

Caracterización y aprovechamiento de carne y grasa de reptiles provenientes de programas de manejo sustentable

Pamela M. L. Leiva^{a,b,c}, Florencia E. Valli^{a,b,c}, Carlos I. Piña^{a,b,c},
Marcela A. González^d, Melina S. Simoncini^{a,b,c}

Resumen

En muchas regiones, diversas especies de reptiles se asocian al patrimonio cultural de estas zonas. En algunos casos estos animales suelen percibirse como sagrados y, en otros, como tabúes relacionados con unas ideas negativas debidas a leyendas y creencias populares; todo esto restringe su consumo. Sin embargo, los pueblos originarios les atribuyen propiedades medicinales y valores nutricionales, aunque sin fundamento científico. Existen antecedentes de pobladores que utilizan la carne de lagartos, caimanes y serpientes como alimento y la grasa con fines medicinales. Los programas de manejo de reptiles suelen tener como objetivo la obtención y comercialización de su cuero. No obstante, la viabilidad de la sustentabilidad de dichos programas está condicionada por el valor en el mercado de los subproductos de las especies manejadas. Por lo cual, productos alternativos, como la carne y la grasa, suponen una opción para fortalecer la sostenibilidad económica de los programas de uso integral de reptiles. En Argentina existen tres especies de reptiles que son manejadas: el yacaré overo (*Caiman latirostris*), el lagarto overo (*Salvator merianae*) y curiyú (*Eunectes notaeus*). El uso de los subproductos alternativos de estas especies incrementa el retorno económico para los programas de uso sustentable y conservación de las especies y, además, podría ser replicado en otras escalas y con otras especies. Este capítulo describe la metodología que utilizamos para estudiar las características fisicoquímicas y organolépticas de las carnes, y para caracterizar las grasas y el aceite; además, compara los métodos de obtención del aceite, y expone los posibles usos de estos nuevos subproductos de especies de reptiles manejadas en Argentina.

Palabras clave: boa, caimán, caza, lagarto, rancheo

^aCICyTTP-CONICET/Prov. Entre Ríos/UADER, España 149, CP 3105 Diamante, Entre Ríos, Argentina.

^bProyecto Yacaré, Laboratorio de Zoología Aplicada: Anexo Vertebrados, FHUC/UNL, Aristóbulo del Valle 8700, CP 3000 Santa Fe, Santa Fe, Argentina.

^cFacultad de Ciencia y Tecnología/UADER, Tratado del Pilar 314, CP 3105 Diamante, Entre Ríos, Argentina.

^dDepartamento de Ciencias Biológicas, Cátedra de Bromatología y Nutrición, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Ciudad Universitaria, CP 3000 Santa Fe, Santa Fe, Argentina.

Correos electrónicos: pameleiva4@gmail.com; florr.valli@gmail.com; cidcarlos@infoaire.com.ar; maidagon@fbc.unl.edu.ar; melinasimoncini22@yahoo.com.ar

Autor de correspondencia: Pamela Leiva. Correo electrónico: pameleiva4@gmail.com

Caracterização e utilização de carne e gordura de répteis a partir de programas de manejo sustentável

Resumo

Várias espécies de répteis estão geralmente associadas ao patrimônio cultural de muitas regiões. Estes animais são frequentemente percebidos como sagrados e, em outros casos, como tabu, ou têm uma imagem negativa devido a lendas e crenças populares, o que restringiria seu consumo. Entretanto, o uso de répteis pode ser impulsionado por suas propriedades medicinais e valores nutricionais percebidos, gerados através da cultura dos povos nativos, embora sem base científica. Há uma história de uso da carne de lagartos, jacarés e cobras para alimentação e da gordura para fins medicinais. Particularmente, os programas de répteis estão focados na obtenção e comercialização do couro da espécie. O valor de mercado de uma espécie condiciona a possibilidade de realizar e manter um programa de uso sustentável. Portanto, estudar e promover produções alternativas, como carne e gordura, oferece a oportunidade de desenvolver e aproveitar outros subprodutos que ainda não foram explorados, fortalecendo programas de uso sustentável através do uso integral da espécie, tornando-os assim mais rentáveis. Na Argentina, há três espécies de répteis que são manejadas, Jacaré-do-papo-amarelo (*Caiman latirostris*), Teiú (*Salvator merianae*) e Sucuri (*Eunectes notaeus*). Assim, avaliações de possíveis aplicações ou usos de subprodutos não utilizados derivados destas espécies não apenas aumentariam o retorno econômico para o programa de uso sustentável e conservação das espécies, mas também dariam origem a novas atividades que poderiam ser realizadas em nível local, regional, nacional e até internacional, uma vez que os resultados poderiam ser replicados em outros países com outras espécies de répteis. Portanto, este capítulo descreve a metodologia utilizada para estudar a adequação da carne a ser consumida, para avaliar as características físico-químicas e organolépticas da carne, para caracterizar as gorduras e comparar os métodos de obtenção do óleo, bem como para determinar suas características e usos possíveis, e o desenvolvimento comercial potencial destes novos subprodutos derivados de espécies de répteis manejadas na Argentina.

Palavras chave: Caça, jacaré, lagarto, rancheo, sucuri.

Characterization and use of reptile meat and fat from sustainable management programs

Abstract

Several reptile species are generally associated with the cultural heritage of many regions. These animals are often perceived as sacred and, in other cases, taboo, or have a negative image due to popular legends and beliefs, which would restrict their consumption. However, the use of reptiles may be driven by their medicinal properties and perceived nutritional values, generated through the culture of local people, but without scientific basis. There is a history of local people using the meat of lizards, caimans and snakes for food and the fat for medicinal purposes. Particularly, reptile programs are focused on obtaining and marketing the skins of the species. The market value of a species conditions the possibility of carrying out and maintaining a sustainable use program. Therefore, studying and promoting alternative productions, such as meat and fat, provides the opportunity to develop and exploit other by-products that have not yet been explored, strengthening sustainable use programs through the integral use of the species, thus making them more profitable. In Argentina, there are three reptile species managed by programs, Broad snouted Caiman (*Caiman latirostris*), Black and white Tegu (*Salvator merianae*) and Yellow Anaconda (*Eunectes notaeus*). Thus, evaluations of possible applications or uses of unused by-products derived from these species would not only increase economic return for the program of sustainable use and conservation of those species, but would also give start to new activities that could be undertaken at local, regional, national and even international scale, as the results could be replicated in other countries with other reptile species. Therefore, this chapter describes the methodology used to study the suitability of the meat for consumption, to evaluate the physico-chemical and organoleptic characteristics of the meat, to characterize fats and compare methods of obtaining the oil, as well as to determine its characteristics and possible uses, and the potential commercial development of these new by-products derived from reptile species under management in Argentina.

Key words: alligator, boa, hunting, lizard, ranching.

Introducción

Son numerosos los ejemplos en los que la sobreexplotación de la fauna silvestre con fines comerciales ha llevado al declive de sus poblaciones. Particularmente en Argentina, varias especies de reptiles fueron cazadas de forma indiscriminada durante el siglo XIX y la primera mitad del XX (Bertonatti & Corcuera, 2000). Basta mencionar que millones de cueros de lagartos (*Salvator rufescens* y *Salvator merianae*), boas (*Boa constrictor occidentalis* y *Eunectes notaeus*) y caimanes (*Caiman yacare* y *Caiman latirostris*), entre los más importantes, fueron acopiados y comercializados con Europa durante ese período (Bolkovic & Ramadori, 2006). Esta sobreexplotación tuvo su fin con la formalización de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres

(CITES), la cual regula la comercialización de estas especies y sus subproductos a nivel provincial y nacional.

Actualmente, la Dirección de Fauna Silvestre (DFS) de la Nación Argentina considera el uso sustentable de la fauna silvestre como una herramienta que, si es bien utilizada, permite emprender acciones de conservación, tanto de las especies en particular como de sus ambientes en general (Ramadori, 2006). En este país existen diferentes planes de manejo y programas de uso sustentable de fauna silvestre; en el caso específico de los reptiles están: Proyecto Yacaré, Yacaré Porá, Caimanes de Formosa, Proyecto Tupinambis y Proyecto Curiyú (Figura 1). Estos programas no solo diseñan y aplican diferentes técnicas de manejo para el aprovechamiento sustentable de la fauna silvestre, sino que también incorporan acciones concretas de conservación y protección de los hábitats.



Figura 1. Reptiles utilizados para la obtención de carnes y grasas en Argentina. 1. Individuos de yacaré overo (*Caiman latirostris*) juveniles en cautiverio pertenecientes al programa de uso sustentable y conservación "Proyecto Yacaré", Santa Fe. 2. Individuo silvestre de lagarto overo (*Salvator merianae*) en Santa Fe. 3. Individuo silvestre de curiyú (*Eunectes notaeus*) en Formosa.

El valor de los subproductos de una especie en el mercado condiciona la viabilidad de un programa de manejo y uso sustentable. Los programas de manejo de reptiles suelen tener como objetivo la obtención y comercialización de su cuero. Por esta razón, productos alternativos, como la carne y la grasa, suponen un apoyo a la sostenibilidad económica de este tipo de programas de uso integral de reptiles. Estas acciones podrían financiar estudios biológicos, medidas de control y fiscalización de su captura y comercialización, readecuación de medidas de manejo y, fundamentalmente, generación de medidas de conservación a largo plazo. Asimismo, el desarrollo y aprovechamiento de los subproductos alternativos de reptiles provenientes de planes de manejo sustentables puede suponer una oportunidad para que las personas vinculadas a dichos planes mejoren su situación socioeconómica: por un lado, aumenta la demanda de mano de obra y, por otro, suben los ingresos derivados de la actividad.

Entre las culturas locales, los reptiles suelen percibirse bien como sagrados y, en otros casos, como tabúes, o bien poseen una imagen negativa debido a leyendas y creencias populares; todo esto restringe su consumo (Alves *et al.*, 2012). Por su parte, el uso de subproductos de diversas especies de reptiles suele ser patrimonio cultural (Aguirre *et al.*, 2006; Cawthorn & Hoffman, 2016) de los pueblos originarios, y se basa en las propiedades medicinales y en los valores nutricionales que estas comunidades les atribuyen; a pesar de esto, no hay un fundamento científico que respalde esta

valoración (Fitch *et al.*, 1982; Auffenberg, 1988; Alves *et al.*, 2008; Hoffman, 2008; Teixeira *et al.*, 2020). Sin embargo, siempre se ha vinculado su consumo con el fin principal de comercializar su piel (Fitzgerald *et al.*, 1991).

También es importante señalar que el desconocimiento y las falsas creencias en las grandes urbes sobre la carne de animales silvestres hacen que esta sea un producto primario de lenta aceptación social. No obstante, en los últimos años la demanda de productos derivados de este tipo de animales, mal llamados exóticos, se ha incrementado por parte de la industria alimenticia, gracias a que dichos animales brindan alternativas naturales ricas en ácidos grasos esenciales de la familia omega 3 y omega 6 (Simopoulos, 1991; Wood *et al.*, 2004; Duda *et al.*, 2009; Comba *et al.*, 2010). Estas familias de ácidos grasos se presentan en altas concentraciones en los aceites de plantas, semillas y, particularmente, en animales como peces y reptiles (Hoffman, 2008; Tacon & Metian, 2013).

El uso de subproductos alternativos de especies de reptiles incrementa el retorno económico, lo cual permite generar programas de uso sustentable que apoyan la conservación de esas especies. Además, esto sirve para dar origen a nuevas actividades en diferentes escalas y con otras especies de reptiles. Asimismo, se debe tener en cuenta que la cacería de fauna silvestre es un medio de subsistencia para comunidades rurales tanto en Argentina como en otros países, ya sea por el consumo directo de la carne como

fuerza de proteínas o por la generación de insumos económicos a través de su comercialización. En muchas áreas rurales la carne procedente de la caza garantiza la soberanía y la seguridad alimentaria, sostiene economías domésticas y mantiene identidades y tradiciones culturales.

En Argentina, los programas de uso sustentable de reptiles vigentes incluyen dos técnicas:

1. *Caza*. Implica la cosecha directa de animales del medio silvestre. Este sistema es utilizado por el Proyecto Tupinambis para la especie *Salvator merianae* (en las provincias de Jujuy, Salta, Formosa, Chaco, Catamarca, La Rioja, Tucumán, Santiago del Estero, Córdoba, Santa Fe, Entre Ríos, Corrientes y Buenos Aires) y por el Proyecto Curiyú para la especie *Eunectes notaeus* (en la provincia de Formosa). Estos programas establecen un cupo máximo de colecta en cada temporada de caza, y regulan el tamaño mínimo de los cueros. De esta forma, se limita la extracción de mayores cantidades de ejemplares según las tendencias del mercado.

2. *Sistema de encierro o cautiverio*. Consiste en un sistema intensivo con mayor intervención tecnológica en alimentación y/o reproducción, en el que la distribución espacial de los animales está rigurosamente controlada por barreras físicas. Dentro de esta categoría, a su vez, se encuentran dos subsistemas:

Ciclo cerrado. Son sistemas tradicionales de cría en cautiverio que regulan todas las etapas del ciclo de vida de las especies.

Ranqueo, cría en granjas o ciclo abierto. En este tipo de subsistema, una de las etapas, generalmente la reproductiva, tiene lugar en ambientes naturales, donde anualmente se cosechan los huevos o las crías, que son trasladados a instalaciones controladas para completar su manejo en cautiverio. Este subsistema es utilizado con caimanes en las provincias de Santa Fe, Formosa y Corrientes.

En el programa de uso sustentable del yacaré (*Caiman latirostris*) se han realizado estudios sobre su carne y su grasa (Simoncini *et al.*, 2020; Valli, 2020; Vera Candiotti *et al.*, 2021). El sistema de cría de los caimanes permite la manipulación dietaria, por lo que los autores de este protocolo hemos iniciado, por un lado, una línea de trabajo basada en el enriquecimiento nutricional de su alimento y la mejora de su carne (Piña *et al.*, 2016, Leiva *et al.*, 2021) y, por otro, hemos evaluado la aceptación y preferencia de los consumidores de la carne de caimán (Nepote *et al.*, 2021), lo cual ha permitido valorizar este producto en el mercado. Además, iniciamos evaluaciones para producir aceite de yacaré como un nuevo subproducto, proceso que nos ha permitido evaluar el procedimiento y la optimización de su obtención (Vera Candiotti *et al.*, 2021) y su calidad nutricional.

En relación con los programas de uso sustentable Proyecto Tupinambis (*Salvator merianae* y *Salvator rufescens*) y Proyecto Curiyú (*Eunectes notaeus*), si bien hasta el momento, han demostrado su éxito en estos años de trabajo, se han limitado al aprovechamiento del cuero y no han involucrado

otros subproductos, como carne o grasa. Los antecedentes de los programas de manejo de yacaré muestran la necesidad de realizar estudios sobre la carne y la grasa de curiyú y de lagartos, y de investigaciones que mejoren el desarrollo de tecnología aplicada a la obtención de nuevos subproductos. En concreto, estos proyectos (con sus propias regulaciones y autorizaciones) podrían derivar en la generación de materias primas (carne y grasa) con alto potencial de aprovechamiento, como ya ha sido demostrado con el uso de otras especies de reptiles en cosmetología y consumo humano (Buthelezi *et al.*, 2012; Khunsap *et al.*, 2016; Moussounga *et al.*, 2018). Todo esto permitiría generar nuevas actividades y desarrollar nuevos mercados en un marco legal.

El protocolo que se describe a continuación presenta la metodología que utilizamos para estudiar las especies de reptiles manejadas en Argentina, enfocada en los siguientes aspectos: i) aptitud de la carne para el consumo humano; ii) características fisicoquímicas y organolépticas de dicha carne; iii) características de sus grasas y aceite; iv) diferentes métodos de obtención del aceite; y v) posibles usos de estos nuevos subproductos.

Materiales y métodos

La metodología propuesta a continuación permite evaluar las características de carnes no convencionales (en este caso, carnes

de reptiles) para consumo humano, provenientes de programas de uso sustentable. Se centra en tres aspectos: i) uso comercial y aprovechamiento de productos que aún no han sido explorados, para valorizar los planes de manejo; ii) control de la calidad sanitaria en diferentes momentos del proceso; y iii) reconocimiento del potencial valor nutritivo de las carnes para contribuir a la seguridad alimentaria.

Por otro lado, esta metodología propone el desarrollo de un procedimiento analítico detallado para la obtención de aceite de la grasa de reptiles para uso humano. Esto permite un aprovechamiento integral de los animales vinculados a la parte comercial de los planes de manejo. En una última etapa, se propone la evaluación de los aceites para conocer sus beneficios como suplemento dietario o para su posible uso en cosmetología o en el campo de la medicina, mediante el estudio de su capacidad antimicrobiana y antiinflamatoria.

Implementación de la metodología

Primero, hay que verificar los permisos de colecta y tránsito de acuerdo con la legislación de cada país o sitio de trabajo. Además, la fecha en la cual se realiza la toma de muestras debe coincidir con la temporada de caza habilitada de la especie en estudio, la cual se establece en el plan de manejo correspondiente. Este no es un detalle menor, ya que la definición del periodo de cacería de una especie asegura su conservación y evita afectar a la población en los momentos más críticos del ciclo de vida (cortejo, cópula, gravidez, parto o postura).

Otros elementos importantes son la talla de los animales que se utilizan para la toma de muestras (la cual debe encontrarse dentro de los tamaños habilitados para cada plan de manejo) y conocer la cantidad de muestras (carnes o grasas) a obtener por cada individuo.

Un aspecto primordial para la implementación de una estrategia de trabajo es la perspectiva holística que requiere el estudio de una especie. Esta perspectiva nos permite entender que existe un sistema en el que se interrelacionan diferentes actores, sectores de la producción y de la sociedad, y múltiples factores que pueden influir en el proceso (Acerbi, 2006). En este sentido, el grupo de trabajo debe indagar y conocer las tareas vinculadas con la obtención de las muestras o material biológico: ubicación y características del sitio de recolección de muestras (distancias, accesibilidad, instalaciones disponibles para su toma y almacenamiento, condiciones de seguridad e higiene), tiempo (periodo o momento del año), actores involucrados (cazadores y pobladores, acopiadores, curtidores, productores, mercado legal e ilegal, etc.), disponibilidad y preparativos necesarios, entre otros. El revelamiento de estos datos es útil para los planes de manejo y su organización operacional. Además, esto permite obtener información desde la mirada social de los actores involucrados para desarrollar y articular estrategias de mejoras en campo. Concretamente, el conocimiento de estos aspectos ayuda a identificar las formas más adecuadas para adaptarse a diferentes situaciones con el fin de obtener,

con el menor esfuerzo posible, una muestra biológica de buena calidad.

Obtención de muestras: faena y condiciones

Se debe tener en cuenta en qué contexto son recolectadas las carnes y grasas pertenecientes al lagarto overo (*Salvator merianae*), al lagarto colorado (*Salvator rufescens*) y al curiyú (*Eunectes notaeus*). Los individuos de estas especies son capturados en la naturaleza y, por lo general, son faenados durante las travesías de caza o son trasladados a la casa de los cazadores (en las zonas rurales), lo que acarrea ciertas limitaciones de higiene durante el proceso de colecta. En cambio, en el caso de *Caiman latirostris*, los individuos son faenados en un frigorífico autorizado para tal fin, aunque es conveniente verificar que en los procedimientos aplicados no exista contaminación (Figura 2).

Como referencia, se recomienda la propuesta de protocolo de sacrificio para cocodrilianos (en este caso *C. latirostris*) mediante la dislocación cervical, procedimiento enmarcado dentro de la guía de buenas prácticas del Grupo Especialista en Cocodrilos, CSG/IUCN, por sus siglas en inglés (Manolis & Webb, 2016). A continuación, se describe el método, que requiere un lugar donde el animal pueda ser asegurado firmemente:

1. El corte de la médula espinal debe ser instantáneo, con un golpe de un martillo pesado en un cincel metálico puntiagudo situado entre el cráneo y la primera

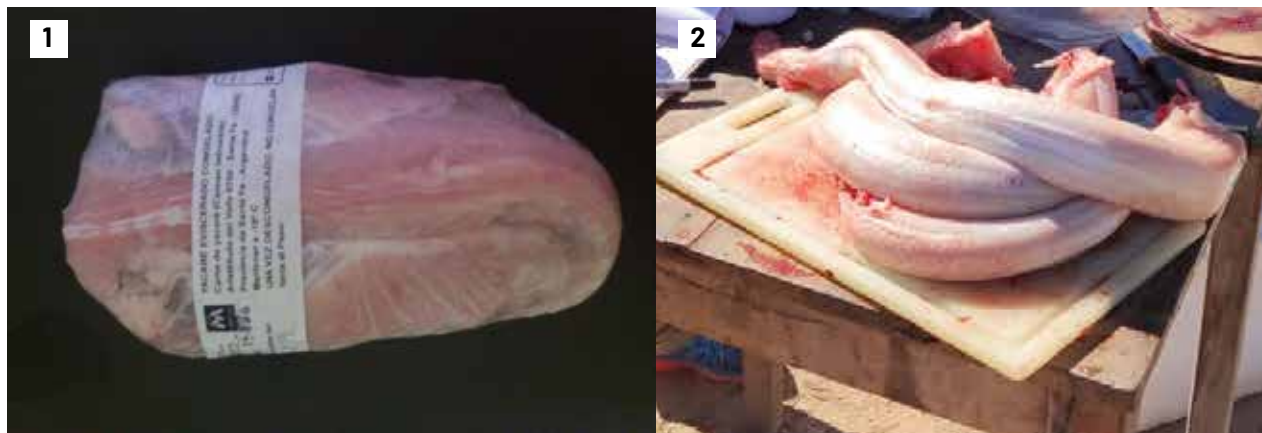


Figura 2. 1. Carne de yacaré overo (*Caiman latirostris*) faenada, lista para comercializar, perteneciente al Proyecto Yacaré/Yacarés Santafesinos. 2. Carne de individuo silvestre de curiyú (*Eunectes notaeus*) recientemente faenada para la obtención del cuero en Formosa, Argentina.

vértebra cervical, justo detrás de la plataforma craneal; también se puede usar un cuchillo afilado.

2. Inmediatamente después de la sección de la columna vertebral, el cerebro y la médula espinal deben ser destruidos mediante la inserción de una varilla de acero inoxidable o de metal en el cerebro. Posterior a este procedimiento, se desangra al animal. La sección de la columna vertebral permite retirar la piel de manera fácil, ya que reduce la necrosis *post mortem*. Es importante destacar que la sección de la columna vertebral sin destrucción de la médula espinal o del cerebro es un método inaceptable de sacrificio (Nevarez *et al.*, 2014).

Una vez finalizada esta etapa, se procede a la toma de muestras de los tejidos a evaluar: se colecta tejido muscular de diferentes secciones del cuerpo del animal (cuello, cachetes, carcaza, patas o cola) y tejido graso, dependiendo de la distribución

de esta en el animal (grasa visceral, grasa alrededor del cuerpo o cuerpo graso).

Caracterización fisicoquímica y microbiológica de la muestra

El análisis fisicoquímico (perfiles de ácidos grasos de los tejidos, proteínas, humedad, textura, parámetros oxidativos, entre otros aspectos) permite conocer la composición nutritiva de carnes y grasas y de los aceites obtenidos de estas, destinados a consumo humano y otros usos. Además, es importante realizar análisis microbiológicos en la etapa previa y en la posterior al almacenamiento y procesamiento de estos productos; por ejemplo, una vez la carne ha sido conservada en sal (carne seca), congelada o después de su cocción; en el caso de las grasas, una vez se ha obtenido el aceite.

En el caso particular de Argentina, el Código Alimentario Argentino establece dos categorías principales en cuanto a los criterios a seguir para la evaluación microbiológica

(de acuerdo con la Resolución MSyAS N° 003 del 11.01.95- de "Principios Generales para el Establecimiento de Criterios y Patrones Microbiológicos para Alimentos MERCOSUR" - GMC - RES N° 059/93):

- *Criterio obligatorio*: se utiliza para referirse a los microorganismos considerados patógenos y/o sus marcadores, que son de importancia para la salud pública y varían de acuerdo con la clase de alimento. En este caso, su hallazgo constituye razón suficiente para imputar la infracción y proceder en consecuencia, en forma preventiva o represiva, a imponer las sanciones que correspondan.
- *Criterio complementario (recomendatorio)*: es un criterio relativo a la evaluación del proceso tecnológico utilizado para la obtención de un producto. Puede orientar al fabricante o productor y aconsejarlo acerca de puntos sin control; seguirlo permitirá inferir o determinar la "falla", que se demuestra en los protocolos analíticos.

El análisis microbiológico debe realizarse, preferentemente, dentro de las 24 horas siguientes a la colecta de las muestras frescas y debe contar con la siguiente lista de microorganismos verificados, para informar no solo sobre su presencia/ausencia, sino además sobre su cuantificación. Se sugiere la aplicación de las técnicas recomendadas por el ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods): recuento de bacterias mesófilas aerobias; recuento de coliformes totales; presencia/ausencia de *Escherichia coli*; recuento, aislamiento e identificación de *Staphylococcus*

aureus; presencia/ausencia de *Salmonella spp.*, y aislamiento e identificación de *Clostridium perfringens*. Los análisis microbiológicos a realizar se deben corroborar de acuerdo con los procedimientos regulados por cada ente nacional de alimentos y nutrición.

El análisis microbiológico permite evaluar y realizar recomendaciones sobre los procedimientos durante la faena (método de faena, manipulación, etc.) y las diferentes formas de conservar las carnes y grasas (congeladas, saladas, a temperatura ambiente, etc.).

Evaluación de usos potenciales:

A partir de los resultados obtenidos de la caracterización físicoquímica de las carnes, se aconseja consultar a chefs especialistas en carnes y productos regionales sobre las posibles preparaciones de estas; posteriormente, es importante realizar pruebas de preferencia y aceptabilidad: una afectiva con los consumidores y otra descriptiva con los panelistas capacitados.

En el caso de las grasas y de los aceites obtenidas de estas, conociendo sus propiedades, el mejor método de extracción y sus características y la forma adecuada de conservarlas, se debe evaluar sus posibles usos (cosmetológicos o alimenticios). Se recomienda el uso de experimentos con ratas, tanto para estimar la capacidad antiinflamatoria como el potencial alimenticio. Además, para la evaluación antimicrobiana se sugiere utilizar ensayos en placas mediante microdilución contra cepas fúngicas y bacterianas.

Resultados esperados

Mediante la aplicación del protocolo propuesto, se obtienen datos para la caracterización fisicoquímica y microbiológica de carnes y grasas, estrechamente relacionada con el origen de las muestras, su modo de obtención y almacenamiento. Además, el proceso brinda ejemplos de experimentos para la evaluación de los usos potenciales, que permiten obtener resultados concretos sobre la aplicación de los productos. Destacamos que las conclusiones a las cuales se puede arribar con los análisis propuestos deben considerar el objetivo del estudio, ya sea este analítico, industrial, comercial o social.

Análisis de muestras

Estudios propuestos para evaluar las carnes de las especies de reptiles:

Rendimiento de la res

La evaluación del rendimiento se refiere al porcentaje de carne fresca obtenida (carne y carcasa) respecto al peso total del individuo vivo:

$$\frac{\text{Peso carne} \times 100}{\text{Peso total del individuo}}$$

Los pobladores acostumbran a conservar la carne en sal para elaborar el llamado "charqui" (Figura 3). Este proceso genera pérdida de agua en la carne y por lo tanto el rendimiento final es menor. Así, el cálculo del rendimiento de este tipo de carne puede estimarse relacionando el peso de la carne obtenida con el peso vivo del individuo, o también expresarse en relación con la carne fresca obtenida.



Figura 3. Carne silvestre de lagarto overo (*Salvator merianae*) obtenida en el marco del programa de uso sustentable "Tupinambis", sometida al proceso de salazón para la preparación de "charqui".

Caracterización de la carne

La composición fisicoquímica de la carne se conoce por medio de diferentes análisis. Los parámetros propuestos a continuación pueden variar de acuerdo con la condición de almacenamiento de la

muestra; es recomendable que esta sea almacenada a -20°C para mantener sus parámetros originales.

- Perfiles de ácidos grasos: determina los diferentes tipos de ácidos grasos presentes en las carnes, principalmente mediante la evaluación de la presencia de ácidos grasos esenciales y sus derivados poliinsaturados de cadena larga beneficiosos para la salud (Simoncini et al., 2020).
- Evaluación de color: se refiere al color de la carne, su luminosidad y aspecto (AMSA, 2012).
- Determinación de proteínas: define la energía y los aminoácidos presentes en la carne (AOAC 981.10, 2007).
- Contenido de humedad: establece la cantidad de agua contenida en las fibras musculares de la carne (AOAC 950.46, 2007).
- Determinación de lípidos: define el contenido de grasas entre las fibras musculares (AOAC 991.36, 2007).
- pH: caracteriza a la carne como ácida o básica.
- Determinación de la pérdida de peso de la carne durante su preparación o salado y por cocción: evalúa el rendimiento de la carne para el consumidor, ya que permite conocer cuánto peso se pierde en la preparación del alimento (Simoncini et al., 2020).
- Textura: caracteriza la dureza de la carne a través de la fuerza de corte aplicada

(AMSA, 2015) y del proceso de *rigor mortis* del músculo durante el enfriamiento para su almacenado a -20°C , a través de cortes histológicos de muestras (con diferente tiempo de congelamiento desde su faena: 0.5, 3, 7, 12, 24 y 36 horas) y de la determinación de la longitud del sarcómero. Con la ayuda de pinzas y bisturí se toman muestras de tejido, de aproximadamente 2,5 cm de largo por 1,5 cm de ancho y 0,5 cm de grosor, previamente asegurada por garras de metal. Las garras mantienen el músculo en condiciones y evitan la contracción o distensión de la fibra después de su retirada. Las muestras son fijadas en solución de formol bufferado (10 % p/v; pH: 7.2), deshidratadas por sucesivas soluciones de etanol, embebidas en parafina y procesadas histológicamente. Secciones de $5\ \mu\text{m}$ de espesor se colorean con hematoxilina ácida fosfotúngstica de Mallory para su posterior examen microscópico.

Este método, propuesto por Sloss & Kemp (1978), se basa en el recuento de diez sarcómeros de seis miofibrillas diferentes; dichos sarcómeros son medidos con un ocular milimetrado con una escala de $10\ \mu\text{m}$. El promedio obtenido se multiplica por un factor de corrección de la lente de inmersión y el valor se expresa en μm .

Estudios propuestos para caracterizar las grasas (depósitos lipídicos) de las especies de reptiles

Rendimiento

Al igual que con las carnes, se debe conocer el rendimiento o la cantidad de grasa que puede obtenerse de cada individuo. Los reptiles poseen un depósito lipídico conocido como cuerpo graso, además de otros pequeños reservorios entre las vísceras, que facilita sacar la grasa.

$$\frac{\text{Peso grasa} \times 100}{\text{Peso total del individuo}}$$

Análisis metabólico-nutricional

Estos análisis se enfocan en conocer la calidad de las grasas para posibles usos en humanos. Debe tenerse en cuenta que, aunque la mejor manera de conservar las características de dichas grasas es su congelamiento (-20 o -80 °C), los pobladores locales no suelen contar con el equipamiento adecuado para la refrigeración. Por esta razón, en áreas rurales, la grasa simplemente se deja secar o se almacena en un recipiente para su posterior uso o aplicación. Los parámetros propuestos en el protocolo se pueden aplicar en muestras con diferentes métodos de conservación para su comparación. Entre los parámetros para evaluar grasas se recomiendan los siguientes:

- Perfiles de ácidos grasos: la determinación de los tipos de ácidos grasos presentes en las grasas se realiza por cromatografía gaseosa y se evalúa la presencia de ácidos grasos esenciales beneficiosos para la salud, con particular énfasis en el contenido de AG poliinsaturados de la familia omega 3 (Leiva *et al.*, 2018). Esto permite conocer la calidad de la grasa y si esta se modifica según el método de conservación o posterior procesamiento.
- Índice aterogénico (IA): es considerado como un indicador de salud relacionado con el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Ulbricht & Southgate, 1991). Se estima mediante la relación de la suma de los ácidos láurico (C12:0), mirístico (C14:0) y palmítico (C16:0), y la suma de los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI).

$$IA = \frac{C12:0 + 4(C14:0) + C16:0}{\Sigma AGMI + \Sigma AGPI}$$

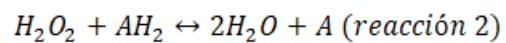
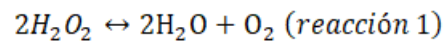
Análisis del estado oxidativo de la grasa

- Lipoperoxidación: este método permite determinar los hidroperóxidos lipídicos formados durante la fase de propagación de la oxidación por parte de radicales libres en el tejido animal. El protocolo experimental que se utiliza fue descrito por Ohkawa *et al.* (1979) y está basado en la determinación del malonildialdehído formado a partir de la reacción entre los peróxidos lipídicos

y el ácido tiobarbitúrico. Se emplea un espectrofotómetro para realizar la lectura de las muestras, ya que se genera una reacción colorimétrica que absorbe a una longitud de onda de 532 nm.

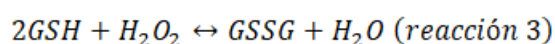
- Cuantificación de especies reactivas de oxígeno: las especies reactivas de oxígeno (ERO) son un subproducto inevitable de la respiración celular que causa la oxidación de lípidos, ácidos nucleicos y proteínas. El daño por las ERO es una causa subyacente de enfermedades como cáncer, inflamatorias y neurodegenerativas (Battin & Brumaghim, 2009). Los niveles de las ERO se pueden cuantificar utilizando el método 2'7'-diclorodihidrofluoresceína diacetato (DCFH2-DA) descrito por Wang *et al.*, (2015). La DCFH2-DA es un colorante permeable a la membrana celular, capaz de difundirse pasivamente dentro de las células, donde sus grupos acetato son clivados activamente por esterasas para formar 2'7'-diclorodihidrofluoresceína, los cuales al reaccionar con radicales libres forman el compuesto 2'7'-diclorofluoresceína, que es un compuesto fluoresce (Cathcart, 1983). La cuantificación de la intensidad de la fluorescencia se determina mediante un espectrofotómetro de fluorescencia ($\lambda_{excitación} = 485 \text{ nm}$, $\lambda_{emisión} = 538 \text{ nm}$) y los resultados se expresan como unidades de fluorescencia (UF) sobre miligramos de proteína. La concentración de proteínas se determina a través de la técnica de Lowry *et al.* (1951).

- Determinación de catalasa: la catalasa (CAT) es una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en oxígeno molecular y agua (reacción 1). A bajas concentraciones de H_2O_2 también cataliza la oxidación de varios donantes de hidrógeno (reacción 2), actúa como peroxidasa y utiliza como sustratos alcoholes, como el metanol y el etanol (Chance *et al.*, 1979; Johansson & Borg, 1988).



El H_2O_2 es un residuo del metabolismo celular que ejerce una función protectora contra ciertos microorganismos patógenos, pero debe ser transformado debido a que resulta tóxico para las células. Esta enzima, además del H_2O_2 , contribuye a eliminar radicales superóxidos e hidroxilos (Kangralkar *et al.*, 2010). La determinación se puede realizar mediante el método colorimétrico descrito por Aebi (1984). Este consiste en medir el decaimiento de la absorbancia por la degradación de H_2O_2 como consecuencia de la actividad enzimática. Las lecturas de las muestras se realizan con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 240 nm, y los resultados se expresan en términos de actividad enzimática específica en unidades sobre miligramos de proteína (U/mg). Una unidad de actividad se define como la cantidad de enzima requerida para transformar un μmol de sustrato por minuto bajo las condiciones de reacción adecuadas.

- Determinación de glutatión peroxidasa: el glutatión peroxidasa (GSH-Px) es una enzima selenio (Se) dependiente que cataliza la reducción del H_2O_2 (reacción 3) o lipoperóxido (L-OOH), utilizando como agente reductor el glutatión reducido (GSH) y el NADPH como cofactor. El H_2O_2 , así como la oxidación de los L-OOH, son metabolitos tóxicos para las células; como parte del mecanismo de defensa antioxidante, esta enzima los reduce en presencia del GSH, y transforma este último en glutatión disulfuro (GSSG)(Lam *et al.*, 1993).



La determinación del GSH-Px se lleva a cabo por el método colorimétrico descrito por Lawrence & Burk (1976), que consiste en medir el cambio de absorbancia debido

a la transformación del NADPH, como consecuencia de la actividad enzimática de la GSH-Px. Las lecturas de las muestras se realizan con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 340 nm, y los resultados se expresan en nmol/min.mg de proteínas.

Métodos de extracción del aceite

Los métodos de extracción de aceite a comparar deben seleccionarse de acuerdo con los objetivos del estudio (analítico, industrial o comercial) y las características de la especie en estudio. Hay diversas técnicas de extracción: fluidos supercríticos, prensado húmedo, extracción por solventes (hexano, cloroformo, metanol, éter de petróleo, isopropanol), calor, secado y decantación, o la combinación de algunas de estas, entre otras (Figura 4). Según nuestra experiencia, la obtención de aceite de



Figura 4. 1. Muestras de grasa de yacaré overo (*Caiman latirostris*) en cajas de Petri, que fueron sometidas a estufa para obtención de aceite. 2. Muestras de grasa de yacaré overo (*Caiman latirostris*) sometidas al proceso de fusión con manta de calor para obtención de aceite.

reptiles por parte de los pobladores locales, el cual se utiliza para prácticas medicinales, se basa en la obtención de la grasa, su secado y almacenamiento en un recipiente común a temperatura ambiente, donde el aceite va decantando.

Rendimiento y calidad

Para evaluar los posibles métodos de extracción de aceite a partir de las grasas, se deben comparar, en primera medida, teniendo en cuenta la mayor cantidad de aceite obtenido mediante el análisis gravimétrico, que considera el peso del aceite crudo o lípido obtenido y se expresa en % p/p del tejido comestible húmedo.

$$\text{Rendimiento total (\%)} = \frac{\text{peso del aceite (g)}}{\text{peso del tejido húmedo (g)} \times 100}$$

Calidad y análisis del estado oxidativo del aceite

- La calidad del aceite es evaluada por el perfil de ácidos grasos, el cual debe ser similar al de la grasa.
- Índice de peróxidos (IP): es una medida del O₂ unido a las grasas en forma de peróxidos. Como consecuencia de los procesos oxidativos (autooxidación), se forman especialmente hidroperóxidos, como compuestos de oxidación primarios, además de cantidades reducidas de otros peróxidos. El IP proporciona, por lo tanto, información acerca del grado de oxidación de la muestra y permite, con ciertas limitaciones, una

estimación de cuánto se ha alterado el aceite o en qué extensión este ha sufrido una autooxidación. El método consiste en el tratamiento de una muestra disuelta en ácido acético y cloroformo, utilizando solución de yoduro de potasio (IK), y en una posterior titulación del yodo liberado con solución valorada de tiosulfato de sodio (AOCS, 1993).

- Índice de anisidina: es una medida de los productos de la oxidación secundaria (Grompone, 1991). Los aldehídos que se derivan de la oxidación secundaria reaccionan con la anisidina, lo cual genera una variación de la absorbancia que se lee con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 350 nm (AOCS, 1993).
- Índice de Kreiss: es un método cualitativo que determina la rancidez en aceites y grasas comestibles por el color de las muestras. Este método se basa en mezclar el aceite con una solución de fluoroglicina y ácido clorhídrico, donde la producción de color rojo o rosado se debe a la reacción sensible entre la fluoroglicina y un compuesto presente en las grasas o aceites rancios como el aldehído malónico y el aldehído epidrínico (derivado de la oxidación del ácido linoleico, que es un ácido graso esencial en el aceite).
- Índice de Iodo: es una medida del grado de insaturación (números de dobles enlaces) de las grasas. Define como los gramos de yodo absorbidos por 10 g de grasa. Para su determinación se utiliza el reactivo de Hanus.

- Índice de saponificación: es la cantidad de hidróxido de potasio, expresado en miligramos, necesario para saponificar un gramo de aceite.
- Dienos y trienos conjugados: la determinación de estos es una alternativa para medir la oxidación primaria y los hidroperóxidos en aceites. La formación del hidroperóxido en la cadena de un ácido graso poliinsaturado produce el desplazamiento de un doble enlace hacia el carbono del grupo metilénico anexo, con la consecuencia de un dieno conjugado. A su vez, los trienos conjugados son una medida de muchos compuestos de oxidación secundaria formados por la degradación de peróxidos (Gray, 1978).
- Capacidad antioxidante: es un método para evaluar la presencia de compuestos antioxidantes, presentes en una muestra, que reaccionan con radicales libres. En esta técnica se utiliza el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), que es susceptible a reaccionar con compuestos antioxidantes a través de un proceso caracterizado por la cesión de un átomo de hidrógeno proporcionado por el agente antioxidante (Guija-Poma *et al.*, 2015).

Estabilidad oxidativa del aceite

- Los aceites deben conservarse en frascos color caramelo a temperatura ambiente y en heladera (5 °C), durante por lo menos dos meses, a fin de continuar midiendo regularmente (cada siete días) el índice de peróxidos y realizar el test de

anisidina con el objetivo de evaluar la estabilidad de este subproducto y su mejor método de conservación. También se considera necesario realizar el análisis microbiológico, ya que este aceite se puede destinar para consumo humano y usar como ingrediente de productos que se aplican en humanos u otros animales.

Evaluación de usos potenciales de la carne y la grasa de reptiles

Luego de confirmar la ausencia de patógenos a través de los resultados de los análisis microbiológicos, se evalúan los posibles usos de la carne (consumo) y del aceite obtenido a partir de la grasa (consumo o como base para productos farmacológicos o cosmetológicos).

Carne

Si la carne es apta para consumo humano, como primera instancia, se deben llevar a cabo pruebas de preferencia y aceptabilidad: una afectiva con los consumidores y otra descriptiva con los panelistas especializados. Una vez se conocen las características fisicoquímicas, y con la colaboración de chefs especialistas en carnes y productos regionales, se deben valorar diferentes preparaciones.

- Pruebas con consumidores: son pruebas afectivas y su objetivo es obtener datos subjetivos relacionados con la aceptación de los productos. Como ejemplo,

los autores de este protocolo realizamos un estudio con 80 participantes reclutados. Los criterios que usamos con ellos y que sirven de guía para este tipo de pruebas son los siguientes: edades entre 18 y 64 años, no fumadores, sin alergias alimentarias y que coman carnes blancas (ya que las evaluaciones fueron realizadas con carnes consumidas habitualmente, como pescado y pollo). La idea es instruir a los sujetos para que prueben cada tipo de carne ofrecida y luego se enjuaguen la boca con agua entre cada una de las porciones, para minimizar cualquier efecto residual. Se debe utilizar una escala hedónica de nueve puntos, que va de 1 (no me gusta mucho) a 9 (me gusta mucho), para evaluar el aspecto, el aroma, el sabor, la textura y la aceptación general (Grosso *et al.*, 2017). También, se le debe solicitar a los sujetos que clasifiquen las muestras de menor a mayor preferencia (Lawless & Heymann, 2010).

- Panelistas capacitados: las pruebas proporcionan una descripción sensorial completa del producto y permiten determinar qué atributos de este tipo son importantes para su aceptación. En el estudio mencionado anteriormente participaron ocho panelistas capacitados en el análisis descriptivo de muestras en diferentes preparaciones de los tipos de carnes. Con base en esta experiencia, el reclutamiento de los panelistas se puede hacer mediante las siguientes pruebas: i) cuestionario de preselección; ii) agudeza para la descripción del producto y la detección de diferencias; iii)

clasificación de los atributos de sabor y textura; y iv) una entrevista personal. Asimismo, es importante que cumplan los siguientes criterios: que sean personas con dentición natural, con edades comprendidas entre 18 y 64 años, no fumadores, sin alergias alimentarias, disponibles para todas las sesiones, que estén interesados en participar y sean capaces de comunicar verbalmente las observaciones relativas al producto (Meilgaard *et al.*, 2006; Grosso y *et al.*, 2017).

Previamente a las pruebas con los panelistas, se realizan sesiones de capacitación y se elabora una lista de definiciones con las clasificaciones de intensidad de referencia, las cuales se colocan en las cabinas durante las sesiones de prueba (Nepote *et al.*, 2004; Grosso *et al.*, 2017). En las sesiones de capacitación y evaluación se utiliza un método de análisis descriptivo híbrido, que combina el análisis descriptivo cuantitativo (Tragon Corp., Redwood City, California, EE.UU.) y los métodos de análisis del espectro TM (Sensory Spectrum, Inc., Chatham, N.J., EE.UU.).

Aceite

En primera instancia, se deben evaluar los potenciales efectos benéficos de los aceites de reptiles, por ejemplo, como suplemento alimentario. Por lo demás, definir los mecanismos involucrados en el metabolismo lipídico en tejidos claves en animales de experimentación (ratas) alimentados con dietas ricas en grasas durante 60 días, en las que se usan los aceites como

suplementación o enriquecimiento dietario, podría dar un panorama de sus efectos al ser incorporados en la dieta humana. La actividad propuesta se refiere a valoraciones nutricionales y bioquímico-moleculares de parámetros relacionados con el metabolismo intermedio lipídico, principalmente en el hígado, así como a diversos factores involucrados en la modulación de procesos oxidativos e inflamatorios de los animales en experimento. Las evaluaciones metabólico-nutricionales realizadas en las ratas –como los parámetros antropométricos, la eficiencia energética y la ganancia de peso, los niveles de lípidos séricos y tisulares, las actividades de enzimas claves en la lipogénesis y β -oxidación en hígado y tejido adiposo, la determinación de sustancias reactivas al oxígeno en plasma y la capacidad antioxidante hepática, así como los análisis histopatológicos de hígado, entre otras– examinan la inclusión del aceite en una alimentación saludable.

La aplicación de los aceites de reptiles no se reduce solo a su consumo, sino también a su uso en cremas, pomadas o lociones, para lo cual es imprescindible el análisis de las potenciales características inmunológicas y antimicrobianas. Los pobladores locales utilizan el conocimiento adquirido a través de generaciones y aplican los aceites con fines terapéuticos y medicinales, aunque muchas veces sin respaldo científico. Sin embargo, existe evidencia de que la grasa y el aceite de algunas especies de reptiles tienen estas propiedades (Ferreira *et al.*, 2009; Buthelezi *et al.*, 2012; Khunsap *et al.*, 2016; Mukherjee *et al.*, 2017; Mishra *et al.*, 2020).

- Las actividades antimicrobianas de los aceites se pueden probar a través de ensayos en placas mediante microdilución contra cepas fúngicas y bacterianas (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida tropicalis*, *Penicillium*, entre otras). En una placa se colocan 100 μ l de caldo apropiado y el cultivo microbiano correspondiente de 100 μ l. Finalmente, se agregan los volúmenes apropiados de agua (94, 79, 76, 73, 70, 64, o 49 μ l) y de aceite de reptil (0, 15, 18, 21, 24, 30, o 45 μ l), seguido de 6 μ l de dimetilsulfóxido-DMSO. El agua, el aceite de reptil y el DMSO constituyen un volumen total constante de 100 μ l. Las placas son incubadas bajo las condiciones adecuadas para cada cepa y se utilizan controles positivos para cada una de ellas. El crecimiento microbiano se cuantifica por colorimetría y densidad óptica en un lector de microplacas.
- El potencial antioxidante de los aceites se puede evaluar teniendo en cuenta el diseño experimental de Buthelezi *et al.* (2012), destinado a ensayos antiinflamatorios tópicos y ensayos antiinflamatorios orales.

Ventajas y oportunidades

- Se propone el aprovechamiento integral del animal mediante el uso de subproductos que hasta el momento no son utilizados, por lo cual la obtención de las muestras no implica el sacrificio del ejemplar, debido a que forma parte del circuito comercial del cuero.
- El costo de las materias primas es bajo debido a que su obtención incluye la utilización de lo que se considera como “descarte” en el plan de manejo sustentable.
- Estos estudios valorizan el conocimiento de los pobladores locales y sirven para certificar sus prácticas de manejo, lo que crea un vínculo de estos con los investigadores.
- Los análisis propuestos generan el desarrollo de nuevos subproductos y actividades que incorporan a los pobladores locales involucrados, circunstancia que mejora la actividad económica local y los retornos económicos al programa.
- Las metodologías propuestas proporcionan información acerca de la calidad microbiológica y nutricional de carnes de caza, que son fuentes alternativas de proteínas para la población local.

Desventajas o retos

- Rechazo de los consumidores a productos o subproductos provenientes de reptiles, por cuestiones religiosas o culturales.
- La obtención de la materia prima para el aprovechamiento y desarrollo de nuevos productos está limitada a una época del año y a la cuota de caza permitida.
- La calidad de las muestras puede verse afectada por las distancias y las condiciones de los sitios donde se realiza la caza de los animales.
- El costo de procesamiento fisicoquímico, microbiológico y antimicrobiano es elevado, pero varía según el tipo de procesamiento y número de parámetros que se desea analizar.
- La viabilidad del desarrollo comercial depende del caudal de obtención de la materia prima y de su rendimiento, aunque es una actividad complementaria a otras.

Conclusiones

Este protocolo presenta una metodología para la evaluación y el desarrollo de propuestas de aprovechamiento de carne y grasa de reptiles (caimanes, boas y lagartos), algunos no utilizados actualmente, provenientes de planes de manejo sustentable. Todos los estudios propuestos permiten el desarrollo de nuevos subproductos y actividades que incorporan a los pobladores locales involucrados, lo cual mejora la actividad económica local y los retornos económicos al programa. De esta manera, se apoya no solo la conservación de estas especies, sino también la de otras que conviven en los mismos hábitats. Además, brinda información acerca de la calidad microbiológica y nutricional de carnes de caza que son fuentes alternativas de proteínas para la población local. Al mismo tiempo, el protocolo apoya la transmisión de información al colectivo de cazadores y su formación en buenas prácticas para el manejo de la carne de caza, que garanticen su buena calidad e inocuidad. Esto posibilita la implementación de sistemas de monitoreo de la recolección de carne silvestre y su comercio (o autoconsumo), con base en la integración de entidades cinegéticas locales y conocimientos científicos.

Agradecimientos

Agradecemos el financiamiento recibido por la Universidad Nacional del Litoral con el CAI+D Orientado 2016 y al Proyecto Yacaré/ Yacarés Santafesinos, PICT 2014 N°2212 (a cargo de Simoncini), PICT 2019 N°04300 (a cargo de Leiva) y por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Este documento ha sido financiado en parte por la Fundación Gordon and Betty Moore Foundation, a través del proyecto GBMF9258 a Fundación Natura.

Referencias

- Acerbi, M. (2006). Enfoque sistémico en las producciones animales alternativas. En Carlos M. Vieites (dir.), *Agronegocios Alternativos*. FAUBA.
- Aebi, H. (1984). Catalase "in vitro". *Methods in Enzymology*; 105,121-126.
- Aguirre, A. A., Gardner, S. C., Marsh, J. C., Delgado S. G., Limpus, C. J. & Nichols, W. J. (2006). Hazards associated with the consumption of sea turtle meat and eggs: a review for health care workers and the general public. *EcoHealth*, 3(3), 141-153. <https://doi.org/10.1007/s10393-006-0032-x>
- Alves, R. R., da Silva Vieira W. L. & Santana, G. G. (2008). Reptiles used in traditional folk medicine: conservation implications. *Biodiversity and Conservation*, 17, 2037-2049. <https://doi.org/10.1007/s10531-007-9305-0>

Alves, R. R. N., Vieira, K. S., Santana, G. G., Vieira, W. L. S., Almeida, W. O., Souto W. M. S., Montenegro, P. F. G. P. & Pezzuti, J. C. B. (2012). A review on human attitudes towards reptiles in Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment* 184(11), 6877–6901.

American Meat Science Association (2012). *Meat Color Measurement guidelines*. AMSA. https://meatscience.org/docs/default-source/publications-resources/hot-topics/2012_12_meat_clr_guide.pdf?sfvrsn=d818b8b3_0

American Meat Science Association (2015). *Research Guidelines for Cookery, Sensory Evaluation, and Instrumental Tenderness Measurements of Meat*. AMSA. <https://meatscience.org/docs/default-source/publications-resources/amsa-sensory-and-tenderness-evaluation-guidelines/research-guide/2015-amsa-sensory-guidelines-1-0.pdf?sfvrsn=6>

American Oil Chemists' Society. (1993). *Official methods and recommended practices of the American oil chemists' society* (4th ed.). AOCS.

Battin, E. E. & Brumaghim, J. L. (2009). Antioxidant activity of sulfur and selenium: a review of reactive oxygen species scavenging, glutathione peroxidase, and metal-binding antioxidant mechanisms. *Cell biochemistry and biophysics*, 55(1), 1-23. <https://doi.org/10.1007/s12013-009-9054-7>

Bertonatti, C. & Corcuera, J. (2000). *Situación ambiental argentina 2000 (No. P01 FVSA 17099)*. Fundación Vida Silvestre Argentina.

Bolkovic, M. L. & Ramadori, D. (2006). Manejo de fauna silvestre en la Argentina. *Programas de uso sustentable*, 15(3), 150-161.

Buthelezi, S., Southway, C., Govinden, U., Bodenstien, J. & du Toit, K. (2012). An investigation of the antimicrobial and anti-inflammatory activities

of crocodile oil. *Journal of ethnopharmacology*, 143(1), 325-330.

Cathcart, R., Schwieters, E. & Ames, B. N. (1983). Detection of picomole levels of hydroperoxides using a fluorescent dichlorofluorescein assay. *Analytical biochemistry*; 134(1), 111-116.

Cawthorn, D. M. & Hoffman, L. C. (2016). Controversial cuisine: A global account of the demand, supply and acceptance of "unconventional" and "exotic" meats. *Meat Science*, 120, 19-36. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.017>

Chance, B., Sies, H. & Boveris, A. (1979). Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological reviews*, 59(3), 527-605. <https://doi.org/10.1152/physrev.1979.59.3.527>

Comba, A., Maestri, D. M., Berra, M. A., Garcia, C. P., Das, U. N., Eynard, A. R. & Pasqualini, M. E. (2010). Effect of ω -3 and ω -9 fatty acid rich oils on lipoxigenases and cyclooxygenases enzymes and on the growth of a mammary adenocarcinoma model. *Lipids in Health and Disease*, 9(1), 112. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-9-112>

Duda, M. K., O'shea, K. M. & Stanley, W. C. (2009). ω -3 polyunsaturated fatty acid supplementation for the treatment of heart failure: mechanisms and clinical potential. *Cardiovascular research*, 84(1), 33-41.

Ferreira, F. S., Brito, S. V., Costa, J. G., Alves, R. R., Coutinho, H. D. & Almeida, W. D. O. (2009). Is the body fat of the lizard *Tupinambis merianae* effective against bacterial infections? *Journal of Ethnopharmacology*, 126(2), 233-237. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.08.038>

Fitch, H. S., Henderson, R. W. & Hillis, D. M. (1982). Exploitation of iguanas in Central America. En G. M. Burghardt & A. S. Rand (eds.), *Iguanas of the world. Their behavior, ecology and conservation* (pp. 397-417). Noyes Publications.

- Fitzgerald, L. A., Chani, J. M. & Donadio, O. E. (1991). Tupinambis lizards in Argentina: implementing management of a traditionally exploited resource. En J. G. Robinson & K. H. Redford (eds.). *Neotropical wildlife use and conservation* (pp. 303-316). University of Chicago Press.
- Gray, J. I. (1978). Measurement of lipid oxidation: A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 55(6), 539-546. <https://doi.org/10.1007/BF02668066>
- Grompone, M. A. (1991). El índice de anisidina como medida del deterioro latente de un material graso. *Grasas y Aceites*, 42(1), 8-13. <https://doi.org/10.3989/gya.1991.v42.i1.1272>
- Grosso, A. L., Asensio, C. M., Grosso, N. R. & Nepote, V. (2017). Sensory Quality Preservation of Coated Walnuts. *Journal of Food Science*, 82(1), 185-193. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13570>
- Guija-Poma, E., Inocente-Camones, M. A., Ponce-Pardo, J. & Zarzosa-Norabuena, E. (2015). Evaluación de la técnica 2, 2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte Médico*, 15(1), 57-60.
- Hoffman, L. C. (2008). The yield and nutritional value of meat from African ungulates, camelidae, rodents, ratites and reptiles. *Meat Science*, 80(1), 94-100. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.05.018>
- Johansson, L. H. & Borg, L. H. (1988). A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Analytical Biochemistry*, 174(1), 331-336. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(88\)90554-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(88)90554-4)
- Kangralkar, V. A., Patil, S. D. & Bandivadekar, R. M. (2010). Oxidative stress and diabetes: a review. *International Journal of Pharmaceutical Applications*, 1(1), 38-45.
- Khunsap, S., Vesaratchapong, T., Laongbao, P., Chanhome, L., Buranapraditkun, S., Pakmanee, N. & Boonchang, S. (2016). Antioxidant, Anticancer Cell Lines and Physiochemical Evaluation of Cobra Oil. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 4(3), 21-27. <https://doi.org/10.18782/2320-7051.2296>
- Lam, K. W., Wang, L., Hong, B. S. & Treble, D. (1993). Purification of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase from bovine retina. *Current Eye Research*, 12(1):9-15. <https://doi.org/10.3109/02713689308999490>
- Lawless, H. T. & Heymann, H. (2010). Acceptance testing. In *Sensory evaluation of food. Principles and Practices* (pp. 325-347). Springer.
- Lawrence, R. A. & Burk, R. F. (1976). Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochemical and biophysical research communications*, 71(4), 952-958. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(76\)90747-6](https://doi.org/10.1016/0006-291X(76)90747-6)
- Leiva, P. M. D. L., Labaque, M. C., Fernández, M. E., Piña, C. I. & Simoncini, M. S. (2018). Physical and chemical characteristics of fertile and infertile eggs of wild *Caiman latirostris*. *Aquaculture*, 497, 287-291. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.002>
- Leiva, P. M. L., Frutos, A. E., Lavandera, J, Simoncini, M. S., Labaque, M. C., Bernal, C., Piña, C. I. & González, M. (en prensa). Effect of flaxseed and flaxseed oil supplemented in caiman diet on meat fatty acids. *Tropical Animal Health and Production*.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. (1951). Protein measurement by folin-phenol reagent. *Analytical biochemistry*, 193(1), 265-275.
- Manolis, S. C. & Webb, G. J. (2016). *Best management practices for crocodilian farming*. IUCN-SSC Crocodile Specialist Group, Australia.

Meilgaard, M. C., Carr, T. B. & Civille, V. G. (2006). *Sensory evaluation techniques* (4th ed.). CRC press.

Mishra, B., Akhila, M. V., Thomas, A., Benny, B. & Assainar, H. Formulated Therapeutic Products of Animal Fats and Oils: Future Prospects of Zootherapy. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 10(2), 112-116. <https://doi.org/10.5530/ijpi.2020.2.20>

Moussounga, J. E., Dzondo Gadet, M., Pambou Tobi, N. P. G., Tamba Sompila, A. W. G., Zassi-Boulou, A. G., Diaboua, J. F. & Desobry, S. (2018). Physicochemical characterization and technological valorization of python fat (*Python sebae*) of congo Brazzaville. *Internacional Journal of Current Research*, 10(02):65315-65322.

Mukherjee, S., Gomes, A. & Dasgupta, S. C. (2017). Zoo Therapeutic uses of Snake Body Parts in Folk: Traditional Medicine. *Journal of Zoological Research*, 1(1), 1-9.

Nepote, V., Mestrallet, M. G. & Grosso, N. R. (2004). Natural antioxidant effect from peanut skins in honey-roasted peanuts. *Journal of Food Science*, 69(7), 295-300. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb13632.x>

Nepote, V., Lábaque, M. C., Quiroga, P. R., Leiva, P. M. L., Paez, A. R., Piña, C. I. & Simoncini, M. S. (2021). Sensory analysis and volatile compounds in *Caiman latirostris* meat in comparison with other traditional meats. *British Food Journal*. <https://doi.org/10.1108/BFJ-04-2021-0360>

Nevarez, J. G., Strain, G. M., Da Cunha, A. F. & Beaufrère, H. (2014). Evaluation of four methods for inducing death during slaughter of American alligators (*Alligator mississippiensis*). *American Journal of Veterinary Research*, 75(6):536-543. <https://doi.org/10.2460/ajvr.75.6.536>

Ohkawa, H., Ohishi, N. & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, 95(2), 351-358. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)

Piña, C. I., Lucero, L., Simoncini, M., Peterson, G. & Tavella, M. (2016). Influence of flaxseed enriched diet in Broad-snouted caiman (Crocodylia: Alligatoridae) meat. *Zootecnia Tropical*, 34, 25-33

Ramadori, D. (2006). Uso sustentable de fauna silvestre. Una herramienta para la conservación. En M. L. Bolkovic & Ramadori, D. (eds.). *Manejo de Fauna Silvestre en la Argentina. Programas de uso sustentable* (pp. 9-14). Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable.

Simoncini, M., Lábaque, M. C., Perlo, F., Fernández, M. E., Rey Paez, A., Leiva, P. M. L., Teira, G., Larriera, A. & Piña, C. I. (2020). *Caiman latirostris* meat: Evaluation of the nutritional, physical and chemical properties of meat from sustainable ranching program in Argentina. *Aquaculture*, 515, 734570. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734570>

Simopoulos, A. P. (1991). Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 54(3), 438-463. <https://doi.org/10.1093/ajcn/54.3.438>

Sloss, M. W. & Kemp, R. L. (1978). *Veterinary clinical parasitology* (5th ed.). Iowa State University Press.

Tacon, A. G. & Metian, M. (2013). Fish matters: Importance of Aquatic Foods in Human Nutrition and Global Food Supply. *Reviews in Fisheries Science*, 21(1), 22-38. <https://doi.org/10.1080/10641262.2012.753405>

Teixeira, J. V. D. S., Santos, J. S. D., Guanaes, D. H. A., Rocha, W. D. D. & Schiavetti, A. (2020). Uses of wild vertebrates in traditional medicine by farmers in the region surrounding the Serra do Conduru State Park

(Bahia, Brazil). *Biota Neotropica*, 20(1), e20190793. <http://dx.doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2019-0793>.

Ulbricht, T. L. V. & Southgate, D. A. T. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*, 338(8773), 985-992. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)91846-M](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)91846-M)

Vera Candioti, L., Leiva, P. M., Valli, F., Bernal, C. A., Piña, C. I., Simoncini, M. S. & González, M. A. (2021). Optimization of oil extraction from caiman fat. Characterization for use as food supplement. *Food Chemistry*, 357, 129755. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129755>

Wang, X., Che, H., Zhang, W., Wang, J., Ke, T., Cao, R. & Luo, W. (2015). Effects of mild chronic intermittent cold exposure on rat organs. *International Journal of Biological Sciences*, 11(10), 1171-1180. <https://doi.org/10.7150/ijbs.12161>

Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E. & Enser, M. (2004). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science*, 66(1), 21-32. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(03\)00022-6](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00022-6)