AB de 400 ppm y cloruro de sodio.
- Tratamiento T: consistió en una mezcla de carne, extracto T de 400 ppm y cloruro de sodio.
- Tratamiento con M o M: consistió en una mezcla de carne, extracto M de 400 ppm y cloruro de sodio.

Todos los ingredientes se picaron y mezclaron en un cutter hasta la obtención de una pasta homogénea (ver Ilustración 3.8). Las hamburguesas se moldearon utilizando una máquina de moldeo circular (aproximadamente 43 g / hamburguesa) con dimensiones promedio de 6 cm de diámetro y 1 cm de espesor (ver Ilustración 3.9). Se prepararon un total de 36 hamburguesas, para los análisis físico- químicos (4 tratamientos x 3 tiempos de almacenamiento x 3 hamburguesas).



Ilustración 3.8: Incorporación del aditivo a la masa de carne



Ilustración 3.9: Moldeado de las hamburguesas en una máquina de moldeado circular.

5.1.2. Determinaciones realizadas

En la Ilustración 3.10 se esquematiza la distribución de las muestras sometidas a los diferentes tratamientos para su estudio. Las hamburguesas se colocaron en bandejas de plástico envueltas con film de cloruro de polivinilo (PVC), las cuales se almacenaron durante 9 días a 3 ± 1 °C, lo cual se puede visualizar en la Ilustración 3.11. A todas las muestras se les determinó color instrumental, oxidación de lípidos y proteínas a los 0, 6 y 9 días de almacenamiento refrigerado.

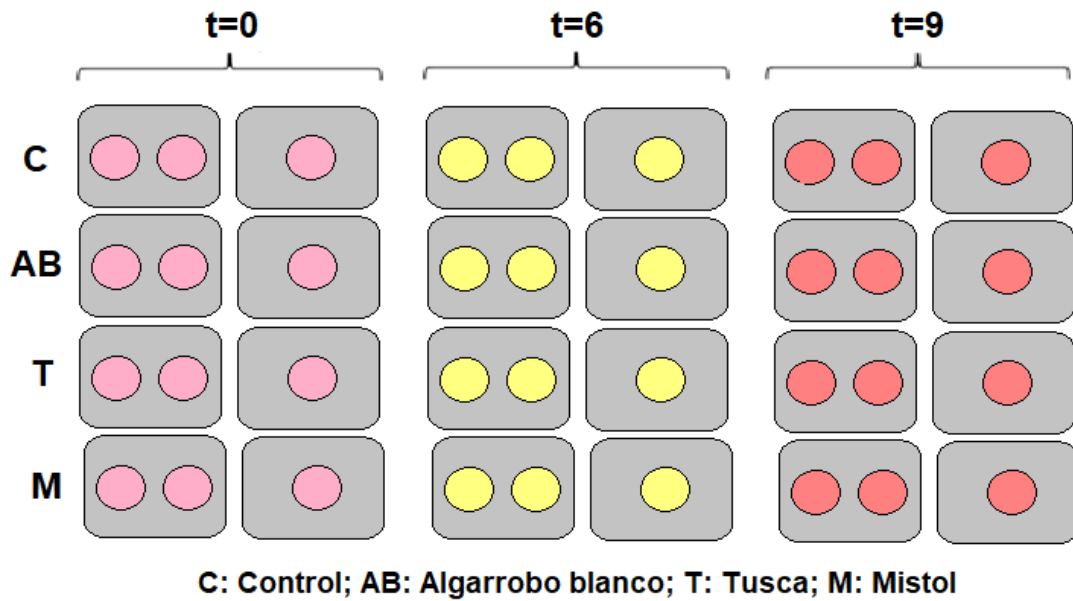


Ilustración 3.120: Distribución de las muestras según los extractos incorporados a la matriz cárnica y tiempos de almacenamiento refrigerado.



Ilustración 3.1311: Hamburguesas dispuestas en bandejas y envueltas en film adherente.

5.1.2.1. Color instrumental

Se realizaron mediciones de color en la superficie de las hamburguesas, siguiendo la metodología de Cando *et al.* (2014), utilizando un colorímetro CR-300 (Minolta Camera Corp. Meter Division, Ramsey, NJ), con cabezal (CR-300) y área de medición de 8 mm de diámetro. Antes de cada medición, se calibró el equipo en el sistema de

espacio de color CIElab utilizando el plato de calibración blanco. El valor del parámetro de color L^* indica luminosidad ($L^* = 0$ negro, $L^* = 100$ blanco); el parámetro de color a^* indica enrojecimiento, índice rojo ($-a^* =$ verde, $+a^* =$ rojo) y el parámetro de color b^* indica amarillo, índice amarillo ($-b^* =$ azul, $+b^* =$ amarillo). Las mediciones se realizaron por triplicado, en tres puntos de la hamburguesa seleccionados al azar, y a temperatura ambiente (aproximadamente 20°C) con iluminante D65 y observador de ángulo de 0 ° a los 0, 6 y 9 días de almacenamiento refrigerado.

5.1.2.2. Oxidación de lípidos

La oxidación de lípidos se cuantificó utilizando el método del ácido tiobarbitúrico o TBARS descrito por Ganhão *et al.* (2011). Se colocó 2,5 g de hamburguesa en un tubo Falcon y se homogeneizaron con 7,5 ml de ácido perclórico (3,86%) y 0,25 ml de butilato de hidroxitolueno (BHT) (4,2% en etanol). Durante la homogeneización los tubos se sumergieron en un baño de hielo para minimizar el desarrollo de reacciones oxidativas durante la extracción del ácido tiobarbitúrico (TBARS). La mezcla se centrifugó (3000 g durante 4 minutos), se filtró y el filtrado se recogió en un matraz volumétrico de 10 ml, se enrazó con ácido perclórico y se centrifugó (4000 g durante 2 minutos). Se mezclaron alícuotas de 2 ml con 2 ml de TBA (0,02 M) en tubos de ensayo y se colocaron en un baño de agua hirviendo (90 ° C) durante 30 minutos conjuntamente a los tubos de la curva estándar. Después de enfriar, se midió la absorbancia a 532 nm. La curva estándar se preparó usando una solución de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) en ácido perclórico al 3,86%. Las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como mg de malondialdehído (MDA) por kg de hamburguesa.

5.1.2.3. Oxidación de proteínas

La oxidación de proteínas medida por el contenido total de carbonilos se evaluó por derivatización por el método del 2,4- dinitrofenilhidrazina o DNPH descrito por Ganhão *et al.* (2010- b). Se tomó 1 g de hamburguesa, se homogeneizó 1:10 (p / v) en buffer fosfato de sodio 20 mM que contenía NaCl 6 M (pH 6,5) usando un homogeneizador Ultraturax durante 30 s. Se tomaron dos alícuotas iguales de 0,2 mL de los homogeneizados y se dispensaron en tubos eppendorf de 2 mL. Las proteínas se precipitaron con ácido tricloro acético (TCA) al 10% (1 mL) y posteriormente se centrifugaron (4200 g durante 5 minutos) obteniéndose un pellet. Una parte del mismo

se trató con 1 mL de HCl 2 M (medición de la concentración de proteína) y otra con un volumen igual de 0,2% (p/v) de DNPH en HCl 2 M (medida de la concentración de carbonilo). Ambas muestras se incubaron durante 1 h a temperatura ambiente. Luego, las muestras se precipitaron con TCA al 10% (1 mL) y se lavaron tres veces con 1 mL de la mezcla etanol: acetato de etilo (1: 1 v / v) para eliminar el exceso de DNPH. Posteriormente los pellets se disolvieron en 1,5 mL de buffer fosfato de sodio 20 mM con guanidina 6 M en HCl (pH 6,5), se agitaron y centrifugaron (4200 g durante 2 minutos) para eliminar los fragmentos insolubles. La concentración de proteína se calculó a partir de la absorción a 280 nm utilizando el estándar de seroalbúmina bovina (BSA) como patrón (concentración de 0,075 a 1 mg / mL de BSA). Las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresan como nmol de carbonilo por mg de proteína utilizando un coeficiente de absorción de 21,0 nM⁻¹ cm⁻¹ a 370 nm para hidrazonas de proteínas.

5.1.2.4. Análisis sensorial

Se llevó a cabo una prueba hedónica de ordenamiento por preferencias con 88 jueces (ISO 11136:2014) no entrenados (consumidores), personal y estudiantes de la Universidad de Extremadura, España, de acuerdo a la metodología propuesta por Sancho *et al.* (1999) a través de sesiones de análisis sensorial en los tiempos de almacenamiento inicial y final: 0 y 9 días. Los jueces eran consumidores habituales de carne de cordero de entre 25 y 60 años de edad. Se evaluaron las hamburguesas de cordero preparadas con extractos de AB, T M y también con las hamburguesas C.

Se utilizaron un total de 32 hamburguesas distribuidas según el esquema que muestra la Ilustración 3.12. Se colocaron dos muestras por bandeja, las que se prepararon por duplicado (ejemplar 1 y ejemplar 2), con el fin de que dos panelistas trabajen en forma simultánea, y para los días: inicial y final del ensayo, es decir, 0 y 9 días de almacenamiento refrigerado.

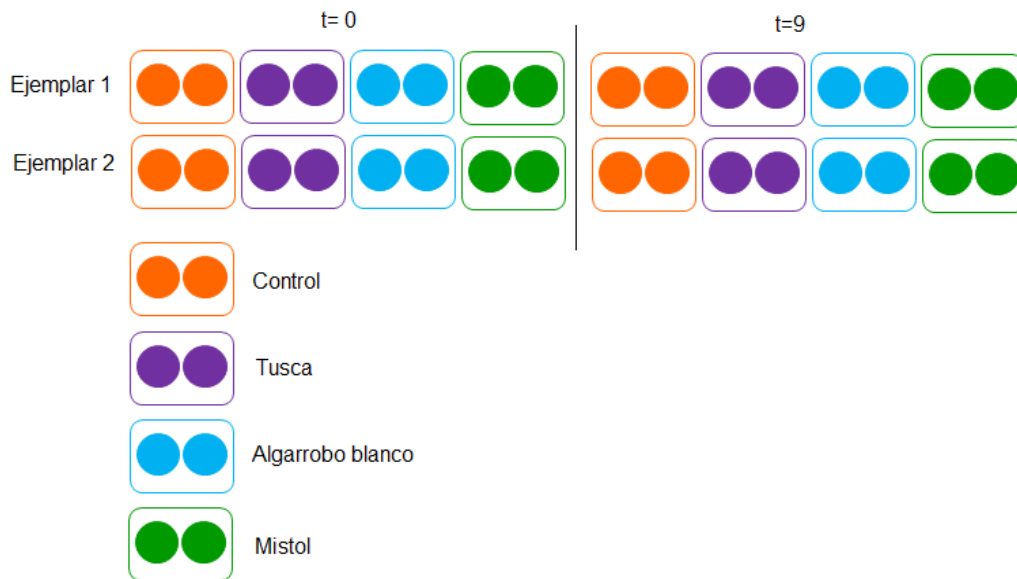


Ilustración 3.12: Distribución de las muestras para análisis sensorial.

En cada sesión, los evaluadores recibieron 4 bandejas con 2 hamburguesas crudas de carne de cordero cubierta con film adherente y codificada al azar con números aleatorios de tres dígitos.

Se les pidió a los jueces que ordenasen las muestras de acuerdo a su preferencia: de la que menos les gustaba a la que más les gustaba, teniendo en cuenta su apariencia visual. El análisis sensorial se realizó en una sala destinada para tal fin (Ilustración 3.13).



Ilustración 3.13: Sala con cabinas para el análisis sensorial.

5.1.3. Análisis estadístico

Para el análisis del color instrumental, oxidación de lípidos y proteínas, se trabajó con un diseño factorial 4 x 3, donde el factor A corresponde a los extractos naturales con cuatro niveles: AB, T, M y C y el factor B al tiempo de almacenamiento con tres niveles: 0, 6 y 9 días. Para ello se utilizó el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + \epsilon_{ij}$$

Se trata de un modelo estadístico incompleto, ya que no se analizaron las interacciones, y donde:

Y_{ij} Observación de las variables respuestas correspondiente al i -ésimo nivel del factor A, y al j -ésimo nivel del factor B.

μ es la media general.

A_i es el efecto fijo debido al i -ésimo nivel de los extractos naturales (i : 1, 2, 3 y 4).

B_j es el efecto fijo debido al j -ésimo nivel del tiempo de almacenamiento (j : 1, 2 y 3).

ϵ_{ij} es el error o residuo del modelo.

La comparación de medias se realizó a través de un análisis de la varianza (ANOVA) utilizando la prueba de Tukey como test a posteriori, con una significancia de $\alpha=0,05$.

Para el análisis sensorial se trabajó con un test de ordenación en función de la preferencia del consumidor: Prueba de Friedman, con una significancia de $\alpha=0,05$, el cual corresponde a un ANOVA no paramétrico

Para el análisis de datos se utilizó el software estadístico InfoStat versión Professional, 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2017).

5.2. Resultados y discusión

5.2.1. Color instrumental

Las determinaciones de color instrumental mediante los parámetros L^* , a^* y b^* de hamburguesas de cordero refrigeradas se presentan en las Tablas 3.8, 3.9 y 3.10.

Tabla 3.8: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro L* del color de hamburguesas de cordero refrigeradas durante 9 días.

		L*			p-valor Almacenamiento
		0d	6d	9d	
Tratamientos	C	47,40±0,78 b	47,65±1,06 b	49,88±1,28 Aa	0,0168
	AB	47,00±1,29	46,69±0,72	46,96±0,56 B	0,8731
	T	48,57±1,52	47,68±1,10	49,05±0,98 A	0,2155
	M	46,65±1,33 b	47,74±0,61 ab	48,95±0,45 Aa	0,0159
p-valor tratamiento		0,2064	0,2658	0,0036	

Valores expresados como media ± desviación estándar. Medias con letras diferentes de A-B para el efecto tratamiento y a-b para el efecto tiempo de maduración son significativamente diferentes para $p < 0,05$.

Tabla 3.9: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro a* del color de hamburguesas de cordero refrigeradas durante 9 días.

		a*			p-valor Almacenamiento
		0d	6d	9d	
Tratamientos	C	17,07±0,74 a	8,58±0,61 b	5,54±0,41 Cc	<0,0001
	AB	17,33±0,83 a	8,79±0,87 b	7,58±0,40 Ab	<0,0001
	T	17,94±0,89 a	8,17±0,32 b	6,23±0,27 BCc	<0,0001
	M	16,95±0,98 a	7,63±0,18 b	6,90±0,79 ABb	<0,0001
p-valor tratamiento		0,4112	0,3382	0,0006	

Valores expresados como media ± desviación estándar. Medias con letras diferentes de A-C para el efecto tratamiento y a-c para el efecto tiempo de almacenamiento son significativamente diferentes para $p < 0,05$.

Tabla 3.10: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro b* del color de hamburguesas de cordero refrigeradas durante 9 días.

		b*			p-valor Almacenamiento
		0d	6d	9d	
Tratamientos	C	9,47±0,46	8,64±0,62	9,45±0,36 A	0,0684
	AB	9,58±0,45 a	7,94±0,46 b	7,57±0,35 Bb	0,0002
	T	10,25±0,79	8,95±0,68	9,47±0,66 A	0,0741
	M	9,71±0,74	8,98±0,30	9,68±0,75 A	0,2349
p-valor tratamiento		0,3454	0,0757	0,0006	

Valores expresados como media ± desviación estándar. Medias con letras diferentes de A-B para el efecto tratamiento y a-b para el efecto tiempo de almacenamiento son significativamente diferentes para $p < 0,05$.

El análisis de los resultados expuestos en la Tabla 3.8 permite observar que durante el tiempo de almacenamiento la luminosidad aumentó para los tratamientos C y M, mientras que AB y T preservaron el valor de L^* en los tres tiempos de almacenamiento estudiados. A los 9 días de almacenamiento, las diferencias fueron significativas ($p < 0,05$) entre AB y los demás tratamientos, siendo AB el de menor luminosidad.

En la Tabla 3.9, en cuanto al valor de a^* , se advierte que los valores disminuyeron con el tiempo de almacenamiento para todos los tratamientos estudiados. Entre tratamientos, se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) para el día 9, en donde AB y M presentaron valores de a^* mayores que el tratamiento C, al igual que AB respecto al tratamiento T.

Finalmente, en la Tabla 3.10 y en relación al estudio del parámetro b^* , durante el almacenamiento se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en las hamburguesas AB disminuyendo el índice de amarillo hacia el día 9, mientras que C y T muestran una tendencia a disminuir el valor de b^* a los 6 días de almacenamiento, para luego aumentar a los 9 días. A su vez, a los 9 días de almacenamiento se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las hamburguesas AB y los demás tratamientos, presentando las hamburguesas AB el menor valor de b^* .

De acuerdo a la literatura consultada, Andrés *et al.* (2017) evaluaron el efecto de diferentes subproductos agroindustriales como extractos de tomate, granada, orujo de oliva y orujo de uva roja en hamburguesas de cordero. Estos autores observaron que el extracto de orujo de uva disminuyó la luminosidad del producto, más que los demás tratamientos. A su vez, tal como se observó en el presente ensayo con los extractos AB y M, estos autores también reportaron una disminución en el valor de a^* en hamburguesas tratadas con extractos de orujo de oliva, logrando preservar más los tonos rojos. Baker *et al.* (2013) también han registrado una disminución de los tonos rojos durante el almacenamiento congelado de hamburguesas de cordero con extractos de romero y rizomas de jengibre en diferentes concentraciones. Sin embargo, observaron que los extractos de romero preservaron los tonos rojos durante más tiempo que los demás aditivos. La reducción de los valores de a^* durante el almacenamiento podría tener una relación entre la oxidación de los lípidos y la oxidación de la Mb (Kim *et al.*, 2013; Aliakbarlu *et al.*, 2015; Baker *et al.*, 2013). Relacionado a esto, la pérdida de los tonos rojos se debe a la oxidación de la Mb a MetMb, es decir que a medida que aumenta el porcentaje de MetMb los valores de a^* disminuyen (Baker *et al.*, 2013; Hernández

Salueña *et al.*, 2019). Por su parte, Andrés *et al.* (2017) destacaron que las propiedades antioxidantes de los extractos naturales ejercen un efecto preservante de los tonos rojos de la carne, disminuyendo así la decoloración de la misma. Esto demostraría las propiedades antioxidantes de los extractos indicada en el Capítulo 1 del presente trabajo de tesis, principalmente los extractos de AB.

Por todo lo expuesto anteriormente, se considera entonces que la adición de los extractos naturales a las hamburguesas de carne de cordero no afectó la luminosidad luego de 9 días de almacenamiento refrigerado, mientras que los extractos AB y M preservaron más los tonos rojos a partir del día 6. Finalmente, el extracto AB presentó menores valores de los tonos amarillos a los 9 días de almacenamiento.

5.2.2. Oxidación de lípidos

El efecto de los extractos AB, T y M en la oxidación lipídica de hamburguesas de cordero durante el almacenamiento refrigerado se presenta en la Tabla 3.11.

Tabla 3.117: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) y del tiempo de almacenamiento en la oxidación de lípidos de hamburguesas de cordero refrigeradas durante 9 días.

		mg MDA/kg hamburguesa			
		0d	6d	9d	<i>p</i> -valor Almacenamiento
Tratamientos	C	0,36±0,07 Ac	0,76±0,03 Ab	0,94±0,07 Aa	<0,0001
	AB	0,17±0,03 Bb	0,22±0,04 Cab	0,25±0,02 Ca	0,0448
	T	0,22±0,03 Bb	0,41±0,06 Ba	0,50±0,02 Ba	0,0003
	M	0,16±0,01 Bc	0,39±0,02 Bb	0,49±0,03 Ba	<0,0001
<i>p</i> -valor Tratamiento		0,0008	<0,0001	<0,0001	

Valores expresados como media ± desviación estándar. Medias con letras diferentes de A-C para el efecto tratamiento y a-c para el efecto tiempo de almacenamiento son significativamente diferentes para $p < 0,05$

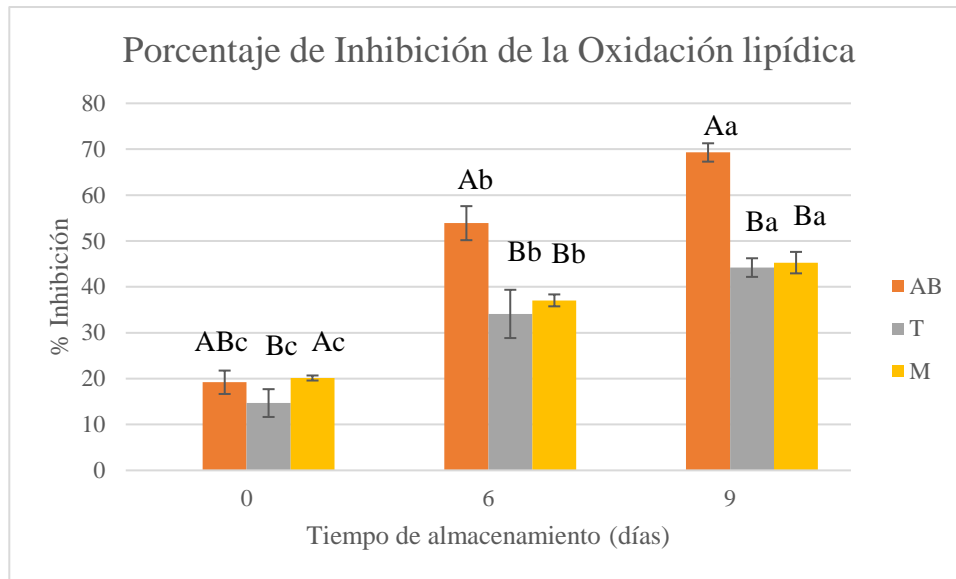


Ilustración 3.14: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) y del tiempo de almacenamiento en el porcentaje de inhibición a la oxidación de lípidos de hamburguesas de cordero refrigeradas. Valores expresados como media del porcentaje de inhibición con respecto al control. Medias con letras distintas (A-C) para el efecto tratamiento y a-c para el efecto tiempo de almacenamiento son significativamente diferentes para $p < 0,05$.

El análisis de los resultados expuestos en la Tabla 3.11 revela que durante el almacenamiento refrigerado las diferencias en la oxidación de lípidos fueron significativas ($p < 0,05$) en todos los tratamientos, lo que era de esperar, ya que los niveles de oxidación en una matriz cárnica aumentan con el tiempo de almacenamiento. Se destaca que desde el día 0 los niveles de oxidación fueron significativamente ($p > 0,05$) superiores para C en comparación con los tratamientos con extractos. A los 9 días, las hamburguesas C alcanzaron valores próximos a 1 mg MDA/ kg, los cuales resultaron ser significativamente ($p < 0,05$) elevados en comparación con los demás tratamientos. También resulta importante destacar que las hamburguesas con extracto AB mantuvieron los menores niveles de oxidación durante el almacenamiento (tanto a los 6 como a los 9 días). Este comportamiento también se puede observar en la Ilustración 3.14, donde se muestra claramente el porcentaje de inhibición ejercido por los extractos naturales frente a la oxidación de lípidos con respecto al tratamiento C. El extracto AB produce una inhibición de aproximadamente el 45% el día 6 y del 70% el

día 9, mientras que los extractos T y M producen inhibiciones próximas al 37% y 45% en los días 6 y 9 de almacenamiento, respectivamente.

De acuerdo con la literatura consultada, Andrés *et al.* (2017) han evaluado el efecto de la adición de aditivos naturales tales como extractos de orujo de oliva, orujo de uva roja, granada y tomate, y observaron que los extractos de uva roja y oliva fueron los que mantuvieron los niveles de oxidación bajos, con respecto a un tratamiento control, después de 7 días de almacenamiento refrigerado: extracto de orujo de oliva: 1,37 mg MDA/kg; extracto de orujo de uva roja: 1,28 mg MDA/ kg y Control: 2,88 mg MDA/ kg. Si se comparan los resultados obtenidos por estos autores con los del presente trabajo, los extractos de AB fueron más efectivos incluso luego de 9 días de almacenamiento ya que los valores no alcanzaron los 1 mg MDA/ kg. Villalobos Delgado *et al.* (2015) han registrado el mismo efecto en hamburguesas de cordero tratadas con lúpulo en polvo e infusión, en donde las hamburguesas con estos aditivos siempre mantuvieron niveles más bajos de oxidación con respecto al control después de 7 días de almacenamiento refrigerado: las hamburguesas con lúpulo en polvo presentaron 4,5 mg MDA/ kg; las de infusión de lúpulo 6,5 mg MDA/ kg y las de control 9,5 mg MDA/ kg. Si bien estos autores han logrado mejores resultados con los extractos naturales, en comparación a los logrados con el tratamiento control, los valores de oxidación reportados fueron superiores a los hallados en el presente ensayo con los tres extractos de hojas estudiados (AB, T y M). De acuerdo a lo informado por Campo *et al.* (2006), los niveles de oxidación aceptables por los consumidores dependerán de las percepciones y umbrales personales, los cuales se pueden generar a partir de la experiencia previa. Los umbrales indican el punto desde el cual los consumidores pueden percibir estos estímulos, pero no necesariamente a partir de este estímulo se produce el rechazo del producto. Estos autores han establecido que el nivel máximo de oxidación de 2 mg MDA/ kg, a partir del cual un producto será rechazado por el consumidor, ya que en estos niveles de oxidación se alcanzaría una fuerte percepción sensorial de oxidación lipídica y consecuentemente el rechazo del producto. Se han encontrado diversos trabajos en donde se reporta la influencia de extractos naturales ricos en compuestos antioxidantes en la disminución de los niveles de oxidación en hamburguesas de cerdo (Akcan *et al.*, 2017; Rodríguez Carpena *et al.*, 2011 y 2012), carne aviar (Krishman *et al.*, 2014), carne bovina (Kim *et al.*, 2013), y carne caprina molida (Devatkal y Naveena 2010). De esta manera, la disminución de los niveles de oxidación lipídica obtenida en el presente ensayo y ejercida por los extractos naturales

demuestra el efecto antioxidante reportado en los extractos AB, T y M en el Capítulo 1 del presente trabajo de tesis.

5.2.3. Oxidación de proteínas

La Tabla 3.12 muestra el efecto de los diferentes extractos durante el almacenamiento refrigerado de las hamburguesas de cordero en la oxidación de proteínas.

Tabla 3.12: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) y del tiempo de almacenamiento sobre la oxidación de proteínas de hamburguesas de cordero refrigeradas durante 9 días.

		mg carbonilos/mg proteínas			
		0d	6d	9d	<i>p</i> -valor Almacenamiento
Tratamientos	C	4,58±0,64 Bb	8,56±0,81 Aa	9,20±1,3 a	0,0021
	AB	8,93±1,95 Aa	4,79±0,25 Bb	9,41±1,35 a	0,0117
	T	4,74±0,84 Bc	7,82±0,88 Ab	11,49±1,45 a	0,0015
	M	7,46±0,87 Aba	4,90±0,26 Bb	7,93±1,29 a	0,0133
<i>p</i> - valor Trat.		0,005	0,0001	0,1115	

Valores expresados como media ± desviación estándar. Medias con letras diferentes de A-C para el efecto tratamiento y a-c para el efecto tiempo de almacenamiento son significativamente diferentes para $p < 0,05$

El análisis de la Tabla 3.12 permite observar que las diferencias de oxidación de las proteínas fueron significativas ($p < 0,05$) para todos los tratamientos durante el tiempo de almacenamiento, en donde las hamburguesas C y T mostraron un aumento de la oxidación de proteínas con el tiempo. Si bien, los niveles de oxidación de proteínas para AB y M fueron inicialmente altos, se destaca que estos extractos redujeron significativamente dichos niveles hasta los 6 días de almacenamiento. Finalmente, a los 9 días las diferencias no fueron significativas ($p = 0,1115$) entre tratamientos.

De acuerdo a la literatura consultada, Rodríguez Carpena *et al.* (2012) han estudiado la adición de extractos naturales de aguacate, girasol y aceite de oliva en hamburguesas de cerdo, demostrando que la adición de aceite de oliva reduce la intensidad de la oxidación de proteínas en las hamburguesas. Rodríguez Carpena *et al.* (2011), han evaluado la incorporación de extractos de aguacate en hamburguesas de cerdo y establecieron que la adición de estos extractos mejora sus propiedades

nutricionales y sensoriales a través de la inhibición efectiva de la oxidación proteica. Andrés *et al.* (2017) han evaluado el efecto de adicionar extractos naturales provenientes de granada, tomate, orujo de oliva y orujo de uva roja en hamburguesas de cordero, sobre la oxidación de proteínas (mediante la determinación de tioles libres). En los tratamientos con extractos de orujo de oliva y uva roja dicho proceso se produjo con menor intensidad luego de 3 y 7 días de almacenamiento respectivamente; mientras que los resultados obtenidos con extractos de tomate y granada no fueron consistentes, debido a que durante el almacenamiento refrigerado la oxidación fue menor que el control después de 3 días de almacenamiento, pero mayor luego de 7 días. Este efecto resultó ser similar al obtenido en el presente trabajo, en donde a los 6 días de almacenamiento la oxidación de proteínas fue significativamente menor ($p < 0,05$) en hamburguesas con extractos AB y M respecto a C, mientras que a los 9 días las diferencias no fueron significativas ($p > 0,05$). De esta manera, se podría decir que la incorporación de los extractos AB y M redujeron la oxidación de proteínas hasta los 6 días de almacenamiento refrigerado, y a partir de este momento estos antioxidantes naturales pierden su efecto beneficioso. Con respecto a ello, Cando *et al.* (2014), estudiaron hamburguesas de carne crudas y cocidas y refrigeradas durante 11 días e indicaron que la aplicación de las tecnologías de procesamiento como refrigeración y cocción produce aumentos sucesivos de carbonilos proteicos en mayor concentración con respecto al producto crudo, lo que se traduce en una mayor oxidación de las proteínas. Estos autores muestran que los aminoácidos de naturaleza más básica como la lisina, arginina y prolina de las proteínas cárnicas se oxidan en mayor grado durante el procesamiento de las hamburguesas. Con respecto a la adición de antioxidantes como conservantes contra el deterioro de estos productos; los mismos autores indicaron que estos aditivos pueden producir un efecto pro-oxidante sobre la oxidación de proteínas, y también concluyen que el efecto de extractos naturales ricos en compuestos fenólicos puede depender no solo de su polaridad y distribución sino también de los mecanismos específicos detrás de la interacción de estos compuestos bioactivos con lípidos y proteínas. De esta manera, la interacción entre antioxidantes y proteínas cárnicas no está claramente definido, por lo que se considera necesario continuar y profundizar estos estudios.

5.2.4. Análisis sensorial

La preferencia de los consumidores de hamburguesas C y las tratadas con extractos AB, T y M en base a la apariencia visual de las mismas y almacenadas en condiciones de refrigeración durante 9 días se muestran en la Tabla 3.13.

Tabla 3.13: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M) en la preferencia de consumidores sobre hamburguesas de cordero almacenadas durante 9 días.

		0d	9d
Tratamientos	C	3,14 A	1,27 D
	AB	2,41 C	3,75 A
	T	2,57 BC	2,39 C
	M	1,89 D	2,59 BC
p- valor Tratamiento		0,0001	<0,0001

Valores expresados como rango medio. Medias con letras distintas (A-D) son significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre tratamientos.

Al analizar los resultados se observa que en el día 0, las hamburguesas de mayor preferencia para los panelistas fueron las C, mientras que no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos AB y T, y a su vez las de menor preferencia fueron las que contenían el extracto M. Con respecto a ello los evaluadores mencionaron que las hamburguesas con extracto M presentaban una coloración verdosa indeseable, probablemente debido a la notable clorofila precipitada en la superficie de las hamburguesas (característica que también fue mencionada durante la evaluación sensorial del Ensayo A en chuletas de cordero presentado anteriormente). En lo que respecta al día 9, las hamburguesas con mayor preferencia fueron las procedentes del tratamiento AB. No se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos T y M, y las de menor preferencia fueron las hamburguesas C. De esta manera se podría decir que, en base al análisis sensorial realizado, la percepción visual de los consumidores indicó que los extractos generaron un efecto positivo en las hamburguesas de cordero. La mayor preferencia de las hamburguesas con extracto AB resultó ser consistente con la preservación de los tonos rojos a partir del sexto día de

almacenamiento y la mayor inhibición lipídica ejercida por el extracto AB como ya se indicó previamente. Similar resultado reportó Rodríguez Gonzalez (2019) quien evaluó el efecto de extractos de *Hibiscus* al 1 % y *Adansonia* o baobab al 2,5%, contrastándolo con un aditivo sintético: metabisulfito sódico al 0,03% y un control: sin aditivos en hamburguesas de carne bovina, a través de una prueba de aceptabilidad (donde tuvieron en cuenta la aceptabilidad, el aspecto y el flavor de los productos). Este autor también demostró que las hamburguesas con extracto de *Hibiscus* y con aditivo sintético tuvieron buena aceptabilidad durante los 10 días que fueron almacenadas. Aliakbarlu *et al.* (2015) evaluaron sensorialmente carne de oveja molida con extractos de aceites esenciales del árbol del clavo o clavero (*Syzygium Aromaticum*) al 0,25% y de Avishane shirazi (*Zataria Multiflora*) al 0,25% almacenado durante 9 días en condiciones de refrigeración. Para ello trabajaron con jueces semientrenados (estudiantes y miembros del staff del departamento de Higiene de alimentos y control de calidad de la Facultad de Medicina de la Universidad de Urmea, Suecia). Emplearon una escala hedónica de 9 puntos en donde 1 era no aceptable, 9 muy aceptable y 5 en el límite de aceptabilidad. Evaluaron el color, olor y aceptabilidad global de los atributos. Estos autores demostraron que el extracto de clavo conservó mejor el color, obteniendo una mayor aceptabilidad e incluso una aceptabilidad global con mayor puntuación que los demás tratamientos. Similares resultados fueron alcanzados en el presente ensayo con las hamburguesas AB. Lahmar *et al.* (2018) realizaron un trabajo similar en chuletas de cordero pulverizadas con aceite esencial al 1% de plantas endémicas del norte de Africa: *Pituranthos chloranthus benth & Hook* y *Tencriumramosissimum Def.*, envasadas en atmósfera modificada y almacenadas durante 12 días a 4°C simulando las condiciones de almacenamiento anaquel. Estos autores realizaron una prueba sensorial mediante un test de intención de compra y de preferencias de consumidores basados en la apariencia visual de las chuletas de cordero. Los resultados expuestos por estos autores sugieren que los aceites con propiedades antioxidantes aplicados a la carne de cordero fueron los responsables de la preservación del color y apariencia en general de las chuletas, similar a lo hallado en el presente trabajo en las hamburguesas con extractos AB, T y M.

5.3. Resultados destacados

5.3.1. Color instrumental

- La incorporación de los extractos naturales AB y T preservó la luminosidad durante el almacenamiento refrigerado. Los valores de L^* de los tratamientos C y M aumentaron con el tiempo. Por otro lado, a los 9 días de almacenamiento refrigerado las hamburguesas con menor luminosidad fueron las que contenían extracto AB.

- Todos los tratamientos disminuyeron los tonos rojos con el tiempo de almacenamiento, sin embargo, AB y M presentaron valores de a^* más altos en el día 9 de almacenamiento.

- M preservó los tonos amarillos durante el almacenamiento refrigerado, sin embargo, AB tuvo valores más bajos de b^* a los 9 días.

5.3.2. Oxidación de lípidos

Se observó el efecto antioxidante de los extractos frente a la oxidación de lípidos en las hamburguesas de cordero refrigeradas, ya que los mismos lograron reducir los niveles de oxidación a valores muy inferiores a 1 mg MDA/ kg de hamburguesa, siendo el extracto AB el que mejor efecto antioxidante presentó.

5.3.3. Oxidación de proteínas

Los extractos AB y M minimizaron los niveles de oxidación hasta los 6 días de almacenamiento.

5.3.4. Análisis sensorial

Las hamburguesas tratadas con extracto AB fueron las que lograron mayor preferencia por los consumidores después de 9 días de almacenamiento.

6. Ensayo C: Aplicación de extractos naturales en filetes de cabritos procedentes de dos sistemas productivos.

6.1. Materiales y métodos

6.1.1. Materia prima

6.1.1.1. Material vegetal

Se colectaron hojas de *Prosopis alba* (Algarrobo blanco: AB) y *Acacia aroma* (Tusca: T) del Campo Anexo Experimental Francisco Cantos perteneciente a la Estación Experimental Agropecuaria de INTA Santiago del Estero (Latitud: 28 ° 1' 21.38 "S; 64 ° 13'49.83 "O) durante los meses de noviembre y diciembre del año 2017.

6.1.1.2. Selección de extractos naturales

En base a resultados obtenidos en los ensayos anteriores se seleccionaron los extractos a utilizar teniendo en cuenta:

- Las características evaluadas de las especies vegetales en el Capítulo 1, respecto a la CA y CFT y la conveniencia de utilizar la mezcla acetona: agua al 70: 30 v/v como solvente de extracción, debido a que se puede eliminar correctamente la acetona por evaporación a 40°C, temperatura que permite se preserven las propiedades bioactivas de los compuestos.

- A partir de pruebas realizadas en chuletas (ensayo A) y hamburguesas de corderos (ensayo B) descritas en el presente Capítulo se observó que la utilización de extractos de M con acetona: agua al 70: 30 v/v dejaban partículas verdes (clorofila precipitada) en la superficie dando un mal aspecto al producto.

En base a los puntos precedentemente mencionados se decidió trabajar con extractos de acetona: agua al 70:30 v/v de las especies vegetales AB y T.

6.1.1.3. Preparación de los extractos naturales

El día previo a la aplicación de los extractos se procedió a la elaboración de los mismos, mediante la extracción de los compuestos bioactivos de hojas de AB y T empleando una mezcla de acetona: agua al 70:30 v/v como solvente de extracción. La metodología de extracción corresponde a la metodología descrita por Ganhão *et al.* (2010- a) y detallada en el Capítulo 1 del presente trabajo de Tesis. Posteriormente se evaporó el solvente utilizando evaporador rotativo (R-100, Büchi, México) a la temperatura de evaporación de la acetona (40°C). La evaporación final se realizó mediante una corriente de nitrógeno. Luego se determinó el CFT para ajustar la concentración de los extractos a 2500 ppm (mg Ac. Gálico/ L) disolviendo éstos con agua destilada estéril a 1 atmósfera de presión.

6.1.1.4. Matriz cárnica

Se trabajó con muestras de carne caprina obtenidas en el ensayo desarrollado en el capítulo 2 del presente trabajo de tesis. Se obtuvieron filetes de paletas y cuartos de 12 canales de cabrito (6 procedentes del sistema silvopastoril y 6 de los animales alimentados a corral).



Ilustración 3.15: Cortes realizados en paletas y cuartos para obtener los filetes correspondientes.

48 h *post mortem* se obtuvieron de cada canal 12 filetes de 1,5 cm de espesor: 6 procedentes de las paletas y 6 de los cuartos de cabritos, realizando cortes como los indicados en la Ilustración 3.15. Todo el proceso de obtención de filetes se realizó en condiciones asépticas, en una sala completamente sanitizada con desinfectante de grado alimentario, y empleando utensilios previamente higienizados con alcohol: agua al 70: 30 v/v.



Ilustración 3.1614: Filetes de cabritos obtenidos de paletas y cuartos.

6.1.1.5. Aplicación de los extractos naturales a los filetes

El ensayo consistió en 3 tratamientos que se detallan a continuación:

- Tratamiento control o C: mediante el empleo de agua destilada esterilizada a 1 atm de presión
- Tratamiento AB: mediante el empleo del extracto AB.
- Tratamiento T: mediante el empleo del extracto T.

Todos los extractos fueron aplicados en cantidades idénticas por pulverización siguiendo la metodología propuesta por Lahmar *et al.* (2018), en donde sobre papel aluminio se colocaron los filetes seleccionados al azar y se pulverizaron con el correspondiente extracto o agua destilada como se indica en la Ilustración 3.17. Cada filete se pulverizó con un volumen de 0,57 mL/filete de extracto o agua. Posteriormente se colocaron en bandejas de polipropileno, envueltas en film adherente. Luego se almacenaron en condiciones de refrigeración ($4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) durante 10 días. Teniendo en cuenta que los filetes se obtuvieron 48 h *post mortem*, los tiempos de almacenamiento que se establecieron para las diferentes determinaciones fueron: 2, 7 y 12 días *post mortem* que se corresponden con los 0, 5 y 10 días de aplicación de los extractos (para la presentación de tablas y resultados consignaron los días 0, 5 y 10 post aplicación de los extractos).



Ilustración 3.17: Aplicación de aditivos en superficie de filetes de cabrito.

6.1.2. Determinaciones realizadas

En la Ilustración 3.18 se esquematiza la distribución de las muestras según el tratamiento nutricional, el tratamiento según extracto pulverizado, los diferentes tiempos de almacenamiento (0, 5 y 10 días) y las determinaciones realizadas.

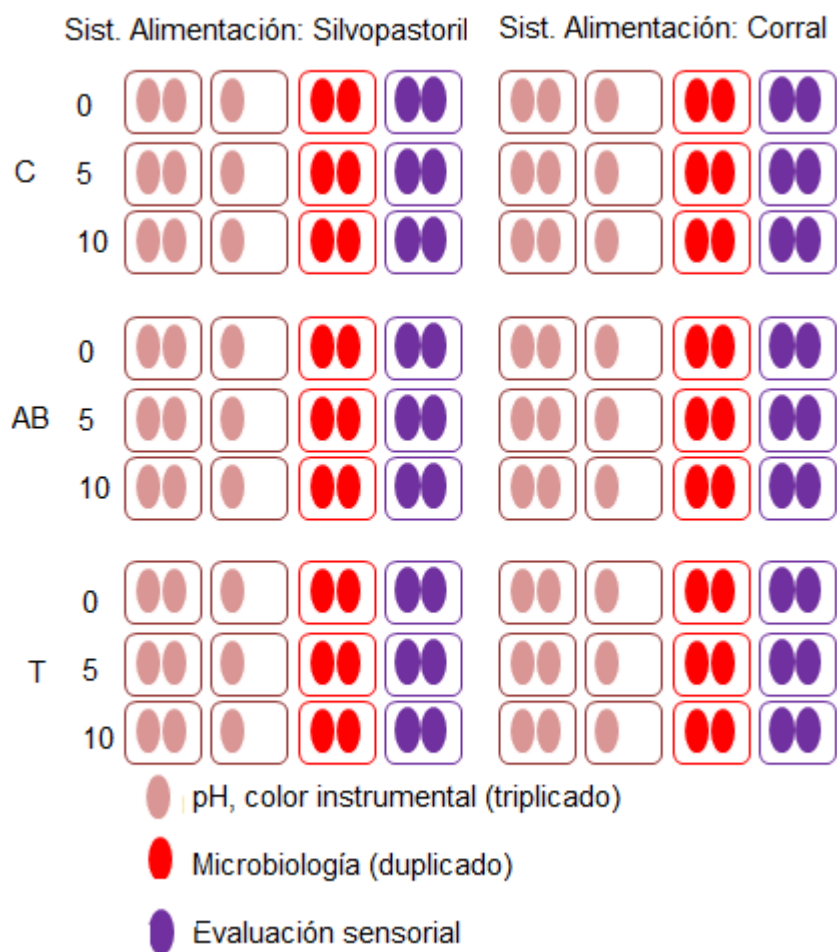


Ilustración 3.18: Esquema de preparación de muestras según la aplicación de los extractos: Control (C), Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y Mistol (M), tiempos de almacenamiento: 0, 5 y 10 días y determinaciones realizadas.

6.1.2.1. pH

Se determinó el pH de los filetes en cada tiempo de maduración: 0, 5 y 10 días de almacenamiento refrigerado, utilizando un pH- metro portátil con electrodo de penetración (Hanna HI 99163N, electrodo FC232D, Argentina). Las mediciones se realizaron por duplicado y los valores registrados corresponden al promedio de dichas mediciones (Garrido *et al.*, 2005).

6.1.2.2. Color instrumental

Se determinó el color instrumental de los filetes antes de aplicar los aditivos, con el fin de determinar si la aplicación de los mismos influye en el color de la carne, siguiendo la metodología descrita por Cando *et al.* (2014). Una vez aplicado el extracto

las muestras fueron refrigeradas a $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante aproximadamente 2 h, para estabilizar el color de las mismas. Posteriormente se mantuvieron a temperatura ambiente (aproximadamente 20°C) durante 20 minutos. Luego se midió el color en la superficie de la carne por duplicado, resultando cada medición del promedio de 3 mediciones realizadas por el equipo. Se utilizó un colorímetro Minolta CR- 400 (Konika Minolta, Ramsey, NJ) con un área de medición de 8 mm de diámetro, iluminante C, ángulo de observación de 0° y procesador de datos DP- 400. El equipo se calibró en el sistema de espacio de color CIELab utilizando un plato de calibración blanco. Donde el valor L^* indica luminosidad ($L^*= 0$ oscuridad, $L^*= 100$ luminosidad), el valor a^* indica tonos rojos, índice rojo ($-a^*=$ verde, $+a^*=$ rojo), y el valor b^* indica tonos amarillos, índice amarillo ($-b^*=$ azul, $+b^*=$ amarillo).

6.1.2.3. Análisis microbiológico

La toma de muestras se realizó en forma representativa y en condiciones asépticas en un laboratorio adaptado para microbiología dotado de una cámara de siembra con luz UV como se muestra en la Ilustración 3.19. Antes de realizar cada análisis, se higienizó la superficie de trabajo, primero con una solución de hipoclorito de sodio al 1% y luego con alcohol: agua al 70:30 v/v, y para lograr y mantener la esterilidad se utilizó un mechero tipo Bunsen.

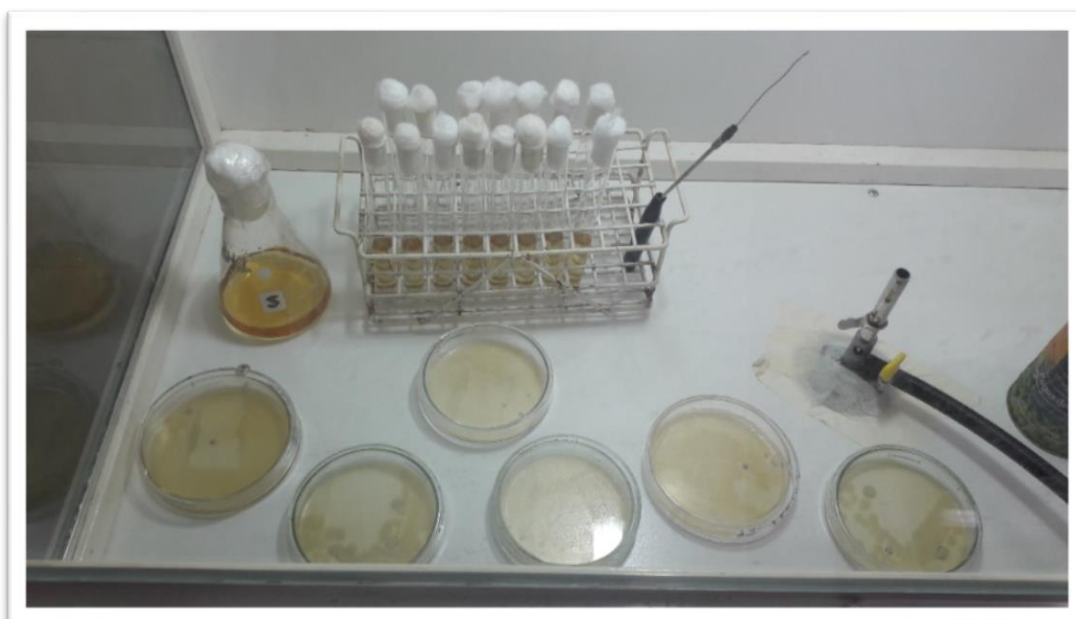


Ilustración 3.19: Cámara de siembra

Las muestras fueron procesadas empleando una picadora de carne Moulinex. Para cada muestra se preparó un homogenato utilizando 25 gramos de carne picada en 225 mL de solución salina (NaCl) al 0,85% p/v. A partir del homogenato se prepararon las diluciones correspondientes mediante el empleo de 9 mL de solución salina, (siendo el homogenato dilución 10^{-1}), como se muestra en la Ilustración 3.20 (FDA, 1992; ICMSF, 1983).

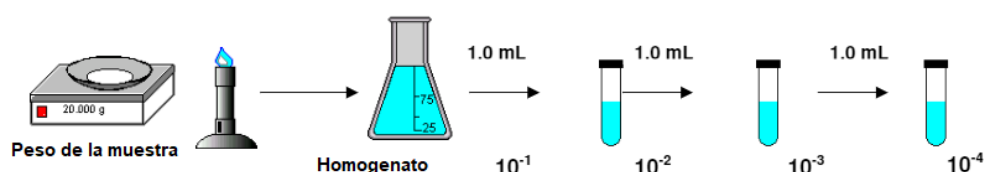


Ilustración 3.20: Preparación de las diluciones a partir del homogenato. Fuente: Camacho *et al.* (2009).

Se realizaron las siguientes determinaciones microbiológicas:

- **Recuento de bacterias aerobias mesófilas (MAMT) mediante la metodología ICMSF (1983).** Los resultados se expresaron en log UFC/g.
- **Recuento de hongos y levaduras mediante la metodología ICMSF (1983).** Los resultados se expresaron en log UFC/g.
- **Recuento de enterobacterias mediante la metodología ICMSF (1983).** Colonias de color púrpura. Los resultados se expresaron en log UFC/g.
- **Recuento de *Staphilococcus aureus* mediante la metodología ICMSF (1983).** Los resultados se expresaron como *Staphilococcus spp.* en log UFC/g. Colonias circulares, lisas, convexas, negras, rodeadas de una zona traslúcida y un anillo opalescente en contacto con las colonias.

Las determinaciones microbiológicas se realizaron por duplicado, como se indica en la Ilustración 3.18.

6.1.2.4. Análisis sensorial:

Se trabajó con una prueba hedónica de ordenación por preferencia con 74 jueces no entrenados o consumidores (ISO11136:204), profesionales y estudiantes de la Facultad de Agronomía, técnicos del INTA Santiago del Estero, familiarizados con el

consumo de carne caprina, de entre 25 y 60 años de edad, siguiendo la metodología propuesta por Sancho *et al.* (1999). Se realizó una sesión de análisis sensorial por cada tiempo de almacenamiento refrigerado: 0, 5 y 10 días. En cada sesión los evaluadores recibieron un total de seis muestras correspondientes a cada tratamiento: corral con extractos AB, T y C, y silvopastoril con extractos AB, T y C. Las muestras fueron codificadas al azar con números aleatorios de tres dígitos, colocadas en bandejas y cubiertas con film adherente. En cada bandeja se presentó un filete. Las mismas se entregaron a los jueces, a quienes se les facilitó una planilla de cata y se solicitó ordenaran las muestras de acuerdo a su preferencia de la que menos les gustaba a la que más les gustaba (Ilustración 3.21).

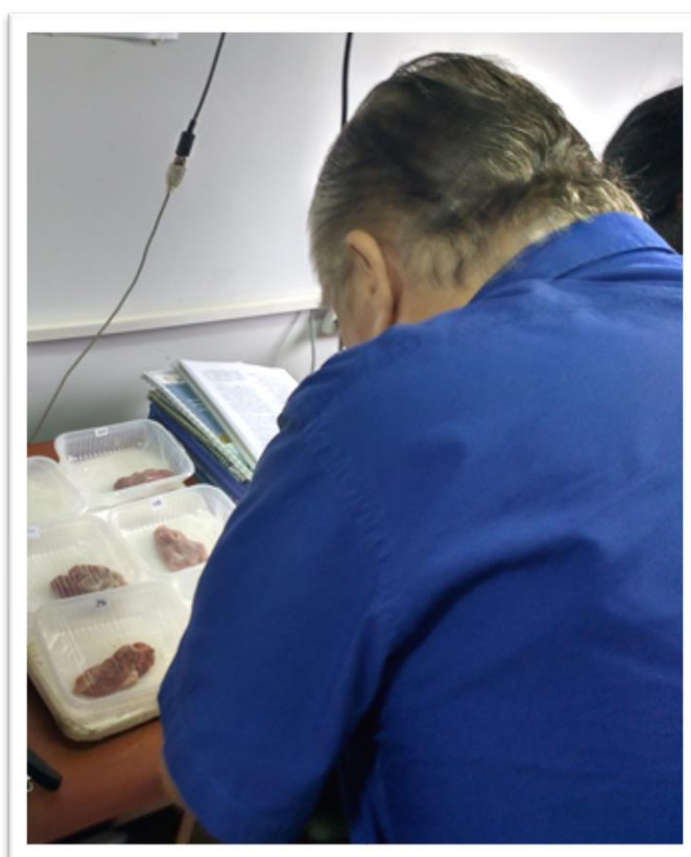


Ilustración 3.21: Análisis sensorial realizado por un juez no entrenado.

6.1.3. Análisis estadístico

Se trabajó con un diseño factorial $3 \times 2 \times 3$, donde el factor A corresponde a los extractos naturales con tres niveles: C, AB y T; el factor B a la alimentación con dos niveles: silvopastoril y corral, y el factor C al tiempo de almacenamiento con tres niveles: 0, 5 y 10 días. Para ello se utilizó el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + C_k + \varepsilon_{ijk}$$

Se trata de un diseño factorial incompleto, ya que no se analizaron las interacciones, y donde:

Y_{ij} : Observación de las variables respuestas correspondiente al i -ésimo nivel del factor A, al j -ésimo nivel del factor B y al k -ésimo nivel del factor C para las determinaciones del color instrumental, pH, oxidación lipídica, y microbiológicas.

μ es la media general.

A_i es el efecto fijo debido al i -ésimo nivel de los extractos (i : 1, 2 y 3).

B_j es el efecto fijo debido al j -ésimo nivel debido al sistema de alimentación (j : 1 y 2)

C_k es el efecto fijo debido al k -ésimo nivel del tiempo de almacenamiento (m : 1, 2 y 3).

ε_{ijk} es el error o residuo del modelo.

La comparación de medias se realizó a través de un análisis de la varianza (ANOVA). Como test a posteriori se utilizó la prueba de Tukey, considerando una significancia de $\alpha=0,05$.

Para el análisis sensorial se trabajó con un ANOVA no paramétrico, y la prueba de Friedman, considerando una significancia de $\alpha=0,05$.

Para el análisis de datos se utilizó el software estadístico InfoStat versión Professional, 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2017).

6.2. Resultados y discusión

6.2.1. pH

Los resultados del pH de filetes de cabritos obtenidos en el sistema de producción a corral y pulverizados con extractos naturales, almacenados durante 10 días en condiciones de refrigeración se presentan en la Tabla 3.14.

Tabla 3.14: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y del tiempo de almacenamiento sobre el pH de la carne de cabritos procedentes del sistema Corral, almacenada refrigerada durante 10 días.

	pH			<i>p</i> -valor Almacenamiento
	Día 0	Día 5	Día 10	
C	5,83±0,22	6,31±0,11	6,73±0,58	0,0631
AB	5,92±0,12 b	6,42±0,23 a	6,60±0,21 a	0,0131
T	5,76±0,04 b	6,47±0,22 ab	6,60±0,51 a	0,0366
<i>p</i>- valor Tratamiento	0,4277	0,6019	0,9231	

Valores expresados como promedio \pm desviación estándar. Medias con letras distintas a-b para el efecto tiempo de almacenamiento son significativamente diferentes para $p < 0,05$.

De acuerdo a los resultados obtenidos se observa un aumento significativo ($p < 0,05$) del pH durante el almacenamiento para todos los tratamientos. No existen diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos para cada tiempo de almacenamiento. Al inicio del almacenamiento los valores registrados en filetes procedentes de corral fueron inferiores a 6, lo cual coincide con los valores obtenidos en el *L. dorsi* del ensayo reportado en el Capítulo 2. De acuerdo a la literatura consultada, Sabow *et al.* (2016) han estudiado el almacenamiento refrigerado del *L. lumbrorum* de caprinos Boer de 7 meses de edad, e informaron valores de pH 24 h *post mortem* de 6,33 y evaluaron el comportamiento durante 14 días, tiempo en el cual no observaron cambios significativos en el pH con el tiempo, tal y como ocurre con los filetes control evaluados en el presente estudio.

En lo que respecta al pH de los filetes procedentes del silvopastoril, los mismos no se detallan en el presente informe debido a que al momento de realizar las mediciones el pH- metro presentó inconvenientes en su normal funcionamiento. En repetidas oportunidades se calibró el equipo y midió nuevamente, continuando con la problemática; por lo que se decidió continuar con las determinaciones programadas. Para los días subsiguientes de análisis se trabajó con otro pH-metro. Se destaca que las determinaciones de pH en filetes procedentes de corral se realizaron en primer lugar, previo a la problemática del equipo.

6.2.2. Color instrumental

El efecto de la adición de los extractos naturales en filetes de cabrito sobre los parámetros de color L^* , a^* y b^* , tanto para muestras procedentes de corral como para las procedentes de silvopastoril se presentan en las Tablas 3.15, 3.16 y 3.17. La determinación del color fue realizada previa a la aplicación de extractos o $0_{\text{pre-extracto}}$, luego de la aplicación de los mismos o $0_{\text{post-extracto}}$, así como también en los 5 y 10 días de almacenamiento refrigerado.

Tabla 3.15: Efecto de la aplicación de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro L* de color de filetes de cabrito procedentes del sistema de alimentación a corral y silvopastoril, almacenados refrigerados.

		L*				
		Pre- aplicación	0d	5d	10d	p- valor Almacenamiento
Corral	C	38,78±2,34 B	39,13±5,21	40,38±9,11	38,73±5,66	0,9159
	AB	35,64±2,99 B	34,53±3,97	46,66±9,81	34,02±7,71	0,1434
	T	45,19±2,24 A	42,93±1,34	40,07±5,35	43,33±0,71	0,2873
p- valor Tratamientos		0,0099	0,0955	0,5793	0,1917	
Silvopastoril	C	38,14±1,08	37,84±1,47	41,48±2,98 A	40,50±3,35	0,2591
	AB	38,58±2,77	37,67±1,00	34,8±3,34 B	37,04±3,27	0,4353
	T	37,43±2,45 ab	35,87±0,50 b	40,11±0,92 ABa	36,79±0,25 ab	0,023
p- valor Tratamientos		0,8187	0,1166	0,0464	0,2512	
p- valor Alimentación		0,1314	0,323	0,2394	0,9921	

Valores expresados como promedio ± desviación estándar. Medias con letras distintas A-B para el efecto tratamiento y a-b para el efecto tiempo de almacenamiento son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Tabla 3.16: Efecto de la aplicación de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro a* de color de filetes de cabrito procedentes del sistema de alimentación a corral y silvopastoril, almacenados refrigerados.

		a*				
		Pre- aplicación	0d	5d	10d	p- valor Almacenamiento
Corral	C	61,8±3,79	61,01±3,46	59,25±3,56	57,15±3,32	0,4321
	AB	60,56±1,35 a	59,96±1,70 a	54,07±3,32 ab	51,92±3,06 b	0,0065
	T	57,47±1,80	58,55±3,28	56,15±2,50	59,09±2,33	0,5265
p- valor Tratamientos		0,181	0,6105	0,2106	0,0553	
Silvopastoril	C	57,84±1,02	59,31±2,07 A	57,29±5,32	56,47±3,80	0,7856
	AB	57,18±2,50	55,27±0,55 B	54,65±5,15	49,31±10,15	0,4406
	T	59,61±1,51 a	55,66±1,70 ABab	51,29±2,79 b	57,52±2,31 a	0,008
p- valor Tratamientos		0,3011	0,0373	0,3398	0,304	
p- valor Alimentación		0,1205	0,021	0,3077	0,547	

Valores expresados como promedio ± desviación estándar. Medias con letras distintas A-B para el efecto tratamiento y a-b para el efecto tiempo de almacenamiento son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Tabla 3.17: Efecto de la aplicación de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y del tiempo de almacenamiento sobre el parámetro b* de color de filetes de cabrito procedentes del sistema de alimentación a corral y silvopastoril, almacenados refrigerados.

		b*				
		Pre- aplicación	0d	5d	10d	p- valor Almacenamiento
Corral	C	30,78±2,83 ab	30,11±2,39 b	41,06±4,54 a	38,73±5,66 ab	0,0233
	AB	28,18±4,96	28,85±1,69	37,38±4,18	33,50±6,01	0,1121
	T	29,11±2,09 c	31,98±1,73 bc	37,59±3,96 b	44,98±2,51 a	0,0004
p- valor Tratamientos		0,6732	0,2243	0,5268	0,0789	
Silvopastoril	C	25,85±0,71 Ab	25,38±3,26 b	34,75±6,18 a	35,00±3,66 a	0,0242
	AB	22,98±0,46 Bb	22,89±1,17 b	34,18±4,66 a	34,31±6,75 a	0,0106
	T	25,51±1,50 Ac	27,39±1,09 c	32,86±1,01 b	39,87±2,55 a	<0,0001
p- valor Tratamientos		0,0237	0,0997	0,8728	0,3481	
p- valor Alimentación		0,0027	0,0004	0,024	0,34	

Valores expresados como promedio ± desviación estándar. Medias con letras distintas A-B para el efecto tratamiento y a-c para el efecto tiempo de almacenamiento son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Evaluando los resultados que se muestran en la Tabla 3.15 obtenidos del parámetro luminosidad en filetes de corral, durante el almacenamiento refrigerado, se puede advertir que no se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) en los tratamientos evaluados. Sí se encontraron diferencias significativas ($p=0,0099$) entre tratamientos de filetes previos a la aplicación de extractos, siendo mayor en T, mientras que tampoco se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) entre tratamientos para los días 0, 5 y 10. En filetes procedentes del sistema silvopastoril, al analizar el efecto del tiempo de almacenamiento, solo se encontraron diferencias significativas ($p=0,023$) en T, en donde, si bien, la incorporación del extracto no afectó inicialmente su luminosidad, los valores de L^* aumentaron luego de 5 días, para luego disminuir hacia el final del almacenamiento refrigerado. Además, se observaron diferencias significativas ($p=0,0464$) entre tratamientos a los 5 días de almacenamiento, siendo mayor en C respecto a AB, ubicándose T en valores próximos a C que no difirieron de los demás tratamientos. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) para el efecto alimentación sobre el parámetro L^* en los distintos tiempos de almacenamiento estudiados.

En lo que respecta al valor de a^* de los filetes de corral, durante el almacenamiento refrigerado, según se puede apreciar en la Tabla 3.16, las diferencias significativas ($p=0,0065$) se hallaron en el tratamiento AB, en el que se puede observar que la incorporación del extracto no afectó inicialmente a los tonos rojos de los filetes, sin embargo, se nota una disminución del valor de a^* hacia los 10 días. No se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) entre tratamientos para los días pre y post aplicación de extractos y día 5 de almacenamiento, pero, en el día 10 de almacenamiento, se observó una tendencia del tratamiento AB a presentar valores de a^* más bajos respecto a los demás tratamientos. En filetes de silvopastoril, analizando el efecto del tiempo de almacenamiento, se hallaron diferencias significativas ($p=0,008$) para T, en donde los tonos rojos disminuyeron a los 5 días para luego aumentar a los 10 días. Del contraste entre tratamientos, se hallaron diferencias significativas ($p=0,0373$) para el día 0 post-aplicación de extractos, siendo mayores los valores de a^* registrados en el tratamiento C respecto de AB, ubicándose T en valores intermedios que no difirieron de los demás tratamientos. A los 5 y 10 días de almacenamiento no se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) entre tratamientos. En cuanto al efecto alimentación, se encontraron diferencias significativas ($p=0,021$) solamente en el día 0

post aplicación de extractos, presentando las muestras procedentes del corral valores superiores de a^* respecto a las precedentes del sistema de alimentación a silvopastoril.

En la Tabla 3.17 se registran los valores del parámetro b^* . En ella es posible advertir que, al evaluar el efecto del tiempo de almacenamiento en filetes procedentes de corral, se hallaron diferencias significativas ($p < 0,05$) para los tratamientos C y T: en C los tonos amarillos aumentaron a los 5 días, para luego disminuir a los 10 días de almacenamiento, mientras que para el tratamiento T, su incorporación no afectó inicialmente los tonos amarillos, sin embargo, el mismo aumentó con el tiempo de almacenamiento. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos para los diferentes tiempos estudiados. En los filetes procedentes del silvopastoril, al contrastar el efecto del tiempo de almacenamiento se hallaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los tres tratamientos estudiados, observándose un aumento de los tonos amarillos con el tiempo. Al contrastar el efecto tratamientos, sólo se encontraron diferencias significativas ($p = 0,0237$) en el tiempo previo a la aplicación de los extractos, presentando las muestras del tratamiento AB el menor valor de b^* . Finalmente, al contrastar el efecto alimentación, se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) hasta los 5 días de almacenamiento, presentando las muestras procedentes del sistema a corral valores superiores de b^* respecto a aquella obtenidas del sistema silvopastoril. Estos resultados se corresponden con lo observado en el parámetro b^* de color determinado en el LD de cabritos informado en la el Capítulo 2 del presente trabajo de tesis.

De acuerdo a la literatura consultada, Sabow *et al.* (2016) han evaluado el almacenamiento refrigerado a 4°C de filetes del *L. lumorum* (LL) de caprinos Boer de 7 meses de edad durante 14 días (sin el agregado de extractos) y reportaron un aumento de la luminosidad y disminución de los tonos rojos y amarillos durante el tiempo de almacenamiento, a diferencia de lo que se observa en el presente trabajo en filetes C procedentes de ambos sistemas de alimentación, en donde los valores de L^* y a^* se mantuvieron sin cambios significativos durante 10 días de almacenamiento; mientras que los de b^* aumentaron gradualmente con el tiempo. Existen dos formas de incorporar antioxidantes a una matriz cárnica, una de ellas fue reportada por Adeyemi *et al.* (2015), quienes suministraron antioxidantes a caprinos Boer de 4-5 meses de edad a través de las dietas. Estos autores evaluaron el músculo *Semimembranosus* y reportaron que los valores de L^* , a^* y b^* no se modificaron durante 7 días de almacenamiento refrigerado. Otra manera de incorporar estos compuestos bioactivos es durante la elaboración del

alimento, como ocurre en el presente trabajo de Tesis. Siguiendo esta línea, Khan *et al.* (2020), evaluaron la incorporación de extractos de pétalos de flores en diferentes proporciones en hamburguesas de cabra e indicaron que la adición de los mismos no afectó inicialmente a los parámetros de color L^* , a^* y b^* al compararlos con un tratamiento control (sin extractos), al igual que ocurre en el presente trabajo, donde la incorporación de los extractos AB y T no afectó inicialmente a los valores de L^* , a^* y b^* tanto en filetes de corral como los procedentes de silvopastoril. Lahmar *et al.* (2018), pulverizaron aceites esenciales procedentes del Norte de Africa al 1%, con extracciones realizadas a base de etanol: agua al 70:30 v/v, sobre chuletas de cordero envasadas en atmósfera modificada y almacenadas en condiciones de refrigeración durante 12 días. Estos autores reportaron que la luminosidad de las chuletas de cordero aumentó con el tiempo, mientras que los tonos rojos se mantuvieron estables durante los tres primeros días, sin embargo, luego disminuyeron hacia el final del almacenamiento. En lo que respecta a la luminosidad, este comportamiento fue distinto al hallado en los filetes de cabritos procedentes de sistemas de alimentación a corral y silvopastoril pulverizados con extractos AB en donde este parámetro se mantuvo constante durante el tiempo de almacenamiento en estudio. Lo mismo ocurre con el extracto T en filetes de corral, sin embargo, en silvopastoril, si bien la luminosidad varió durante el almacenamiento, al final no llega a diferenciarse significativamente del control. Lo expuesto por Lahmar *et al.* (2018) respecto a los tonos rojos es similar a lo hallado en el tratamiento AB de filetes de corral, donde los valores de a^* disminuyen con el tiempo. De acuerdo a Adeyemi *et al.* (2015) esta disminución se debe a la conversión del color “rojo cereza” al “marrón”, como resultado de la oxidación de la Mb a MetMb. En el presente trabajo, el extracto T en filetes de silvopastoril, si bien produjo cambios en el valor de a^* a los 5 días de almacenamiento, hacia los 10 días los tonos rojos fueron similares a los registrados al inicio del ensayo, por lo que se podría decir que nuestros resultados no estuvieron en consonancia con lo reportado por Lahmar *et al.* (2018) y Adeyemi *et al.* (2015).

6.2.3. Análisis microbiológico

El efecto de la incorporación de los extractos AB y T en el recuento de microorganismos: microorganismos aerobios mesófilos totales (MAMT), hongos y levaduras (H y L), *Enterobacteriaceae* y *Staphilococcus aureus*, en filetes de cabritos procedentes de los sistemas de alimentación a corral y silvopastoril, almacenados en

condiciones de refrigeración durante 10 días se presenta en las Tablas 3.18, 3.19, 3.20 y 3.21.

Tabla 3.18: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y del tiempo de almacenamiento sobre el recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales de filetes de cabritos procedentes del sistema de alimentación a corral y silvopastoril, almacenados refrigerados.

		0d	5d	10d	p- valor Almacenamiento
	C	3,76±0,24 ABb	3,80±0,03 Bb	5,85±0,37 a	<0,0001
Corral	AB	4,31±0,84 Ab	5,33±0,55 Aa	5,91±0,14 a	0,0001
	T	3,26±0,30 Bc	4,28±0,71 Bb	6,12±0,12 a	<0,0001
p-valor Tratamiento		0,014	0,0004	0,156	
	C	4,61±0,28 Ac	6,18±0,19 Aa	5,84±0,13 Bb	<0,0001
Silvopastoril	AB	4,38±0,22 Ac	5,81±0,09 Bb	6,17±0,11 Aa	<0,0001
	T	3,89±0,37 Bb	6,14±0,03 Aa	5,93±0,11 Aba	<0,0001
p-valor Tratamiento		0,0024	0,0002	0,011	
p- valor Alimentación		0,0087	<0,0001	0,8924	

Valores expresados en log10 UFC/g como promedio ± desviación estándar. Medias con letras distintas A-B para el efecto tratamiento y a-c para el efecto tiempo de almacenamiento son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Tabla 3.19: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y del tiempo de almacenamiento sobre el recuento de hongos y levaduras de filetes de cabritos procedentes del sistema de alimentación a corral y silvopastoril, almacenados refrigerados.

		0d	5d	10d	p-valor Almacenamiento
Corral	C	2,69±0,75 Abc	3,95±0,25 b	5,67±0,29 a	<0,0001
	AB	3,86±0,32 Ab	3,92±0,16 b	5,43±0,18 a	<0,0001
	T	1,48±1,62 Bb	4,01±0,86 a	5,47±0,02 a	<0,0001
p-valor Tratamiento		0,0049	0,9473	0,0967	
Silvopastoril	C	4,48±0,14 Ac	6,25±0,3 Aa	5,30±0,64 Bb	<0,0001
	AB	3,55±0,20 Bc	4,40±0,12 Bb	5,98±0,44 Aa	<0,0001
	T	3,61±0,20 Bc	6,03±0,75 Aa	5,19±0,09 Bb	<0,0001
p-valor Tratamiento		<0,0001	<0,0001	0,017	
p- valor Alimentación		0,0015	<0,0001	0,8058	

Valores expresados en log₁₀ UFC/g como promedio ± desviación estándar. Medias con letras distintas A-B para el efecto tratamiento y a-c para el efecto tiempo de almacenamiento son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Tabla 3.20: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB, Tusca (T) y del tiempo de almacenamiento sobre el recuento de *Staphylococcus aureus* de filetes de cabritos procedentes del sistema de alimentación a corral y silvopastoril, almacenados refrigerados.

		0d	5d	10d	<i>p</i> - valor Almacenamiento
Corral	C	1,79±0,98 Bc	3,98±0,06 Bb	6,06±0,26 Aa	<0,0001
	AB	4,62±1,49 A	5,10±0,69 A	5,48±0,14 B	0,3179
	T	1,67±1,95 Bb	3,94±0,59 Ba	5,65±0,09 Ba	0,0001
<i>p</i>-valor Tratamiento		0,0065	0,0022	0,0001	
Silvopastoril	C	2,27±0,42 Bb	6,24±0,28 Aa	6,02±0,26 Aa	<0,0001
	AB	2,29±0,37 Bb	5,92±0,10 Ba	5,89±0,19 ABa	<0,0001
	T	3,19±0,53 Ab	6,02±0,18 ABa	5,65±0,09 Ba	<0,0001
<i>p</i>-valor Tratamiento		0,0037	0,0402	0,0139	
<i>p</i>- valor Alimentación		0,8181	<0,0001	0,1918	

Valores expresados en log₁₀ UFC/g como promedio ± desviación estándar. Medias con letras distintas A-B para el efecto tratamiento y a-c para el efecto tiempo de almacenamiento son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Tabla 3.21: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB), Tusca (T) y del tiempo de almacenamiento en el recuento de enterobacterias de filetes de cabritos procedentes del sistema de alimentación a corral y silvopastoril, almacenados refrigerados.

		0d	5d	10d	p- valor Almacenamiento
Corral	C	1,72±1,89 Bb	3,53±0,06 Ba	4,71±0,32 a	0,0011
	AB	4,66±0,36 A	4,19±0,51 A	4,30±0,51	0,2129
	T	2,19±1,79 Bb	3,72±0,51 ABab	4,87±0,27 a	0,0025
p-valor Tratamiento		0,01	0,0433	0,0535	
Silvopastoril	C	4,53±0,23 A	4,12±0,15	4,18±1,14 B	0,5485
	AB	3,10±0,28 Bc	4,29±0,40 b	5,53±0,30 Aa	<0,0001
	T	3,31±0,26 Bb	4,39±0,58 a	4,21±0,17 Ba	0,0004
p-valor Tratamiento		<0,0001	0,5307	0,0054	
p- valor Alimentación		0,1147	0,0045	0,9449	

Valores expresados en log₁₀ UFC/g como promedio ± desviación estándar. Medias con letras distintas A-B para el efecto tratamiento y a-c para el efecto tiempo de almacenamiento son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

En la Tabla 3.18 se presenta el análisis realizado sobre el recuento de MAMT, y el contraste para el efecto tiempo de almacenamiento en los filetes procedentes del sistema de alimentación a corral, indicó que las diferencias fueron significativas ($p < 0,05$) para todos los tratamientos, observándose un aumento de la carga de microorganismos con el tiempo. Al contrastar el efecto tratamiento se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) a los 0 y 5 días de almacenamiento refrigerado. A los 10 días no se encontraron diferencias significativas ($p = 0,156$) entre tratamientos. Por otro lado, al contrastar el efecto tiempo de almacenamiento en filetes procedentes del sistema de alimentación silvopastoril, se observó que las diferencias fueron significativas ($p < 0,05$) en todos los tratamientos evaluados. El contraste realizado para el efecto tratamientos reveló diferencias significativas ($p < 0,05$) en todos los tiempos de almacenamiento en estudio, siendo a los 10 días el tratamiento C el de menor carga de MAMT. El contraste del efecto alimentación indicó que se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) a los 0 y 5 días de almacenamiento, siendo el recuento de MATM de los filetes procedentes del sistema de alimentación silvopastoril mayor que el de los filetes procedentes de corral.

Finalmente, el análisis de H y L consignado en la Tabla 3.19 indica que en el contraste realizado para el efecto tiempo de almacenamiento en filetes procedentes del sistema de alimentación a corral, las diferencias fueron significativas ($p < 0,0001$) en todos los tratamientos de estudio, observándose un aumento de la carga de H y L con el tiempo. Se destaca que el tratamiento AB mantuvo la carga microbiana hasta los 5 días de almacenamiento. Por otro lado, el contraste realizado para el efecto tratamiento indicó que las diferencias fueron significativas ($p = 0,0049$) a los 0 días de almacenamiento, siendo el tratamiento T el de menor carga de H y L. Por otro lado, al contrastar el efecto tiempo de almacenamiento en filetes procedentes del sistema de alimentación silvopastoril, se observa que las diferencias fueron significativas ($p < 0,0001$) en todos los tratamientos evaluados. Al contrastar el efecto tratamiento, se observó que las diferencias fueron significativas ($p < 0,05$) en todos los tiempos de estudio, siendo a los 10 días los tratamientos T y C los de menor carga de H y L. Finalmente, el contraste realizado para el efecto alimentación indicó diferencias significativas ($p < 0,05$) a los 0 y 5 días de almacenamientos, siendo los filetes

procedentes del sistema de alimentación silvopastoril los de mayor carga de H y L en comparación con los filetes procedentes de corral.

El análisis de *S. aureus* presentado en la Tabla 3.20 reveló que en el contraste para el efecto tiempo de almacenamiento en los filetes procedentes del sistema de alimentación a corral, no se encontraron diferencias significativas ($p=0,3179$) en el tratamiento AB, mientras que las diferencias fueron significativas ($p<0,05$) en los tratamientos C y T. Al contrastar el efecto tratamiento, se observaron diferencias significativas ($p<0,05$) en los tres tiempos de almacenamiento en estudio, hallándose que, a los 10 días, los tratamientos AB y T presentaron menor carga microbiana que el tratamiento C. Por otro lado, al contrastar el efecto tiempo de almacenamiento en filetes procedentes del sistema de alimentación silvopastoril, se observó que las diferencias fueron significativas ($p<0,05$) en todos los tratamientos evaluados, incrementándose la carga microbiana con el almacenamiento. Al contrastar el efecto tratamiento se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$) en los tres tiempos de almacenamiento en estudio. En cuanto al contraste del efecto alimentación, sólo se encontraron diferencias significativas ($p<0,0001$) a los 5 días de almacenamiento, siendo la carga de *S. aureus* de los filetes procedentes del sistema de alimentación silvopastoril mayor que la de filetes procedentes de corral.

En los resultados consignados en la Tabla 3.21 se muestra el análisis realizado sobre el recuento de enterobacterias, y el contraste para el efecto tiempo de almacenamiento. En los filetes procedentes del sistema de alimentación a corral reveló que no se encontraron diferencias significativas ($p=0,2129$) en el tratamiento AB, mientras que las diferencias fueron significativas ($p<0,05$) para los tratamientos C y T, observándose un aumento de la carga de enterobacterias con el tiempo. Al contrastar el efecto tratamiento se observó que las diferencias fueron significativas ($p<0,05$) a los 0 y 5 días de almacenamiento, mientras que a los 10 días se halló una tendencia de los tratamientos a diferenciarse significativamente ($p=0,0535$), presentando el tratamiento AB la menor carga de enterobacterias. Por otro lado, al contrastar el efecto tiempo de almacenamiento en filetes procedentes del sistema de alimentación silvopastoril, se observó que las diferencias no fueron significativas ($p=0,5485$) en el tratamiento C, mientras que se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$) en los tratamientos AB y T con aumento de la carga de enterobacterias con el tiempo. El contraste realizado para el efecto tratamiento reveló diferencias significativas ($p<0,05$) a los 0 y 10 días de

almacenamiento, siendo en este último día, los tratamientos C y T los de menor carga microbiana. Respecto al contraste realizado para el efecto alimentación, el análisis indicó que las diferencias fueron significativas ($p=0,0045$) a los 5 días de almacenamiento, presentando los filetes procedentes del sistema de alimentación de silvopastoril mayor carga de enterobacterias que los filetes procedentes del sistema de alimentación a corral.

De esta manera, de acuerdo a los resultados expuestos precedentemente, el extracto AB en filetes procedentes del sistema de alimentación a corral, preservó el desarrollo de enterobacterias y *S. aureus* con el tiempo de almacenamiento, mientras que no tuvo efecto antimicrobiano respecto a MAMT. Sin embargo, logró preservar el desarrollo de H y L hasta los 5 días de almacenamiento refrigerado. Por otro lado, en filetes procedentes del sistema de alimentación silvopastoril, el extracto AB no presentó efecto antimicrobiano, ya que no logró inhibir ni minimizar el desarrollo de todos los microorganismos en estudio durante el almacenamiento refrigerado.

Con respecto al extracto T, tanto en filetes procedentes del sistema de alimentación a corral como de silvopastoril, no tuvo efecto antimicrobiano en los microorganismos en estudio, ya que no logró inhibir ni minimizar el aumento de la carga de microorganismos con el tiempo de almacenamiento. Los contrastes realizados para el efecto alimentación indicaron que los filetes de silvopastoril tuvieron mayor carga de enterobacterias y *S. aureus* a los 5 días, y de MAMT y H y L a los 0 y 5 días, con respecto a los filetes procedentes de la alimentación a corral.

De acuerdo a la literatura consultada, Carrizosa *et al.* (2017), determinaron la calidad microbiológica de trozos de carne obtenidos de las piernas de cabritos de aproximadamente 12 kg, envasados en diferentes condiciones de atmósfera modificada, y almacenados durante 14 días refrigerados. Estos autores determinaron el recuento de MAMT, *S. spp.*, enterobacterias, entre otros microorganismos. Los recuentos reportados fueron inicialmente bajos, *S. spp.*: 1,4 log UFC/g, enterobacterias: 1,4 log UFC/g y MAMT: 3,5-3,6 log UFC/g, mientras que los valores al final del ensayo (14 días) fueron: *S. spp.*: 4,3-5,19 log UFC/g, enterobacterias: 5,6- 7,88 log UFC/g y MAMT: 7,03- 8,2 log UFC/g dependiendo de la atmósfera empleada para el envasado. A diferencia de lo que ocurre en el presente ensayo, los recuentos iniciales de *S. spp.* y enterobacterias fueron más altos, sin embargo, al final del ensayo el recuento de *S. spp.* en algunos casos

fueron similares y en otros más altos que en el ensayo de Carrizosa *et al.* (2017), mientras que en enterobacterias las cargas microbianas finales de los tratamientos con extractos fueron similares o menores que los del ensayo de comparación. En MAMT los recuentos iniciales informados en este trabajo de tesis fueron similares, mientras que los finales fueron más bajos que los reportados por Carrizosa *et al.* (2017). Las diferencias encontradas podrían deberse a las condiciones de envasado, a la aplicación de los extractos (interacción entre la matriz cárnica y los extractos naturales) y al tiempo de almacenamiento (14 días de ensayo + 1 día *post mortem* en el trabajo de Carrizosa *et al.* (2017) versus 10 días de ensayo + 2 días *post mortem* en el presente trabajo de Tesis).

Sabow *et al.*, 2016, evaluaron los recuentos de MAMT, enterobacterias, entre otros microorganismos, del músculo *Semitendinosus* de cabras Boer de 8 a 10 meses de edad, almacenado durante 14 días y reportaron valores iniciales de 2,8 log UFC/g en MAMT y 0,8 log UFC/g en enterobacterias. Dichos valores resultan inferiores a los obtenidos en el presente trabajo. Sin embargo, los valores de MAMT que obtuvieron dichos autores a los 14 días de almacenamiento fueron superiores (6,8 log UFC/g) a los hallados en el presente trabajo en filetes de corral y silvopastoril con tratamientos C y T (entre 5,83 - 5,95 log UFC/g). Por otro lado, el recuento inicial de enterobacterias reportados por Sabow *et al.* (2016) fue menor al hallado en el presente trabajo, mientras que al final del almacenamiento los recuentos resultaron ser similares (4 log UFC/g) a los observados en presente trabajo en filetes del sistema corral con tratamientos C y AB y del sistema silvopastoril con tratamientos C y T almacenados durante 10 días (entre 4,19- 4,84 log UFC/g).

En la bibliografía consultada no se encontraron trabajos de vida útil en lo que respecta a la calidad microbiológica de carne caprina con aplicación de los extractos naturales de hojas, sin embargo, sí existen estas investigaciones realizadas en carnes de otras especies, por ejemplo, Krishnan *et al.* (2014), evaluaron la aplicación de diferentes extractos naturales de *Syzygium aromaticum*, *Cinnomomum cassia*, *Origanum vulgare* y *Brassica nigra* en filetes de carne cruda de pollo almacenados aeróbicamente en bolsas de polietileno de baja densidad y en condiciones de refrigeración. Estos autores evaluaron el comportamiento de diferentes microorganismos, entre ellos, enterobacterias, y los valores obtenidos fueron menores que el control (sin la aplicación de extractos). También analizaron el efecto de la combinación de los extractos anteriormente mencionados, encontrando valores aún más bajos. Los recuentos iniciales se registraron en el orden de 3,25 log UFC/g, mientras que al final del ensayo (15 días)

fueron entre 3, 6 y 4,4 log UFC/g, dependiendo del tratamiento. Cabe destacar que al día 12 de almacenamiento, el conteo de estos microorganismos no varió significativamente ($p>0,05$) con respecto al día 15.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el presente trabajo, los recuentos iniciales para estos microorganismos, así como también al final del ensayo en los tratamientos corral con AB, y silvopastoril con T y C (4,34; 4,2 y 4,19 log UFC/g respectivamente) fueron similares a los reportados por Krishnan *et al.* (2014) en filetes tratados con extractos al 1% de *S. aromaticum*, *B. nigra* y *O. vulgare*: 4,4; 4,3 y 4,2 log UFC/g respectivamente.

Un recuento elevado de MAMT podría significar una excesiva manipulación y contaminación durante el proceso de elaboración y asociarse a la posibilidad de que existan patógenos, ya que los mismos son organismos mesófilos (Galban Bautista *et al.*, 2011).

La contaminación debido a la presencia de *S. aureus* surge por una inadecuada manipulación de la carne desde la faena hasta los procesos subsiguientes, ya que estos microorganismos se encuentran en garganta, nariz, lesiones o heridas que pudiesen tener los manipuladores de carne en todo el proceso (Galban Bautista *et al.*, 2011). Una contaminación de este tipo es de suma importancia ya que estos microorganismos son capaces de producir una enterotoxina que al ingerirse causa intoxicaciones alimentarias del tipo stafilocócica (Barbolla Sala *et al.*, 2004).

Los recuentos de enterobacterias altos al inicio del tratamiento podrían deberse a una contaminación de la canal durante el proceso de faena, lo cual constituye un punto a tener en cuenta ya que todo el proceso se realizó en una planta de faena habilitada. De acuerdo a lo indicado por Kumar y Rao, (2016) esta etapa constituiría el primer foco de contaminación de las canales, seguidas por la contaminación ambiental y manipulación excesiva desde el sacrificio de los animales hasta su comercialización. En este contexto Bianchi *et al.* (2011) establecieron que las buenas prácticas de higiene en la planta de faena se consideran como el principal punto de control ya que determinan la carga microbiológica inicial de las canales. Estas medidas preventivas de higiene son necesarias para garantizar tanto la protección de la salud de los consumidores como la calidad de la carne (Zweifel *et al.*, 2014).

Barbolla Sala *et al.* (2004) indican que los hongos y levaduras también son indicadores de inadecuadas prácticas de higiene durante la producción y almacenamiento. Si bien estos microorganismos no son causantes de grandes deterioros

en la carne, pueden provocar un efecto de este tipo cuando se encuentren en cargas superiores a 10^7 o $7 \log$ UFC/g (Zagorec *et al.*, 2017). En estas condiciones Barbolla Sala *et al.* (2004) indicaron que la ingesta de los mismos puede causar enfermedades diarreicas durante largos períodos, que difícilmente se diferencian de las enfermedades transmitidas por bacterias. Teniendo en cuenta el valor mencionado, los resultados obtenidos en el presente trabajo se encuentran dentro de los límites aceptables.

En comparación con otros trabajos mencionados anteriormente, los recuentos de otros grupos como los de enterobacterias, MAMT y *S. spp*, si bien son inicialmente altos, durante los 10 días de almacenamiento refrigerado, las cargas microbianas no aumentaron drásticamente como en trabajos informados por otros autores. Kumar y Rao (2016) quienes establecen que, y de acuerdo al “International Commission on Microbiological Specifications for Foods” (ICMSF, 1974) la carne cruda puede tener entre 10^6 y 10^7 UFC/g de MAMT, con lo cual, los resultados obtenidos en el presente trabajo se encontrarían, también, dentro de lo permitido.

6.2.4. Análisis sensorial

En la Tabla 3.22 se presentan los resultados obtenidos del análisis sensorial realizado por 74 jueces no entrenados o consumidores.

Tabla 3.22: Efecto de los extractos de Algarrobo blanco (AB) y Tusca (T) en la preferencia de consumidores.

		0 d	5 d	10 d
Corral	C	2,46 EF	2,22 E	2,00 F
	AB	2,41 F	3,09 C	5,68 A
	T	3,01 D	4,80 A	4,11 C
Silvopastoril	C	4,95 A	3,36 BC	2,62 DE
	AB	4,23 BC	2,39 DE	4,27 BC
	T	3,95 C	5,14 A	2,32 EF
p-valor Tratamientos		<0,0001	<0,0001	<0,0001

Valores expresados como rango medio. Medias con letras distintas (A-D) son significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre tratamientos.

De los resultados presentados se puede observar que al día 0 los filetes de mayor preferencia fueron los de silvopastoril C, y en general los filetes procedentes de este sistema de alimentación fueron inicialmente más aceptados por los consumidores. A los 5 días los filetes de ambos sistemas de alimentación con extracto T fueron los de mayor preferencia. Luego de 10 días de almacenamiento, los filetes de corral con extracto AB fueron los de mayor preferencia y en segundo lugar se posicionaron los filetes de silvopastoril pulverizados también con AB, así como también filetes de corral con T. De acuerdo a la literatura consultada, Morcuende *et al.* (2020) han realizado un test sensorial similar, pero relacionado con la intención de compra. Estos autores trabajaron con chuletas de cordero pulverizadas con extractos antioxidantes de frutas nativas de la zona de Extremadura, España, envasadas en atmósfera modificada (MAP), y almacenadas durante 10 días en condiciones de refrigeración. Como control utilizaron chuletas sin extractos y envasadas al vacío. Emplearon 60 consumidores habituales de cordero y demostraron que los mismos tenían más preferencia por las chuletas con extractos y MAP al final del almacenamiento. Resultados similares fueron los obtenidos en el presente trabajo en donde los consumidores tuvieron mayor preferencia por filetes con extracto AB luego de 10 días de almacenamiento.

6.3. Resultados destacados

6.3.1. pH

El pH de los filetes procedentes de corral aumentó en todos los tratamientos, por lo que la incorporación de los extractos AB y T no influyó en el pH de estos filetes durante el almacenamiento refrigerado.

6.3.2. Color instrumental

6.3.2.1. Extracto AB

6.3.2.1.1. Filetes procedentes de alimentación a corral

- Preservó la luminosidad en el tiempo.
- Produjo una disminución en los tonos rojos con el tiempo.
- Preservó los tonos amarillos con el tiempo.

6.3.2.1.2. Filetes procedentes de alimentación silvopastoril

- Conservó la luminosidad en el tiempo.
- Conservó los tonos rojos con el tiempo.
- Produjo un aumento del valor de b^* a partir de los 5 días de almacenamiento.

6.3.2.2. Extracto T

6.3.2.2.1. Filetes procedentes de alimentación a corral

- Conservó la luminosidad en el tiempo.
- Conservó los tonos rojos en el tiempo.
- Produjo un aumento de los tonos amarillos con el tiempo.

6.3.2.2.2. Filetes procedentes de alimentación silvopastoril

- Produjo un aumento de la luminosidad a los 5 días de almacenamiento.
- Produjo una disminución de los tonos rojos hasta los 5 días de almacenamiento.
- Produjo un aumento de los tonos amarillos con el tiempo.

6.3.2.3. Alimentación

- En el valor de L^* , no se observó efecto de la alimentación en los diferentes tiempos estudiados.
- En el valor de a^* solo se encontró efecto de la alimentación a los 0 días post aplicación de extractos, siendo mayor en filetes procedentes del sistema a corral.
- En el valor de b^* se observó efecto de la alimentación hasta los 5 días de almacenamiento, siendo mayor en filetes procedentes del sistema a corral.

6.3.3. Análisis microbiológicos

La carga microbiana final hallada en los filetes de todos los tratamientos evaluados no ha superado los límites de tolerancia considerados como aceptables para que un alimento pueda ser consumido ($\sim 1 \times 10^7$ log UFC/g).

6.3.3.1. Extracto AB

6.3.3.1.1. Filetes procedentes de alimentación a corral

Preservó el desarrollo de enterobacterias y *S. aureus* con el tiempo de almacenamiento, mientras que no tuvo efecto antimicrobiano respecto a los MAMT. Logró preservar el desarrollo de H y L hasta los 5 días de almacenamiento.

6.3.3.1.2. Filetes procedentes de alimentación silvopastoril

No logró inhibir ni minimizar el desarrollo de todos los microorganismos estudiados durante el almacenamiento refrigerado.

6.3.3.2. Extracto T

6.3.3.2.1. Filetes procedentes de alimentación a corral

No se observó efecto antimicrobiano en los microorganismos estudiados, ya que no logró inhibir ni minimizar el aumento de la carga de los mismos con el tiempo de almacenamiento.

6.3.3.2.2. Filetes procedentes de alimentación silvopastoril

No se observó efecto antimicrobiano en los microorganismos estudiados, ya que no logró inhibir ni minimizar el aumento de la carga de los mismos con el tiempo de almacenamiento.

6.3.3.3. Alimentación

- Los filetes procedentes de silvopastoril tuvieron mayor carga de enterobacterias y *S. aureus* a los 5 días respecto de los procedentes del sistema a corral.
- Los filetes procedentes de silvopastoril tuvieron mayor carga de MAMT y H y L a los 0 y 5 días, con respecto a los filetes procedentes de la alimentación a corral.

6.3.4. Análisis sensorial

Al día 0 los filetes de mayor preferencia fueron los de silvopastoril C. A los 5 días los filetes de corral y silvopastoril con T fueron los preferidos y finalmente, a los 9 días los de mayor preferencia fueron los filetes procedentes de alimentación a corral con extracto AB.

7. Referencias

Adeyemi, K., Sabow, A. B., Shittu, R. M., Karim, R., Sazili, A. Q. (2015). Influence of dietary canola oil and palm oil blend and refrigerated storage on fatty acid, miofibrillar proteins, chemical composition, antioxidant profile and quality attributes of *semimembranosus* muscle in goats. *Journal of animal Science and Biotechnology*, 6:51.

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación (2014). Análisis microbiológico de alimentos. Metodología analítica oficial. Microorganismos indicadores. Red Nacional de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos (ReNaLOA), 3, 153 pág.

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) (2020). Guía de interpretación de resultados microbiológicos de alimentos. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/guia_de_interpretacion_resultados_microbiologicos.pdf Acceso: 22 de diciembre de 2020.

Agüero, D., Freire Vidal, V., Viano Capellino, V. (2007). El consumo de un producto no tradicional en río cuarto-argentina: el caso de la carne caprina. *Revista mexicana de agronegocios*, 11 (20), 239- 248.

Akcan T., R. Gökçe, S. L. Martínez, E. Jiménez, S. Ventanas, M. Estévez y D. Morcuende (2017). Effect of mediterranean fruits extracts on the sensory properties of modified atmosphere-packaged lamb meat. *IX Congreso CyTA-CESIA*, Madrid 16, 17 y 18 de mayo de 2017.

Aliakbarlu, J., Sadaghiani, S. K. (2015). Effect of Avishane shirazi (*Zataria Multiflora*) and clove (*Syzygium Aromaticum*) essential oils on microbiological, chemical and sensory properties of ground sheep meat during refrigerated storage. *Journal of Food Quality*, 38, 240-247.

Alimentos argentinos (2011). Caracterización del sector caprino en la Argentina. PlaNet Finance. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/procal/estudios/04_Caprino/SectorCaprino_Argentina.pdf

Alimentos Argentinos (2020). Carnes alternativas: panorama. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/revista/html/39/39_05_Carnes_alternativas.htm. Acceso: 21 de diciembre de 2020.

Andrés, A. I., Petró, M. J., Adámez, J. D., López, M., Timón, M. L. (2017). Food by products as potential antioxidant and antimicrobial additives in chill stored raw lamb patties. *Meat Science*, 129, 62-70.

Araujo, P., Iturre, M. C., Acosta, V. H., Renolfi, R. F. (2008). Estructura del bosque de “La María” EEA INTA Santiago del Estero. *Quebracho*, 16, 5-19.

Arias M. E., Gomez J. D., Cudmani N. M., Vattuone M. A., Isla M. I. (2004). Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Acacia aroma* Gill. ex Hook et Arn. *Life Sciences*, 75, 191–202.

Astudillo, L., Schmeda-Hirschmann, G., Herrera, J. P., Cortes, M. (2000). Proximate composition and biological activity of Chilean *Prosopis* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 567-573.

Armenteros, M., Morcuende, D., Ventanas, S., Estévez, M. (2013). Application of Natural Antioxidants from Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L.) and Dog Rose (*Rosa canina* L.) to Frankfurters Subjected to Refrigerated Storage. *Journal of Integrative Agriculture*, 12(11), 1972-1981

Baker, I. A., Alkass, J. E., Saleh, H. H. (2013). Reduction of oxidative rancidity and microbial activities of the karadi lamb patties in freezing storage using natural antioxidant extract of Rosemary and Ginger. *International Journal of Agricultural and Food Research*, 2(1), 31-42.

Barbolla Sala, M. E., Del Rosario Vidal Perez, M., Piña Gutierrez, O. E., Ramirez Messner, I., Vidal Vidal, J. J. (2004): Contaminación de los alimentos por *Vibrio cholerae*, coliformes fecales, *Salmonella*, hongos, levaduras y *Staphilococcus aureus* en Tabasco durante el 2003. *Salud en Tabasco*, 10, 221-222.

Bellés, M., Alonso, V., Roncalés, P., Beltrán, J. A. (2017). Effect of borage and Green tea aqueous extracts on the quality of lamb leg chops displayed under retail conditions. *Meat Science*, 129, 153-160.

Bianchi, G., Garibaldo, G., Franco, M., Rodriguez, M., Sosa, S., Lauarco, M., Bentancur, O. (2011). Lavado de corderos como forma de disminuir la carga bacteriana en la canal. *Agrociencia Uruguay*, 15 (2), 128- 133.

Bortnowska, G., Przybylska, S., Iwanski, R. (2020). Physicochemical properties, oxidative stability and antioxidant capacity of clean label meat-based sauces: effects of phenolic extracts addition and cold storage. *J Food Sci Technol*. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04519-x>.

Camacho, A., Giles, M., Ortegón, A., Palao, M., Serrano, B., Velázquez, O. (2009). Técnicas para el análisis microbiológico de alimentos. 2º Edición. Facultad de Química UNAM, México, pág. 4.

Camo J., Lorés A., Djenane D., Beltrán J. A., Roncalés P. (2011). Display life of beef packaged with antioxidant active film as a function of the concentration of oregano extract. *Meat Science*, 88, 174- 178.

Campo, M. M., Nute, G. R., Hughes, S. I., Enser, M., Wood, J. D., Richardson, R. I. (2006). Flavor perception of oxidation in beef. *Meat Science*, 72, 303-311.

Cando D., Morcuende D., Utrera M., Estévez M. (2014). Phenolic-rich extracts from Willowherb (*Epilobium hirsutum* L.) inhibit lipid oxidation but accelerate protein carbonylation and discoloration of beef patties. *Eur Food Res Technol*, 238; 741–751.

Carrizosa, E., Benito, M. J., Ruiz Moyano, S., Hernandez, A., Villalobos, M. C., Martín, A., Córdoba, M. G. (2017). Bacterial communities of fresh goat meat packaged in modified atmosphere. *Food Microbiology*, 65, 57-63.

Casaburi, A., Piombino, P., Nychas, G. I., Villoni, F., Ercolini, D. (2015). Bacterial population and the volatilome associated to meat spoilage. *Food Microbiology*, 45, 83-102.

Colares, M. N. y Arambarri, A. M. (2008). *Ziziphus mistol* (Rhamnaceae): Morfo-anatomía y Arquitectura Foliar. *Latin American Journal of Pharmacy*, 27 (4), 568-77.

De Los Santos Ruete, C. M. (2018). Impacto del uso de antioxidantes naturales sobre la estabilidad del color y de los lípidos de hamburguesas de cordero. Tesis de

grado de la Facultad de Veterinaria, Universidad de la República de Uruguay.
Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12008/18418>

Devatkal y Naveena (2010). Effect of salt, kinnow and pomegranate fruit by-product powders on color and oxidative stability of raw ground goat meat during refrigerated storage. *Meat Science*, 85, 306-311.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. (2017). InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Díaz J., Martínez S. L., Nazareno M. (2013). Uso de películas antioxidantes para la protección de carne bovina fresca frente a la oxidación lipídica. XIX *Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CyTAL)*, Rosario, Santa Fe, Argentina.

Doulgraki, A., Ercolini, D., Villani, F., Nychas, G. J. (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat different conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 157, 130-141.

Dominguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., Lorenzo, J. M. (2019). A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*, 8, 429.

Echegaray, N., Gómez, B., Barba, F. J., Franco, D., Estévez, M., Carballo, J., Marszalek, K., Lorenzo, J. M. (2018). Chestnuts and by-products as source of natural antioxidants in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 8, 110-121.

Estévez, M. (2011). Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Science*, 89, 259-279.

Estévez, M., Morcuende, D., Ventanas, S., Ventanas, J. (2012). Oxidación de proteínas cárnicas (I): importancia científica y tecnológica. *Eurocarne*, 56 (208), 10 pág.

Estévez, M., Geraert, P., Liu, R., Delgado, J., Mercier, J., Zhang, W. (2020). Sulphur amino acids, muscle redox status and meat quality: More than building blocks – Invited review. *Meat Science*, 163, 108087.

Falowo A. B., Fayemi P. O., Muchenje V. (2014). Natural antioxidants against lipid- protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 64, 171-181.

Ferreira V. S., Morcuende D., Madruga M. S., Silva F. A. P., Estévez M. (2018). Role of protein oxidation in the nutritional loss and texture changes in ready to eat chicken patties. *International Journal of Food Science and Technology*, 53, 1518- 1526.

Food and Drug Administration (FDA) (1992). Bacteriological analytical manual. Arlington, VA: AOAC International.

Gadekar, Y. P., Sharma, B. D., Shinde, A. K., Verma, A. K., Mendiratta, S. K. (2014). Effect of natural antioxidants on the quality of cured, restructured goat meat product during refrigerated storage (4 ± 1 °C). *Small Ruminant Research*, 119, 72-80.

Galbán Bautista, A., Rosales Garnica, A., Diaz Vela, J. (2011). Estudio comparativo sobre los microorganismos presentes en carne molida provenientes de una cadena de supermercados y mercados en el Municipio de Ecatepeu. *Nacameh*, 5 (1), 1-9.

Ganhão, R.; Estévez, M.; Kylli, P.; Heinonen, M.; Morcuende, D. (2010- a). Characterization of selected wild mediterranean fruits and comparative efficacy as inhibitors of oxidative reactions in emulsified raw pork burger patties. *J. Agric. Food Chem.*, 58(15), 8854-8861.

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

Ganhão R., Estévez M., Morcuende D. (2011). Suitability of the TBA method for assessing lipid oxidation in a meat system with added phenolic-rich materials. *Food Chemistry*, 126, 772–778.

Garrido, M. D., Bañón, S., Alvarez, D. (2005). Medida de pH. En: Cañeque, V y Sañudo. C. (Eds.), Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. *Monografías INIA*, Madrid, España, Serie Ganadera N° 3, 206- 215.

Hernández Salueña, B., Saenz Gamasa, C. Diñeiro Rubial, J. M., Alberdi Odrioola, C. (2019). CIELAB color paths during meat shelf life. *Meat Science*, 157, 107889.

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) (1974). Microorganisms in foods. Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications. Toronto, Canada: Universidad de Toronto Press, (2).

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) (1983). Microorganismos de los Alimentos 1: Técnicas de Análisis Microbiológico; Editorial Acirbia: Zaragoza, España; Volumen 2, p. 431.

ISO11136:2014. 2014. Análisis sensorial. Metodología. Guía general para la realización de pruebas hedónicas con consumidores en una zona controlada. UNE. Normalización Española.

Kalogianni, A. I., Lazou, T., Bossis, I., Gelasakis, A. I. (2020). Natural phenolic compounds for the control of oxidation, bacterial spoilage, and foodborne pathogens in meat. *Foods*, 9 (6), 794.

Khan, A. I., Xu, W., Wang, D., Yun, A., Khan, A., Zongshuai, Z., Ijaz, M. U., Yiqun, C., Hussain, M., Huang, M. (2020). Antioxidant potential of *Chrysanthemum morifolium* flower extract on lipid and protein oxidation in goat meat patties during refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 85, 618-627.

Khliji, S., Vandeven, R., Lamb, T. A., Lanza, M., Hopkins, D. L. (2010). Relationship between consumer ranking of lamb color and objective measures of color. *Meat Science*, 85, 224-229.

Kim S. J., Cho Ah R., Han J. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of leafy Green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. *Food control*, 29, 112-120.

Krishnan K., Babuskin S., Azhagu Saravana Babu P., Sasikala M., Sabina K., Archana G. (2014). Antimicrobial and antioxidant effects of spice extracts on the shelf life extension of raw chicken meat. *International Journal of Food Microbiology*, 171, 32-40.

Kumar, M., Rao, R. (2016). Index of Chevon sanitary quality: The standard plate count. *Journal of veterinary public health*, 14 (1), 59-60.

Lahmar, A.; Morcuende, D., Andrade, M. J., Chekir-Ghedira, L, Estévez, M. 2018. Prolonging shelf life of lamb cutlets packed under high- oxygen modified

atmosphere by spraying essential oils from North- African plants. *Meat Science*, 139, 56-64.

Lourenço, S. C., Moldão-Martins, M., Alves, V. D. (2019). Antioxidants of Natural Plant Origins: From Sources to Food Industry Applications. *Molecules*, 24(22), 4132.

Manzoor, A. S., Sowriappan, J., Shabir, A. M. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*, 98, 21-33.

Martínez, L., Bastida, P., Castillo, J., Gaspar, R., Nieto, G. (2019). Green alternatives to synthetic antioxidants, antimicrobials, nitrates and nitrites in clean label Spanish Chorizo. *Antioxidants*, 8, 1-18.

Martínez, L., Jongberg, S., Ros, G., Skibsted, L. H., Nieto, G. (2020). Plant derived ingredients rich in nitrates or phenolics for protection of pork against protein oxidation. *Food Research International*, 129, 108789.

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (MAGyP) (2019). Agricultura realiza actividades de promoción del consumo de Cordero argentino. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/noticias/agricultura-realiza-actividades-de-promocion-del-consumo-de-cordero-argentino#:~:text=Actualmente%2C%20el%20consumo%20de%20carne,opciones%20nutricionales%20de%20los%20argentinos.>

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (MAGyP) (2020). Stock caprino por departamento y estratificación al 31-12 (2012-2018). Disponible en: <https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/caprinos/estadisticas/>. Acceso: 2 de abril de 2020.

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (MAGyP) (2021). Programa Nacional para el consumo de carne ovina. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/agricultura/cordero-argentino/campa%C3%B1a/programa>. Acceso: 1 de febrero de 2021.

Morcuende, D., Vallejo- Torres, C., Ventanas, S., Martinez, S. L., Ruiz, S. C., Estévez, M. (2020). Effectiveness of Sprayed Bioactive Fruit Extracts in Counteracting

Protein Oxidation in Lamb Cutlets Subjected to a High-Oxygen MAP. *Foods*, 9(11), 1715.

Organisation for Economic Co- operation and Development (OECD) (2020). Meat consumption (indicator). Disponible en: <https://www.oecd-ilibrary.org/> . Acceso: 5 de diciembre de 2020.

Organisation for Economic Co- operation and Development (OCDE) (2021) Agriculture Statistics. World meat projections. Disponible en: https://www.oecd-ilibrary.org/agriculture-and-food/data/oecd-agriculture-statistics_agr-data-en . Acceso: 20 de enero de 2021.

Oyagié, J. M., (2007). Estabilidad del color de la carne fresca. *Nacameh*, 1, 67-74.

Palacio, M., Roger, E. (2016). Árboles autóctonos de Santiago del Estero. Guía para su reconocimiento en el Jardín Botánico Ing. Lucas D. Roic. *EDUNCE, Editorial Universitaria*.

Rahmar, U., Sahar, A., Ishaq, A., Aadil, R. M., Zahoor, T., Ahmad, M. H. (2018). Advanced meat preservation methods: A mini review. *Journal of Food Safety*, 38, 12467.

Ribeiro, J. S., Cordeiro Santos, M. J. M., Silva, L. K. R., Lavinsky Pereira, L. C., Alves Santo, I., Caetano da Silva Lannes, S., Viana da Silva, M. (2019). Natural antioxidants used in meat products: A brief review. *Meat Science*, 148, 181-188.

Ripoll, G. Panea, B., Alberti, P. (2012). Apreciación visual de la carne bovina y su relación con el espacio color CIELAB. *Información Técnica Económica Agraria*, 108 (2), 222- 232.

Ripoll, G., Alcalde, M. J., Arguello, A., Córdoba, M. G., Panea, B. (2018). Consumer visual appraisal and shelf life of leg chops from suckling kids raised with natural milk and milk replacer. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98, 2651-2657.

Rodríguez Carías, A. A. (2013). Sustainability and competitiveness of production systems of small ruminants. *Revista colombiana de ciencias pecuarias*, 26, 278-283.

Rodriguez Carpena, J., G., Morcuende, D., Andrade, M. J., Kylli, P., Estevez, M. (2011). Avocado (*Persea americana Mill*) Phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and Inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 5625- 5635.

Rodríguez-Carpena, J.G.; Morcuende, D.; Estévez, M. (2012). Avocado, sunflower and olive oils as replacers of pork back-fat in burger patties: Effect on lipid composition, oxidative stability and quality traits. *Meat Science*, 90(1), 106-115.

Rodriguez Gonzalez, L. (2019). De l'extracte de pètals de flors comestibles i llavor de baobab per augmentar la vida útil en hamburgueses. *Universitat Politècnica de Barcelona, Trabajo final Ingeniería en Alimentos*. Disponible en: <http://hdl.handle.net/2117/168631>

Ruiz, S. C., García, E. M., Nediani, T., Zimmerman, M., Nazareno, M. A., Martínez, S. (2019). Potencial antioxidante y actividad antimicrobiana de extractos de hojas de Mistol (*Zizyphuz mistol*), Algarrobo blanco (*Prosopis alba*) y Tusca (*Acacia aroma*) procedentes de Santiago del Estero, Argentina. *Revista FANUS: Foro de la alimentación, la nutrición y la salud (RFANUS)*, 1 (1), 10-19.

Russell, B. C., McAlister, G., Ross, I. S., Pethick, D. W. (2005). Lamb and sheep meat eating quality industry and scientific issues and the need for integrated research. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 45, 465-467.

Saini, R. K., Keum, Y. (2016). Tocopherols and tocotrienols in plants and their products: A review on methods of extraction chromatographic separation and detection. *Food Research International*, 82, 59-70.

Sancho J., Bota E., De Castro J. J. (1999). Introducción al análisis sensorial de alimentos. Ediciones de la Universitat de Barcelona. Depósito legal: B.- 3.114- 99. ISBN: 84- 8338- 052- 8.

Sabow, A. B., Sazili, A. Q., Aghwan, Z. A., Zulkifli, I., Goh, Y. M., Ab Kadir, M. Z. A., Nakyinsige, K., Kaka, U., Adeyemi, K. D. (2016). Changes of microbial

spoilage, lipid- protein oxidation and physicochemical properties during post mortem refrigerated storage of goat meat. *Animal Science Journal*, 87, 816- 826.

Taboada, F. F., Habib, N. C., Genta, S. B. (2019). Gastroprotective effect of *Acacia aroma* Gill ex Hook and Arm. Leaves extracts in gastric ulcer models in rats. *Int. And Pharm. Investigation*, 9, 187-194.

Tamayo, L. M. A., Arteaga González, D. M., Garcés, Y. J. (2008). Propiedades farmacológicas del AlgarroboAlgarrobo (*Hymenaea courbaril* Linneaus) de interés para la industria de alimentos. *Revista lasallista de Investigación*, 5 (2), 100- 111.

Utrera, M.; Morcuende, D.; Ganhão, R.; Estévez, M. (2015). Role of phenolics extracting from *Rosa canina* L. on meat protein oxidation during frozen storage and beef patties processing. *Food Bioproc. Technol.*, 8(4), 854-864.

Villalobos Delgado, L. H., Caro, I., Blanco, C., Bodas, R., Andrés, S. Giráldez F. J., Mateo, J. (2015). Effect of the addition of hop (infusión or powder) on the oxidative stability of lean lamb burger patties during storage. *Small Ruminant Research*, 125, 73-80.

Zagorec, M., Champomier Verges, M. C. (2017). Meat microbiology and spoilage. *Lawrie´s Meat Science*, 6, 187- 206.

Zhou G. H., Xu X. L., Liu Y. (2010). Preservation technologies for fresh meat- A review. *Meat Science*, 86, 119- 128.

Zweifel, C., Capek, M., Stephan, R. (2014). Microbiological contamination of cattle carcasses at different stages of slaughter in two abattoirs. *Meat Science*, 98, 198- 202.



CAPÍTULO 4: Aportes significativos y conclusiones finales.

1. Innovación y desarrollo para la puesta en valor de la biodiversidad

La biodiversidad constituye la base del patrimonio natural y representa un recurso estratégico, cimienta de una gran variedad de bienes y servicios ambientales esenciales para el desarrollo humano. Los estudios realizados durante la ejecución de esta tesis aportan al conocimiento y puesta en valor de los mismos. En este sentido en el Capítulo 1 se describe el aprovechamiento sustentable y sostenible de recursos naturales, mediante la obtención y caracterización de extractos naturales en busca de potenciales antioxidantes y antimicrobianos, procedentes de hojas de especies arbóreas típicas del Gran Chaco Americano. En tanto que en el Capítulo 2 se estudian dos de los sistemas productivos caprinos más ampliamente usados en la región del NOA, con el objeto de valorizar la calidad de la carne procedentes de los mismos y contrastarlos. Por último, en el Capítulo 3, se innova en el uso y aplicación de los extractos obtenidos de los recursos naturales de la región sobre carne fresca y refrigerada de rumiantes menores, también éstos, de amplia presencia en la región. La posibilidad de ofrecer al mercado carne caprina y ovina (que en la mayoría de los casos procede de pequeños productores, en ocasiones de economías de subsistencia) en diferentes presentaciones: chuletas, hamburguesas y filetes con el agregado de compuestos bioactivos de origen vegetal constituye también una innovación y un desarrollo valioso que aportaría al agregado de valor de estos productos regionales.

2. Conclusiones Finales

2.1. Capítulo 1

- Las hojas de AB, T y M constituyen una fuente valiosa de compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes.
- La CA de las hojas AB y T se puede atribuir a la presencia de procianidinas y tocoferoles, mientras que la CA hallada en hojas M, al carecer de tocoferoles, podría deberse solo a la presencia de procianidinas.
- La mayor eficiencia en la extracción de compuestos bioactivos se obtuvo con mezclas de acetona: agua en las proporciones 50:50 y 70:30 v/v.

- Los resultados obtenidos en CFT, procianidinas y en las determinaciones de CA por diferentes métodos se vieron influenciados por el solvente de extracción y las proporciones empleadas, así como también por el material vegetal ensayado.
- Las especies vegetales con mejor performance fueron AB y T, por lo tanto, los extractos obtenidos de sus hojas podrían ser utilizadas para prevenir procesos oxidativos de una matriz cárnica.
- No se logró demostrar capacidad antimicrobiana de los extractos a base de acetona e infusiones mediante el empleo de cepas de referencia. Por lo tanto, los extractos no serían eficientes en prevenir el deterioro microbiológico de un producto alimenticio durante su almacenamiento refrigerado.

A partir de las conclusiones presentadas, se acepta parcialmente la hipótesis planteada, ya que se demostró que los compuestos bioactivos de las especies estudiadas tienen potencial antioxidante, pero no potencial antimicrobiano.

2.2. Capítulo 2

- Los tipos de alimentación evaluados en cabritos influyen en el pH de la carne medido 24 h *post mortem*, siendo el pH de la carne procedente del sistema silvopastoril menor que el de la carne procedente de la alimentación a corral. A pesar de ello, los valores de pH registrados en carnes procedentes de corral son reconocidos como normales para carnes de esta especie, las cuales se considera susceptibles al estrés.
 - La alimentación ofrecida a los animales no influyó en la CRA.
 - El efecto alimentación tuvo influencia en el parámetro b* de color, registrándose mayores tonos amarillos en carne procedente de corral, y en lo que respecta a los valores de L* y a*, se observa una tendencia de la carne de corral a tener menor luminosidad y mayores tonos rojos, con respecto a la carne procedente del sistema silvopastoril.
 - La alimentación ofrecida también influyó en las PPC, y los parámetros dureza y elasticidad del TPA, siendo estos mayores en carnes procedentes del sistema de alimentación a corral en comparación con la del silvopastoril.

En base a las conclusiones alcanzadas en el presente ensayo, se acepta parcialmente la hipótesis, ya que los sistemas de alimentación evaluados influyen en los parámetros de calidad de carne determinados, con excepción de la CRA.

2.3. Capítulo 3

- Se comprueba el efecto antioxidante hallado en las especies vegetales detallado en el Capítulo 1, especialmente de las hojas de AB.
- En los tres productos evaluados: chuletas de cordero, hamburguesas de cordero y filetes de cabritos, el extracto de AB fue el que tuvo mejor desempeño.
- Se destacó que el extracto de AB tuvo mejor efecto antioxidante en chuletas y hamburguesas de cordero con respecto a la oxidación de lípidos, así como también en oxidación de proteínas determinada en hamburguesas de cordero.
- La forma de incorporación del extracto a la matriz cárnica (pulverización en superficie de chuletas vs incorporación a la masa de hamburguesas) influye en el efecto antioxidante de los mismos:
 - En chuletas de cordero: el porcentaje de inhibición de lípidos con AB fue del 7,7%.
 - En hamburguesas de cordero el porcentaje de inhibición de lípidos con AB fue del 70%.
- En relación a los resultados obtenidos respecto a los elevados recuentos iniciales de microorganismos hallados en los filetes de cabrito, se considera necesario destacar la importancia de la implementación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES) en planta de faena como punto inicial de contaminación de la materia prima.
- Si bien en el Capítulo 1 no se demuestra un efecto antimicrobiano de los extractos con cepas ATCC, en este capítulo se destaca este comportamiento en el extracto AB respecto al desarrollo de enterobacterias y *S. aureus*, así como también en hongos y levaduras hasta los 5 días de almacenamiento en filetes de carne caprina procedente de la alimentación a corral.

A partir de las conclusiones alcanzadas en el capítulo 3, se acepta parcialmente la hipótesis, ya que no se pudo demostrar el efecto antimicrobiano de los extractos de Tusca.

De esta manera y con lo expuesto precedentemente, se considera que los resultados obtenidos durante el presente trabajo de Tesis dan lugar a conocimientos que podrán generar valor agregado a productos regionales a la vez que aporta a la estrategia de valorar la biodiversidad biológica.