
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

OXIDACIÓN LIPÍDICA, PROTEICA Y
PARÁMETROS DE CALIDAD DE LA CARNE DE
NOVILLOS ABERDEEN ANGUS TERMINADOS
CON CONCENTRADOS Y SUPLEMENTADOS
CON SELENIO ORGÁNICO

por

Franko David GRAZIANO DORADO

TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el título
de *Magister* en Ciencias Agrarias
opción Ciencias Animales

MONTEVIDEO
URUGUAY
Noviembre 2014

Tesis aprobada por el tribunal integrado por Lic. (Dra.) María Salhi (Presidenta), Ing. Agr. (Dr.) Néstor Sepúlveda (vocal) y Med. y Tec. Vet. (Phd) Alejandro Bielli (vocal), el 1 de diciembre de 2014. Autor: Lic. Franko David Graziano Dorado. Director: Dr. Ali Saadoun.

Dedico este trabajo a la memoria de Ana Ramos, compañera de investigación y amiga, quien sentía el laboratorio como su casa y siempre tuvo la mejor disposición ante mis consultas.

AGRADECIMIENTOS

A mi orientador de tesis el Dr. Ali Saadoun por confiar en mí y darme la oportunidad de realizar este interesante estudio.

A la Dra. Cristina Cabrera por su ayuda en las mediciones y por guiarme en el procesamiento de los datos.

A mi compañera de laboratorio Alejandra Terevinto por su ayuda en las mediciones, por compartir sus resultados y por su disposición ante cualquier duda.

A todo el grupo de laboratorio; Marta, Fernanda, Roberto, Carmen, por hacerme sentir siempre a gusto.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN	VI
SUMMARY	VII
1. <u>INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES</u>	1
1.1. CARNE BOVINA, PRODUCTO DE EXPORTACIÓN	1
1.2. TRANSFORMACIÓN DEL MÚSCULO EN CARNE	2
1.2.1. <u>Establecimiento del <i>rigor mortis</i></u>	3
1.2.2. <u>Maduración de la carne</u>	4
1.3. CALIDAD DE LA CARNE	5
1.3.1. <u>Oxidación</u>	5
1.3.1.1. Oxidación lipídica	6
1.3.1.2. Oxidación lipídica de la carne.....	9
1.3.1.3. Oxidación proteica.....	11
1.3.1.4. Oxidación proteica de la carne	14
1.3.2. <u>Color</u>	15
1.3.3. <u>pH</u>	17
1.3.4. <u>Drip loss</u>	18
1.4. RENDIMIENTO Y TIPIFICACIÓN DE LA CANAL.....	20
1.5. AGENTES ANTIOXIDANTES EN EL MÚSCULO.....	21
1.5.1. <u>Antioxidantes no-enzimáticos en el músculo</u>	22
1.5.2. <u>Enzimas antioxidantes en el músculo</u>	23
1.6. SELENIO	25
1.7. ANTIOXIDANTES EN LA DIETA DE BOVINOS Y OTROS ANIMALES DE PRODUCCIÓN	28
1.7.1. <u>Antioxidantes en pasturas y concentrados</u>	28
1.7.2. <u>Suplementación con vitamina E</u>	29
1.7.3. <u>Suplementación con selenio</u>	30

1.8. HIPÓTESIS.....	33
1.9. OBJETIVO.....	33
1.10. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
2. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	35
2.1. ANIMALES Y DIETAS.....	35
2.2. FAENA.....	35
2.3. EXTRACCIÓN DE MUESTRAS Y MADURACIÓN.....	36
2.4. DETERMINACIÓN DE LA OXIDACIÓN LIPÍDICA.....	37
2.5. DETERMINACIÓN DE LA OXIDACIÓN PROTEICA.....	38
2.6. MEDICIÓN DEL COLOR.....	39
2.7. MEDICIÓN DEL pH.....	39
2.8. DETERMINACIÓN DEL DRIP LOSS.....	40
2.9. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS.....	40
2.10. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA GLUTATIÓN PEROXIDASA.....	41
2.11. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	42
3. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	43
3.1. OXIDACIÓN LIPÍDICA.....	43
3.2. OXIDACIÓN PROTEICA.....	45
3.3. COLOR.....	48
3.4. pH.....	51
3.5. DRIP LOSS.....	52
3.6. ACTIVIDAD DE LA GLUTATIÓN PEROXIDASA.....	55
3.7. PARÁMETROS PRODUCTIVOS.....	60
3.8. TIPIFICACIÓN DE LA CANAL.....	61
6. <u>CONCLUSIONES</u>	63
7. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	65
8. <u>ANEXOS</u>	72
8.1. ABREVIATURAS.....	72
8.2. LIPID AND PROTEIN OXIDATION AND PARAMETERS OF MEAT QUALITY FROM ABERDEEN ANGUS STEERS FINISHED WITH CONCENTRATES AND SUPPLEMENTED WITH ORGANIC SELENIUM.	74

RESUMEN

Cortes cárnicos de alto valor comercial son madurados, siendo envasados al vacío y almacenados a bajas temperaturas, para mejorar la ternura y realzar su sabor. Los cortes son madurados más de 14 días y en algunos casos hasta 4 meses. Tiempos tan extensos aumentarían la oxidación de lípidos y proteínas a niveles que podrían afectar el color, sabor, ternura, pH, capacidad de retención de agua y valor nutricional de la carne. Existen antecedentes que suplementar con antioxidantes ayudaría a contrarrestar esta oxidación. En este trabajo se evaluó el efecto de la suplementación con selenio orgánico en novillos terminados con concentrados sobre la oxidación lipídica y proteica en los músculos *Longissimus thoracis* y *Psoas major*, frescos y madurados hasta 60 días. Además se les midió el color, pH, drip loss y actividad de la glutatión peroxidasa. La suplementación no afectó la oxidación lipídica en ninguno de los dos músculos madurados, pero fue efectiva en disminuir la oxidación proteica, aumentar el enrojecimiento y el amarillamiento y disminuir el pH en el *Longissimus thoracis* madurado, este efecto sería explicado por el aumento de la actividad de la glutatión peroxidasa en este mismo músculo debido a la suplementación con selenio. Además la suplementación fue efectiva en reducir el drip loss de los músculos madurados a largo plazo, derivados de novillos terminados con concentrados.

Palabras claves: carne, oxidación, glutatión peroxidasa, selenio.

LIPID AND PROTEIN OXIDATION AND PARAMETERS OF MEAT QUALITY
FROM ABERDEEN ANGUS STEERS FINISHED WITH CONCENTRATES
AND SUPPLEMENTED WITH ORGANIC SELENIUM

SUMMARY

Valuable meat cuts are aged in vacuum packing and stored at low temperature to enhance its tenderness and flavor. These cuts are aged for more than 14 days and even 4 months in some cases. Long times would increase oxidation of lipids and proteins to levels that could affect color, flavor, tenderness, pH, water holding capacity and nutritional quality of meat. There are antecedents which describe that antioxidant supplementation could help to reverse this oxidation. This study evaluated the effect of supplementation with organic selenium in steers finished with concentrates on lipid and protein oxidation of *Longissimus thoracis* and *Psoas major* muscles fresh and aged for 60 days. Beside we measured color, pH, drip loss and glutathione peroxidase activity. Supplementation had no effect on lipid oxidation in both aged muscles, but was effective to reducing protein oxidation, increased redness and yellowness and reducing pH of aged *Longissimus thoracis*, this effect would be explained by increased of glutathione peroxidase activity in this muscle due to supplementation with selenium. Furthermore the supplementation was effective to reducing drip loss of aged muscles for long times, derived from steers finished with concentrates.

Key words: meat, oxidation, glutathione peroxidase, selenium.

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Esta tesis se realizó en el marco del Proyecto “Efecto del selenio-levadura en la calidad de la carne de novillos Aberdeen Angus terminados en confinamiento” financiado por BIOTECH/ALLTECH, FACULTAD DE AGRONOMIA y FACULTAD DE CIENCIAS, llevado a cabo en el establecimiento del Ing. Agrónomo FRANCISCO ALBISU (AUPCIN) y en el FRIGORÍFICO SOLIS.

1.1. CARNE BOVINA, PRODUCTO DE EXPORTACIÓN

La carne es la porción comestible de los animales declarados aptos para la alimentación humana por la Inspección Veterinaria, y que comprende el tejido muscular y tejidos blandos que rodean al esqueleto una vez realizada la operación de faena (INAC 2014a). La carne aporta nutrientes valiosos y beneficiosos para la salud, contiene importantes niveles de proteínas de alto valor biológico, vitaminas, minerales y micronutrientes, los cuales son esenciales para el crecimiento y el desarrollo de nuestro organismo (FAO, 2014). Distintos animales domésticos pueden ser criados para producir carne, entre ellos los bovinos. Según el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) en todo el mundo se producen y se consumen alrededor de 58 millones de toneladas (peso canal) de carne bovina al año (USDA-FAS, 2014). Uruguay además de ser el mayor consumidor de carne bovina per cápita del mundo con aproximadamente 60 kg por año (INAC 2014b), se caracteriza principalmente por ser un país productor de carne bovina, ubicándose como el quinto exportador después de Brasil, India, Australia y Nueva Zelanda (USDA-FAS, 2014) y teniendo acceso a más de 100 destinos entre los cuales se destacan la Unión

Europea, la República Popular China, el NAFTA, el MERCOSUR, Israel y la Federación Rusa (INAC 2014c). En los últimos años Uruguay ha exportado más de 300 mil toneladas peso canal por año, generando ingresos de más de 1000 millones de dólares por año (INAC 2014c). La carne puede ser exportada enfriada, congelada o procesada. Dentro de las carnes enfriadas se encuentran los cortes bovinos de alta calidad como lomo, bife angosto, bife ancho, cuadril, bola de lomo y nalga (INAC 2014c, INAC 2014d), estos cortes previo a su exportación, como exigencia de algunos países importadores, deben sufrir un proceso de maduración prolongado, esto significa que son envasados al vacío y almacenados a 1-2 °C durante al menos 14 días, incluso algunos mercados exigen al menos 28 días de maduración. Este proceso se realiza porque está asociado a una mayor ternera e intensidad del sabor de la carne (Ouali *et al.*, 2006).

Generalmente, estos tiempos de maduración transcurren durante el transporte en barco hasta el destino, sin embargo también se comercializan estos cortes en el mercado interno, los cuales se encuentran al alcance del consumidor desde los primeros días luego de envasados y llegan a cumplir dos, tres y hasta cuatro meses de maduración.

Estos cortes y las carnes bovinas uruguayas en general, han sido tradicionalmente producidas en sistema de pastoreo, sin embargo para cumplir con distintos requerimientos de mercado, es cada vez más común la producción en sistemas de *Feedlot*, donde los bovinos son encerrados en corrales y terminados con concentrados.

1.2. TRANSFORMACIÓN DEL MÚSCULO EN CARNE

Una vez ocurrido el sacrificio animal, se lleva a cabo el proceso de transformación del músculo en carne. La carne es el resultado de dos cambios bioquímicos que ocurren en el período *post mortem*: el establecimiento del *rigor mortis* y la maduración.

1.2.1. Establecimiento del *rigor mortis*

En el músculo en reposo, el adenosín trifosfato (ATP) sirve para mantener el músculo en estado relajado. Tras la muerte del animal, cesa el aporte sanguíneo de oxígeno y nutrientes al músculo, de manera que el mismo debe utilizar un metabolismo anaeróbico para transformar sus reservas de energía (glucógeno) en ATP con el fin de mantener su temperatura e integridad estructural. El ATP formado se obtiene a través de la degradación de glucógeno en ácido láctico. Este último ya no puede ser retirado por el sistema sanguíneo, por lo tanto va a provocar el descenso del pH muscular. Además el ATP al ser hidrolizado ($\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i$), no solo libera energía sino protones H^+ que también son causa del descenso del pH. Este descenso provoca la desnaturalización de las proteínas limitando la capacidad de retención de agua. Al agotarse las reservas de glucógeno y disminuir la formación de ATP, se generan uniones irreversibles entre las moléculas de actina y miosina (responsables de la contracción muscular), formando cadenas rígidas de actinmiosina. Esto provoca el endurecimiento de la carne y reduce el espacio entre miofibrillas eliminando el agua al espacio extracelular provocando la pérdida de agua (Ouali *et al.*, 2006).

La liberación del agua y el endurecimiento aumentan durante las primeras 24 horas, período en el cual el *rigor mortis* es máximo. El tiempo de establecimiento e intensidad del *rigor mortis* está afectado por varios factores como temperatura, estrés pre-faena y composición muscular (del Puerto, 2009). Por ejemplo, temperaturas en el comienzo del *rigor mortis* entre 0-10 °C provocarían un acortamiento de los sarcómeros en un 50%, mientras que temperaturas entre 15-20 °C provocarían un acortamientos de 10%. Pero por precauciones microbiológicas no es fiable mantener las canales a 15-20 °C y menos cuando las canales son grandes y/o con mucha cobertura grasa, ya que esto desarrollaría un gradiente de temperatura entre los músculos internos y externos. Una solución sería el enfriamiento paso a paso, el cual consiste en enfriar rápidamente las canales hasta llegar a 10-

15 °C, manteniendo la temperatura por más de 6 horas para permitir el proceso de *rigor mortis* y luego enfriar a 4 °C o menos. Este sistema de enfriamiento prevendría el acortamiento por frío y además enfriaría la superficie del producto lo suficiente para limitar el crecimiento microbiano (Huff-Lonergan *et al.*, 2010).

1.2.2. Maduración de la carne

Luego de establecido el *rigor mortis*, si conservamos el músculo por encima del punto de congelamiento (1-2 °C), el músculo continúa sufriendo una serie de procesos bioquímicos que vuelven al músculo más tierno y realza su sabor, de esta manera el músculo se transforma en carne óptima para el consumo (Huff-Lonergan *et al.*, 2010). Este proceso se conoce como maduración de la carne y es por esto que las canales de los animales recién faenados son conservadas en cámaras frigoríficas por al menos 24-36 horas antes de ser distribuidas a la red comercial. Incluso la maduración puede llegar a extenderse hasta dos y cuatro meses, en busca de una mayor ternura y sabor, como se describió antes en el caso de los cortes envasados al vacío.

El aumento de la ternura es debido a la acción de varios sistemas enzimáticos endógenos con acción proteolítica, como el de las catepsinas, calpaínas y proteasomas que provocan la ruptura de las miofibrillas, y a cambios estructurales en el músculo debido a mecanismos fisicoquímicos complejos que involucran pH y fuerza iónica (Lamare *et al.*, 2002; Ouali *et al.*, 2006; Huff-Lonergan *et al.*, 2010). El sabor también se hace más intenso durante este proceso ya que los precursores del sabor se desarrollan durante este tiempo a partir de lípidos y proteínas (Ouali *et al.*, 2006).

Sin embargo, durante este proceso la carne podría sufrir daño oxidativo, afectando lípidos y proteínas. Luego de la acción microbiana, la oxidación lipídica es el principal mecanismo responsable del deterioro de los

alimentos y especialmente de la carne, afectando su sabor, color, jugosidad, textura, valor nutritivo e incluso llegar a producir compuestos tóxicos (Kanner, 1994; Morrissey *et al.*, 1998; Descalzo *et al.*, 2005; Campo *et al.*, 2006; Ouali *et al.*, 2006). Como consecuencia estos efectos pueden generar pérdidas económicas y trastornos de salud (Insani *et al.*, 2008).

1.3. CALIDAD DE LA CARNE

La calidad de la carne puede ser evaluada en varios aspectos como inocuidad alimentaria (higiene microbiológica, ausencia de residuos), atributos organolépticos (color, ternura, jugosidad, sabor, olor, veteado), valor nutritivo (cantidad de grasa, composición de ácidos grasos, valor proteico, minerales), calidad tecnológica (estabilidad oxidativa, capacidad de retención de agua, pérdida de agua por goteo, pH) y calidad social (bienestar animal, medio ambiente). Estos factores pueden variar según el individuo, raza, dieta, manejo pre-faena, tipo de músculo y temperatura y forma de maduración.

A continuación se describen algunos de los factores evaluados en el presente trabajo como oxidación lipídica y proteica, color, pH y pérdida de agua por goteo o drip loss, de la carne.

1.3.1. Oxidación

El proceso oxidativo es mediado por radicales libres que afectan principalmente los ácidos grasos insaturados dentro de los lípidos, los grupos hemo de los pigmentos, los aminoácidos de las proteínas y los doble enlaces conjugados de las vitaminas. Este proceso genera una reacción en cadena que es favorecida por la luz y el oxígeno (Insani *et al.*, 2008).

Las especies reactivas al oxígeno (ROS) son productos metabólicos secundarios normales, generados continuamente en las mitocondrias de la mayoría de las células. Son altamente reactivas e inestables debido al hecho de que contienen un electrón no apareado en su cubierta externa de electrones. Esta conformación le proporciona la habilidad de interactuar rápidamente con macromoléculas celulares como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, provocando un daño oxidativo y aumentando el riesgo de contraer enfermedades (Cecarini *et al.*, 2007). Sin embargo cabe destacar que en algunas células las ROS son esenciales para varios mecanismos de defensa (Seifried, 2003).

Las ROS incluyen radicales libres como el radical hidroxilo (HO^\bullet) (el más potente oxidante en sistemas biológicos), el radical anión superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), radicales peroxilos (ROO^\bullet) y radicales alcoxilos (RO^\bullet), y también incluyen los peróxidos como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los hidroperóxidos lipídicos (ROOH) (Morrissey *et al.*, 1998).

1.3.1.1. Oxidación lipídica

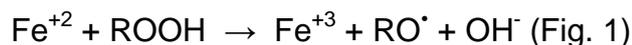
La oxidación lipídica ocurre mediante un mecanismo auto-catalítico de radicales libres que consiste en tres fases: *iniciación*, *propagación* y *terminación* (Fernández *et al.*, 1997).

La **iniciación** consiste en la remoción de un átomo de hidrógeno del grupo metileno ($-\text{CH}_2-$) localizado entre dos dobles enlaces de un ácido graso (RH) y se forma un radical lipídico (R^\bullet) (Fig. 1). Esta fase se ve favorecida si aumenta el número de doble enlaces del ácido graso, por ello los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) son más susceptibles a la oxidación. Y puede ser catalizada por radicales hidroxilos (HO^\bullet) o por ciertos complejos hierro-oxígeno como los radicales ferrilos o perferrilos (Morrissey *et al.*, 1998), estos últimos se originan por la reacción de proteínas hemo con el H_2O_2 , mientras que los HO^\bullet se originan por la radiólisis del agua o por la

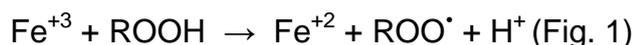
ruptura del H_2O_2 catalizada por metal (reacción de Fenton) (Halliwell y Chirico, 1993).

Durante la **propagación**, el radical lipídico (R^\bullet), luego de un re-arreglo molecular, reacciona rápidamente con el O_2 para formar un radical peroxilo (ROO^\bullet). Este es lo suficientemente reactivo como para propagar una reacción en cadena, quitando un átomo de hidrógeno de un ácido graso (RH) contiguo. De esta última reacción se forman un hidroperóxido lipídico (ROOH) y un nuevo radical lipídico (R^\bullet) (Morrissey *et al.*, 1998) (Fig. 1).

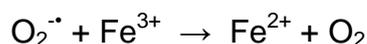
Los hidroperóxidos lipídicos (ROOH) son considerados los productos principales obtenidos a partir de la oxidación lipídica, son lábiles, de naturaleza transitoria y sufren cambios y deterioro por los radicales libres. Además de ser productos de oxidación, son también sustrato para posterior reacción con ion ferroso (Fe^{+2}) o ion cúprico (Cu^{+2}) para dar radicales alcoxilos (RO^\bullet). El ion ferroso (Fe^{+2}) puede reaccionar con el hidroperóxido lipídico (ROOH) generando un radical alcoxilo (RO^\bullet) y el ion férrico oxidado (Fe^{+3}) (Morrissey *et al.*, 1998):

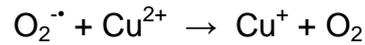


El ion ferroso reducido (Fe^{+3}) generado también puede reaccionar con el hidroperóxido lipídico (ROOH) regenerando el Fe^{+2} y generando un radical peroxilo (ROO^\bullet), aunque esta reacción sería más lenta que la anterior (Morrissey *et al.*, 1998):



El radical anión superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) también es capaz de reducir el Fe^{+3} y Cu^{+2} *in vivo*, continuando el ciclo redox y la transición de iones metales (Morrissey *et al.*, 1998):





El ácido ascórbico también puede reducir el Fe^{+3} a Fe^{+2} (Morrissey *et al.*, 1998).

Los nuevos radicales alcoxilo (RO^{\cdot}) y peroxilo (ROO^{\cdot}) generados reaccionan con otros ácidos grasos (RH) continuando la propagación (Fig. 1).

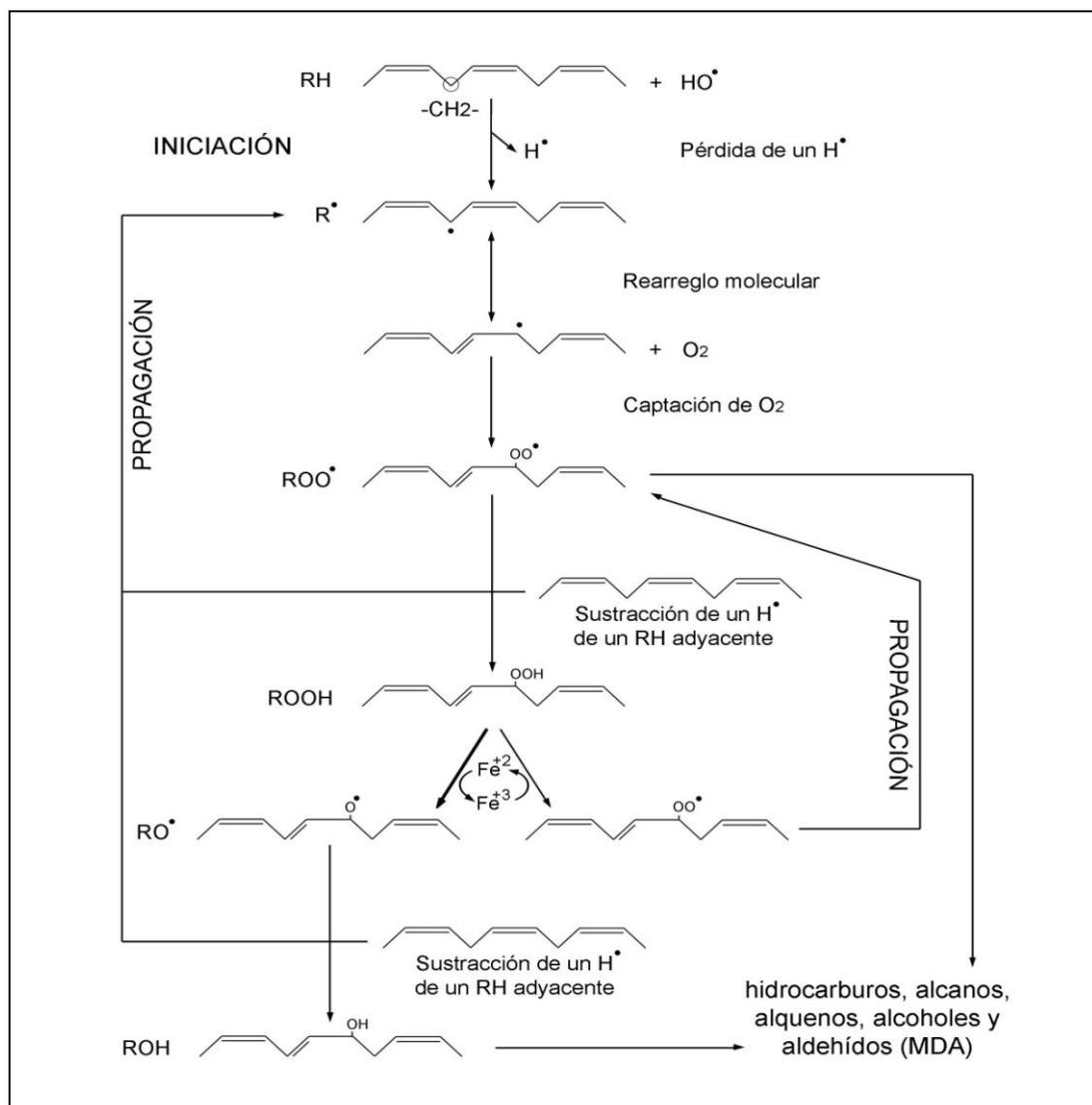
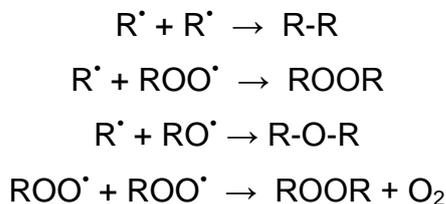


Figura 1. Representación esquemática de la oxidación lipídica. Iniciación, Propagación y parte de la Terminación.

Durante la **terminación**, los radicales libres en ausencia de oxígeno, reaccionan entre sí para dar diferentes productos más estables, generando dímeros y oligómeros lipídicos (Fernández *et al.*, 1997):



Además los radicales alcoxilo (RO[•]) y peroxilo (ROO[•]) pueden sufrir una serie de rearrreglos espontáneos y fragmentarse generando productos secundarios tales como hidrocarburos, alcanos, alquenos, alcoholes y aldehídos, entre ellos el malondialdehído (MDA) (Fig. 1), un iniciador carcinogénico y mutagénico que puede afectar a las proteínas y al ADN. Todos estos productos tienen algún grado de toxicidad (Cifuni *et al.*, 2004) y pueden afectar negativamente el olor, sabor, valor nutricional y por ende la calidad de los alimentos (Botsoglou *et al.*, 1997).

Uno de los métodos más utilizados para medir la oxidación lipídica es el test de TBARS, el cual consiste, como su sigla lo dice, en medir las Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico, básicamente el MDA (producto secundario de la oxidación lipídica) reacciona con el reactivo TBA agregado, generando un cambio en la absorbancia del medio, la cual es medida con el espectrofotómetro.

1.3.1.2. Oxidación lipídica de la carne

La oxidación lipídica es una de las mayores causas del deterioro en la calidad de los productos cárnicos tanto cocidos como crudos, durante el almacenamiento refrigerado o congelado (de Azevedo Gomes *et al.*, 2003). El proceso de oxidación lipídica probablemente comience inmediatamente después de la faena (Buckley *et al.*, 1995). Según Buckley *et al.* (1995) la

oxidación lipídica en alimentos formados por músculos se inicia en la porción altamente insaturada de los fosfolípidos de las membranas subcelulares de mitocondrias y microsomas, debido a que allí ocurre la transferencia de electrones y el O₂ es el aceptor de electrones generando H₂O, pero cuando no se genera H₂O se generan las ROS que inician el proceso auto-catalítico de oxidación lipídica.

Los cambios bioquímicos que ocurren durante la transformación del músculo en carne, como el descenso del pH y la ruptura de la estructura de las miofibrillas por acción de las peptidasas endógenas, favorecen las condiciones de oxidación (Morrissey *et al.*, 1998, Ouali *et al.*, 2006). La tasa y el grado de oxidación en alimentos formados por músculos están influenciados por eventos pre-faena como el estrés del animal y post-faena como la caída rápida del pH *post mortem*, temperatura de la canal y técnicas para aumentar la terneza como la estimulación eléctrica. Además, cualquier disrupción de la integridad de la membrana como deshuesado mecánico, picado o cocinado altera la compartimentalización celular, lo que facilita la interacción de agentes pro-oxidantes (hierro hemo, luz, oxígeno, altas temperaturas) con ácidos grasos insaturados resultando en la generación de radicales libres y la propagación de la reacción oxidativa (Buckley *et al.*, 1995, Cascone, 2005).

Durante el manejo, el procesamiento y el almacenamiento de la carne fresca, la liberación de hierro endógeno es parcialmente responsable de la catálisis de la oxidación lipídica (Descalzo *et al.*, 2005), ya que en el músculo hay pequeñas cantidades de hierro no proteico (no hemo) unido a moléculas como adenosina difosfato (ADP), pirofosfato o aminoácidos (AA) libres, y también hay hemoglobina y mioglobina como fuente de hierro hemo (Buckley *et al.*, 1995). Ese hierro se une a los AA, nucleótidos y fosfatos formando quelatos que son responsables de la catálisis de la oxidación lipídica en los tejidos (Morrissey *et al.*, 1998).

La propagación de esa oxidación lipídica en las membranas promueve la oxidación de la mioglobina resultando en el deterioro del color, además de

la formación de olores rancios y sabores no deseados en la carne (Descalzo *et al.*, 2005; Campo *et al.*, 2006).

Campo *et al.* (2006) realizaron un trabajo en carnes de novillos Angus y Charolais cruzados, envasadas a atmósfera modificada (MAP) con alto oxígeno, a distintos tiempos de maduración y para distintas dietas. Ellos concluyeron que el límite de aceptabilidad de la carne oxidada correspondería con valores de TBARS cercanos a 2 mg MDA/kg de músculo, basado en que mayores niveles fueron asociados con sabores anormales y rancios por parte de los panelistas. Por otra parte Greene y Cumuze (1981) establecieron el límite de aceptabilidad en el rango entre 0,6 y 2,0 mg TBA/kg de carne (Ripoll *et al.*, 2011). En ambos trabajos se usó el mismo método de destilación de Tarladgis *et al.* (1960) para medir los TBARS.

1.3.1.3. Oxidación proteica

La oxidación proteica es iniciada principalmente por reacciones con radicales hidroxilos (HO^\bullet), sin embargo el curso del proceso está determinado por la disponibilidad de O_2 y el radical anión superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) o su forma protonada, el radical hidroperoxilo (HO_2^\bullet). Conjuntamente estas ROS pueden desencadenar la oxidación de residuos de AA de cadenas laterales y del esqueleto de la proteína resultando en la formación de uniones cruzadas proteína-proteína y la fragmentación de proteínas (Berlett y Stadtman, 1997).

El ataque oxidativo del esqueleto polipeptídico es iniciado por la abstracción mediante un radical hidroxilo (HO^\bullet) del átomo α -hidrogeno de un residuo AA para formar un radical con carbono central (Fig. 2, reacción c). El HO^\bullet necesario para esta reacción puede ser obtenido por la radiólisis del agua (reacción a) o por la ruptura del H_2O_2 mediante la reacción de Fenton (reacción b) (Berlett y Stadtman, 1997). El radical con carbono central

generado, reacciona rápidamente con el O_2 para formar un radical alquilperoxilo intermediario (reacción d), el que puede formar un alquilperoxido (reacción f) seguido de la formación de un radical alcoxilo (reacción h, g), que puede ser convertido a un derivado proteico hidroxilo (reacción i, j). Muchos de estos pasos son mediados por interacciones con radicales hidroperoxilos (HO_2^\bullet) pero también pueden ser catalizados por Fe^{+2} o por Cu^+ (ion cuproso). Otros cationes divalentes (Mg^{+2} , Mn^{+2} y Zn^{+2}) pueden competir con el Fe^{+2} o Cu^+ por los sitios de unión a metales en proteínas y así prevenir la generación de sitios específicos a los radicales hidroxilos (HO^\bullet), interrumpiendo de esta manera el principal mecanismo de daño proteico. Además, el Mn^{+2} puede inhibir la reducción de Fe^{+3} a Fe^{+2} y así prevenir su habilidad para promover la formación de HO^\bullet por la reacción de Fenton así como la generación de otras formas de ROS (Berlett y Stadtman, 1997).

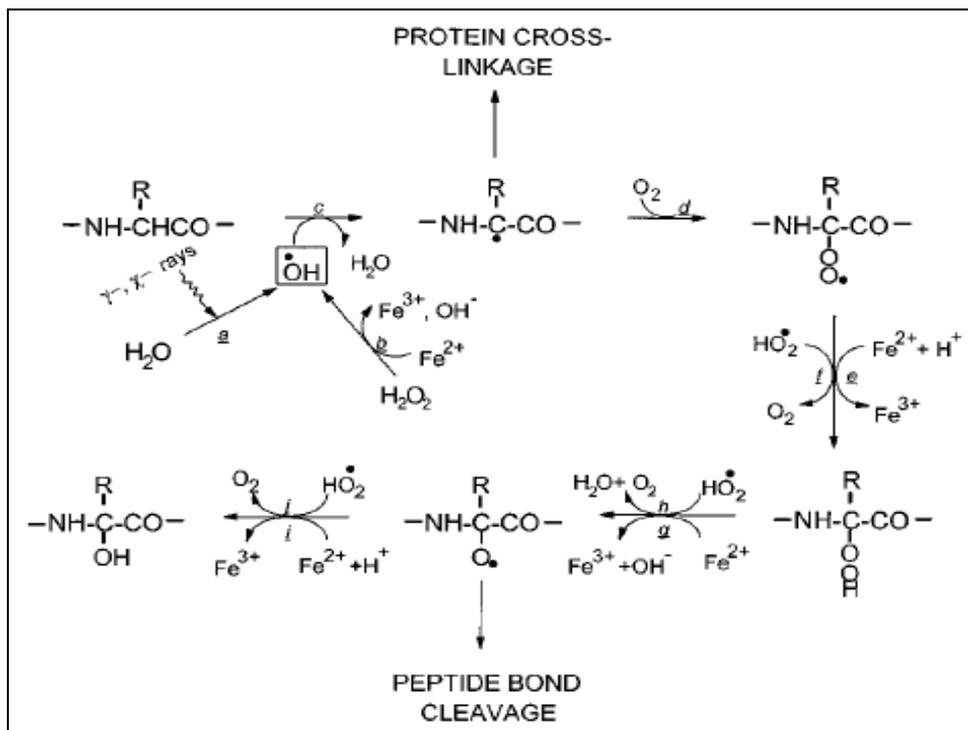


Figura 2. Representación esquemática de la oxidación de proteínas mediada por radicales libres. *Extraído de Berlett y Stadtman, 1997.*

En ausencia de oxígeno, cuando la reacción d es prevenida (Fig. 2), el radical con carbono central puede reaccionar con otro radical con carbono central para formar un derivado de unión cruzada proteína-proteína (Berlett y Stadtman, 1997).

La generación de radicales alcoxilos (RO•) fija la etapa de ruptura del enlace peptídico y como consecuencia la fragmentación de proteínas, que puede ocurrir por medio de dos vías, por diamida y α -amidación o como resultado del ataque de los radicales libres a cadenas laterales con ácido glutámico, aspártico y prolina (Berlett y Stadtman, 1997).

Todos los residuos de AA de las proteínas son susceptibles a la oxidación por HO•, aunque los más susceptibles son la metionina y la cisteína, seguidos de los residuos aromáticos: triptófano, fenilalanina y tirosina (Berlett y Stadtman, 1997).

La oxidación de residuos de lisina, arginina, prolina y treonina puede generar derivados carbonilos. Además, los carbonilos pueden ser introducidos en las proteínas mediante reacciones con aldehídos producidos durante la oxidación de lípidos, o mediante derivados carbonilos reactivos, algunos producto de la oxidación de azúcares y otros generados en la reducción de azúcares, como por ejemplo cetoaminas y cetoaldehídos (Berlett y Stadtman, 1997). Esto lleva a la formación de uniones cruzadas intra e intermoleculares que pueden favorecer la formación de agregados proteicos (Cecarini *et al.*, 2007).

La presencia de grupos carbonilos en las proteínas ha sido utilizada como marcador de la oxidación proteica mediada por ROS. El método DNPH es un procedimiento muy utilizado para cuantificar la cantidad total de carbonilos de las muestras de proteínas. El método se basa en la reacción entre la 2,4-Dinitrofenilhidrazina agregada, con los componentes carbonilos de la muestra proteica, para formar el producto 2,4-Dinitrofenilhidrazona, el cual manifiesta una máxima absorbancia alrededor de los 370nm (Estévez, 2011).

La oxidación de proteínas sufre procesos similares a los de la oxidación lipídica, como las etapas de iniciación, propagación y terminación (Ventanas *et al.*, 2006), y puede causar cambios en la estructura de los AA, aumento en la hidrofobicidad de las proteínas y pérdida en las actividades enzimáticas. Las proteínas oxidadas son comúnmente reconocidas y degradadas por proteasas intracelulares como el complejo proteasoma. Sin embargo, hay evidencia de que los radicales libres pueden reaccionar con estos complejos proteolíticos induciendo un descenso en su funcionalidad. Si las proteínas oxidadas no son eficientemente removidas, pueden acumularse y alterar la función celular y promover la toxicidad (Cecarini *et al.*, 2007).

1.3.1.4. Oxidación proteica de la carne

Este proceso está asociado a una pérdida de funcionalidad de las proteínas musculares, causando un aumento en la pérdida de agua, geles proteicos más débiles o emulsiones menos estables. Estas modificaciones pueden afectar negativamente la calidad sensorial de la carne fresca y de los productos cárnicos en términos de su textura, ternura, color, capacidad de retención de agua (WHC) y valor nutricional (Ventanas *et al.*, 2006; Estévez, 2011).

La oxidación proteica de la carne es altamente dependiente de la especie, de la dieta, del músculo y de las condiciones de almacenamiento (Insani *et al.*, 2008; Estévez, 2011). Estudios recientes han demostrado que la oxidación proteica también ocurre bajo condiciones de almacenamiento enfriado e incluso congelado (Estévez, 2011). Según Estévez (2011) existe una gran variación entre los datos reportados de diferentes autores que trabajaron con el mismo método (DNPH) y similares muestras de carne. No se conoce trabajo que imponga un límite de aceptación/rechazo para la oxidación proteica. En la carne cruda se registran niveles de entre 1-3 nmol

DNPH/mg de proteína, mientras que en productos manufacturados llegan a 5 nmol DNPH/mg de proteína o más, por ejemplo los jamones llegan a 9 nmol DNPH/mg de proteína (Estévez, 2011).

Podría existir una relación entre la oxidación proteica y la lipídica, según mediciones la oxidación lipídica es más rápida y los radicales e hidroperóxidos formados de los lípidos insaturados podrían atacar los aminoácidos de cadenas laterales susceptibles para producir derivados carbonilos (Berlett y Stadtman, 1997; Estévez, 2011).

1.3.2. Color

Como se ha descrito hasta aquí la oxidación lipídica y proteica pueden afectar ciertos parámetros de la carne, incluido el color. Además el color también puede ser afectado por el pH, como se describirá más adelante. El color de la carne es la primera característica que percibe el consumidor, aporta su primer juicio sobre la calidad del producto y es determinante en la decisión de compra.

El color está determinado principalmente por el contenido total de pigmentos hemo del músculo y por el estado de oxidación de los grupos hemo. El principal pigmento en el músculo es la mioglobina, constituido por un grupo prostético, formado por un átomo de hierro y un anillo porfirínico, y una proteína, la globina. Más importante que la cantidad de pigmentos presentes en el músculo, es el estado redox del átomo de hierro del grupo hemo y de la presencia o ausencia de oxígeno. Si el átomo de hierro está en su forma reducida (Fe^{+2}) la mioglobina se presenta como oximioglobina si está ligada al O_2 o como deoximioglobina si no está ligada al O_2 , dando origen a coloraciones rojo brillante o rojo-púrpura respectivamente. Mientras que si el átomo de hierro está en su estado oxidado (Fe^{+3}) la mioglobina se presenta como metamioglobina y origina coloraciones amarronadas (Larraín *et al.*, 2008; MacDougall, 1982). La carne bovina recién faenada presenta

color rojo púrpura dado por la mioglobina, la cual al entrar en contacto con el aire liga el O_2 y pasa rápidamente a oximioglobina dando coloraciones rojo brillante. A medida que transcurre el tiempo post-faena las oximioglobinas se oxidan pasando a metamioglobina y cuando el porcentaje de esta supera el 60% aparecen coloraciones amarronadas (del Puerto, 2009).

Además de la importancia de los pigmentos sobre el color de la carne, también tiene influencia la estructura muscular (relación tejido conectivo-grasa), la rugosidad superficial y la humedad como factores que afectan las propiedades ópticas de la luz (absorción, refractancia y dispersión) (Renerre, 1982). La dieta y el manejo pre-faena también pueden afectar el color, debido a que estos influyen sobre el pH último (pHu) y este está correlacionado con el color como se describe más adelante en la siguiente sección. Como antecedente Priolo *et al.* (2001) evaluaron el efecto de la dieta en bovinos y observaron que los alimentados a pasturas presentaron carnes más oscuras que los terminados con concentrados.

Para medir el color se utiliza normalmente el modelo cromático CIE $L^*a^*b^*$ o CIELAB. Desarrollado por la Commission Internationale d'Eclairage (Comisión Internacional de Iluminación), razón por la cual se abrevia CIE, mientras que L^* , a^* y b^* son los tres parámetros de color, L^* representa la luminosidad ($L^*=0$ indica negro y $L^*=100$ indica blanco), a^* representa la posición entre verde y rojo (valores negativos indican verde mientras valores positivos indican rojo) y b^* representa posición entre azul y amarillo (valores negativos indican azul y valores positivos indican amarillo). Según Hernández y Ríos (2009) se ha descrito en bovinos valores de L^* entre 32,2 y 47,6, valores de a^* entre 10,6 y 26,1 y valores de b^* entre 10,3 y 21,5.

1.3.3. pH

El pH es otro importante parámetro para evaluar la calidad de la carne, ya que como se mencionó anteriormente afecta el color y otros parámetros como terneza, WHC e higiene microbiológica, esto se debe a que afecta directamente las propiedades y estabilidad de las proteínas. Tanto la caída del pH durante la transformación del músculo en carne, como el pH último (pHu), que es medido aproximadamente a las 24hs *post mortem*, afectan las características organolépticas y tecnológicas de la carne. Una lenta disminución del pH durante las primeras horas *post mortem* de 7 a 7,3 hasta valores de 5,4 a 5,8 generaría una carne normal (Huff-Lonergan *et al.*, 2010). El proceso de acidificación normalmente dura 4 a 5 horas en porcinos, 12 a 24 horas en ovinos y 15 a 36 horas en bovinos (Drandsfield, 1994).

Las condiciones fisiológicas, alimentación y actividades del animal previo al sacrificio juegan un rol muy importante en la acidificación del músculo *post mortem*. En un animal sano, bien alimentado y descansado, el nivel de glucógeno de sus músculos es alto. Una vez sacrificado el animal, este glucógeno se convierte gradualmente en ácido láctico, provocando una correcta acidificación. Por el contrario, si las reservas de glucógeno se agotan antes del sacrificio, debido a que los animales sufrieron estrés con una intensidad sostenida o que los mismo hayan sido obligados a realizar un ejercicio físico prolongado, la acidificación *post mortem* será limitada ya que no habrá glucógeno muscular disponible para transformarse en ácido láctico, por lo tanto el pH muscular no descenderá hasta los valores normales, resultando en un pHu mayor a 6. Esto puede llevar a la aparición de carnes DFD que se caracterizan por ser oscuras, firmes y secas (Immonen *et al.*, 2000), además los altos pH favorecen la proliferación bacteriana por lo que estas carnes también se caracterizan por su corta vida media (Tarrant, 1989). En caso contrario, en situaciones de estrés agudo inmediatamente antes del sacrificio, el ácido láctico se acumula en el músculo, sin llegar a ser eliminado ya que su sacrificio es inmediato tras su producción. Esto genera

un brusco descenso del pH alcanzando valores menores a 6 en los primeros 45 min *post mortem*. Como consecuencia se obtienen carnes del tipo PSE que se caracterizan por ser pálidas, blandas y exudativas (Bendall y Swatland, 1988). Carnes PSE se presentan en cerdos y se han descrito en pavos por Pietrzak *et al.* (1997), mientras que carnes DFD afectan a todas las especies.

Se ha descrito que bovinos alimentados a pasturas llegan a pHu normales, pero mayores que los terminados con concentrados, debido a que los últimos tienen un mayor potencial glicolítico, por lo tanto los animales producidos en pasturas correrían mayor riesgo a tener pHu altos en caso de manejos pre-faena no adecuados (Priolo *et al.*, 2001).

1.3.4. Drip loss

El músculo magro contiene aproximadamente 75% de agua la cual se encuentra contenida en su mayor parte (85%) en los espacios entre los filamentos finos y gruesos y entre los grupos de fibras, el agua restante (15%) se encuentra retenida entre las proteínas unida por fuerzas electrostáticas (Cheng y Wen Sun, 2008). En el período *post mortem* disminuye el pH provocando que las proteínas de las membranas celulares pierdan sus cargas eléctricas responsables de mantener la atracción molecular del agua, a su vez se produce un acortamiento de las miofibrillas por el *rigor mortis*, por lo tanto el agua es eliminada hacia los espacios extracelulares. El agua establecida en los espacios extracelulares pueden perderse con facilidad por goteo o por evaporación (Tornberg, 2005).

El agua contenida en la carne es vehículo del sabor y contribuye en forma importante a su mejor deglución ya que afecta la jugosidad, textura y ternura. También afecta la apariencia de la carne ya que la pérdida de agua provoca una acumulación de líquido alrededor de esta lo que provoca el rechazo por parte del consumidor. Y también afecta el valor nutritivo ya que

se pierde hierro hemínico y otros minerales de alto interés para el consumidor exigente. Por lo tanto la capacidad de retención de agua (WHC) y la pérdida de agua por goteo (drip loss) juegan un importante rol a la hora de la elección por parte del consumidor. Además de la importancia para el consumidor, para el comerciante también es un parámetro muy importante, ya que la pérdida de agua constituye una disminución del peso final y la carne se comercializa por peso. Todo esto provoca que la industria cárnica tenga mucho interés en mejorar estos parámetros y que sean fundamentales al momento de determinar la calidad de la carne (Cheng y Wen Sun, 2008).

Se ha reportado que el drip loss en las canales es casi nulo, pero una vez realizado el despiece estas pérdidas son de alrededor del 1% (después de dos días de enfriamiento) y pueden además ser comparables con las pérdidas por evaporación. Cuando la carne es cortada en cortes comerciales, el drip loss se incrementa y alcanza alrededor del 2 al 6 % del peso de la carne magra después de cuatro días bajo condiciones de refrigeración; esto es alrededor del 1 al 3 % del peso total de los cortes. Si las canales son congeladas y descongeladas, estas pérdidas pueden ser aun mayores (Morón-Fuenmayor y Zamorano, 2004).

El porcentaje de drip loss puede variar según la especie y el tiempo de almacenamiento, como podemos ver en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Drip loss de diferentes tipos de carnes a distintos tiempo de almacenamiento.

Tipo de Carne	Tiempo	Pérdida de peso (g)	% de Pérdida
Pollo	24	0.073a,b	1.430a,b
	48	0.106b	2.075b
	72	0.146c	2.879c
Res	24	0.117a	1.801a
	48	0.187b	2.943b
	72	0.213c	3.353c
Cerdo	24	0.061a	1.056a
	48	0.097a	1.661a
	72	0.140b	2.416b
Avestruz	24	0.032a	0.547a
	48	0.073a	1.239a
	72	0.125b	2.103b

Muestras de 5,7 g de músculo refrigeradas a 0 °C. a,b,c: Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$). Morón-Fuenmayor y Zamorano (2004).

1.4. RENDIMIENTO Y TIPIFICACIÓN DE LA CANAL

Además de la calidad de la carne, la industria cárnica también evalúa la calidad de las canales, midiendo características como peso, rendimiento y tipificación. El rendimiento de la canal surge del cociente entre el peso de la canal caliente / peso vivo x 100. El peso de la canal caliente, o peso en la 4^{ta} balanza por ser el peso registrado en el 4^{to} puesto del sistema eléctrico de información de la industria cárnica (SEIIC), corresponde al registrado luego de retirado el cuero, las vísceras, la cabeza y las extremidades y de realizado el dressing o prolijamiento de la canal (extracción del rabo y entraña gruesa, tejido adiposo escrotal (capadura) o glándula mamaria (ubre), tejido adiposo del pericardio, riñón y grasa de riñonada, tejido adiposo del canal pelviano, músculos esterno-hioideo y esterno-tiroideo

(zona de degolladura) y tejido conectivo elástico del diafragma) (INAC 2014a).

La tipificación refiere a catalogar los canales en función de la conformación y la terminación. La conformación evalúa la relación entre la masa muscular y el esqueleto y la terminación evalúa la cantidad y distribución de la grasa subcutánea o de cobertura. El Instituto Nacional de Carnes (INAC) tipifica los canales con las letras I, N, A, C, U, R según la conformación, asignándole la letra "I" a las que presentan un gran desarrollo muscular hasta la letra "R" a las que presentan una marcada carencia muscular. Para tipificar la terminación se las cataloga según los grados 0, 1, 2, 3 y 4, asignándole 0 a aquellas con carencia de cobertura grasa y hasta 4 grados a las que presentan excesiva cobertura grasa (INAC 2014e).

Huerta-Leidenz y Morón-Fuenmayor (1996) describieron que la cobertura grasa tiene una relación inversa con el rendimiento de cortes valiosos (RCV %), mientras que no se observó relación entre la conformación y el RCV %. Estos autores tipificaron la cobertura grasa puntuando del 1 al 4, siendo 1= uniforme (cobertura pareja y abundante de la grasa sobre la mayor parte de la superficie muscular de la canal, propia de animales bien cebados), 2= desuniforme (cobertura delgada con la presencia de superficies musculares semidesnudas en áreas de deposición tardía de adiposidad subcutánea como pierna, cuello y paleta), 3= en parches (desnudez más evidente de superficies musculares con depósitos grasos irregulares distribuidos) y 4= desprovista de grasa (ausencia evidente de grasa en la mayor parte de la superficie externa de la canal).

1.5. AGENTES ANTIOXIDANTES EN EL MÚSCULO

Los músculos contienen un sistema de defensa antioxidante endógeno, compuesto por enzimas y otros agentes no-enzimáticos. Estos agentes pueden actuar como antioxidantes (donando electrones) o pro-oxidantes

(aceptando electrones), dependiendo del entorno fisiológico y del estado oxidativo en general. De esta manera estarían ayudando a mantener el balance apropiado entre los efectos celulares de las ROS, deseados (defensa) y no deseados (oxidación de lípidos, proteínas y ADN) (Seifried, 2003).

1.5.1. Antioxidantes no-enzimáticos en el músculo

Los agentes antioxidantes no-enzimáticos que podemos encontrar en el músculo son la vitamina E como el α -tocoferol, vitamina C o ácido ascórbico, carotenoides como el β -caroteno, flavonoides (componente fenólico heterogéneo con núcleo flavan), vitamina A o retinol (precursor del β -caroteno), luteína (pigmento derivado oxigenado de los carotenoides), Coenzima Q₁₀ o Ubiquinol-10 (lípidos transportador de electrones de la cadena respiratoria), tioles (compuestos con grupo funcional sulfhidrilo) y ácido úrico (Morrissey *et al.*, 1998; Seifried, 2003). Estos agentes son capaces de interrumpir la reacción en cadena de los radicales libres (Morrissey *et al.*, 1998), además de regenerar otros antioxidantes, por ejemplo la vitamina C es capaz de regenerar la vitamina E (Morrissey *et al.*, 1998) y la coenzima Q₁₀ es capaz de regenerar vitamina E y C (Crane y Navas, 1997).

También se encuentran pequeños péptidos como el glutatión, la carnosina y la anserina. El glutatión es un tripéptido con un grupo funcional sulfhidrilo, por lo tanto también es un tiol. Bajo condiciones de estrés oxidativo dos moléculas de glutatión en su forma reducida (GSH) son oxidadas formando una molécula de glutatión en su forma oxidada (GSSH) (Descalzo y Sancho, 2008). Debido a su potencial antioxidante es capaz de secuestrar aldehídos producidos por la oxidación lipídica (Zhou y Decker, 1999), de regenerar otros antioxidantes como vitamina E y vitamina C (Liu *et al.*, 2011) y además es un cofactor de la enzima antioxidante glutatión

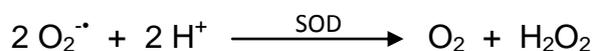
peroxidasa (GPx). El glutatión es considerado el principal buffer redox tiol-disulfuro en tejidos animales y probablemente tiene el mayor potencial antioxidante en el músculo esquelético debido a su alta concentración (Descalzo y Sancho, 2008). La carnosina y la anserina son histidil dipéptidos antioxidantes y los más abundantes en las carnes (Descalzo y Sancho, 2008). La carnosina al igual que el glutatión es capaz de secuestrar aldehídos producidos por la oxidación lipídica (Zhou y Decker, 1999) y además es capaz de secuestrar metales de transición, al igual que la anserina (Descalzo y Sancho, 2008).

Proteínas de transporte y almacenamiento como la transferrina, lactoferrina, haptoglobina, ceruplasmina y metalotioneína también están presentes en el músculo y secuestran metales de transición no permitiendo la catálisis de conversión del anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$) y del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a un más dañino radical hidroxilo (HO^{\cdot}) (Morrissey *et al.*, 1998).

1.5.2. Enzimas antioxidantes en el músculo

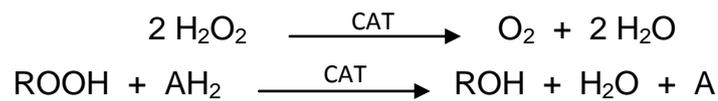
En el musculo se encuentran las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y GPx, que constituyen el principal mecanismo de defensa celular frente al daño oxidativo *in vivo*. Trabajan en conjunto para convertir el radical anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$) a través del H_2O_2 en H_2O , y de este modo minimizan la producción de radical hidroxilo (HO^{\cdot}).

La SOD cataliza la dismutación del anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), que se forma como producto secundario de la cadena respiratoria en las mitocondrias, en O_2 y H_2O_2 (Matés *et al.*, 1999):

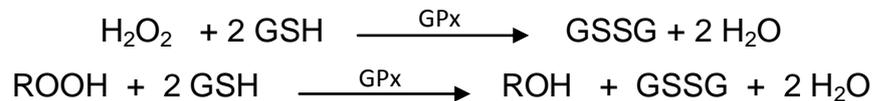


El H_2O_2 es extremadamente peligroso para las células y es removido inmediatamente por la CAT y la GPx (Cecarini *et al.*, 2007).

La CAT reacciona muy eficientemente con H_2O_2 para formar H_2O y O_2 , y con hidroperóxidos orgánicos (ROOH) junto a donadores de H con actividad peroxidativa (metanol, etanol, ácido fórmico o fenoles) generando productos menos reactivos (Matés *et al.*, 1999):



La GPx cataliza la reducción de H_2O_2 e hidroperóxidos orgánicos (ROOH) utilizando glutatión reducido (GSH), generando glutatión oxidado (GSSG) y productos menos reactivos (Matés *et al.*, 1999):



El glutatión oxidado (GSSG) es reducido por la glutatión reductasa (GR) regenerando el glutatión reducido (GSH):



A pesar de que la GPx comparte el sustrato H_2O_2 con la catalasa, sólo ella puede reaccionar efectivamente con los hidroperóxidos lipídicos y otros hidroperóxidos orgánicos, siendo la principal vía de protección contra bajos niveles de estrés oxidativo (Matés *et al.*, 1999).

La GPx contiene un residuo seleno-cisteína en cada una de sus cuatro subunidades idénticas, los cuales son esenciales para la actividad de la enzima. Por esto se define a la GPx como una selenoproteína. Cuatro selenoproteínas constituyen la familia de las GPx: la celular o GPx-1, la gastrointestinal o GPx-2, la plasmática GPx-3 y la hidroperóxido fosfolipídica

o GPx-4 (Matés *et al.*, 1999; Arthur, 2000). De acuerdo a un estudio realizado en cerdos, de estas solo la GPx-1 y la GPx-4 se han detectado en el músculo (Li *et al.*, 2011).

1.6. SELENIO

El Selenio (Se) no es un antioxidante en sí mismo, pero al igual que el Cobre, Zinc, Hierro y Manganeso, es un mineral que actúa como cofactor de sistemas enzimáticos que contrarrestan los radicales libres del organismo (Cabrera *et al.*, 2010). El Se en su forma de seleno-cisteína es un componente estructural central de distintas enzimas específicas, haciendo de éste un elemento traza esencial para humanos y animales (Vignola *et al.*, 2009). Se encuentra en los sitios activos de la enzima antioxidante GPx y de otras enzimas Se-dependientes, capaces de regular el balance hormonal, la transferencia de electrones en la biosíntesis de nucleótidos y el estatus redox de la vitamina C, entre otras funciones (Hartikainen, 2005; Fordyce, 2005) (Cuadro 2). También se ha demostrado en humanos y en experimentos animales, que a través de su función antioxidante el Se puede disminuir el daño de la radiación UV-B (Hartikainen, 2005). Trabajos realizados en ratas y conejos mostraron que deficiencias de Se provocarían una disminución de la actividad de la GPx-1 en el hígado, asociada a una disminución en la expresión del ARNm GPx-1 (Weiss y Sunde, 1998; Yanyan *et al.*, 2011).

Cuadro 2. Selenoproteínas conocidas de mamíferos y su función.

<i>Name</i>	<i>Function</i>
Glutathionine peroxidase GSH-PX	Antioxidant enzymes
Mitochondrial capsule selenoprotein	Protects sperm cells from oxidative damage
Sperm nuclei selenoprotein	Essential for male fertility and sperm maturation
Spermatid selenoprotein 34 kDa	May protect developing sperm
Iodothyronine deiodinases	Regulation and production of active thyroid hormones
Thioredoxin reductases	Reduction of nucleotides and binding of transcription factors in DNA
Selenophosphate synthetase SPS2	Required for selenoprotein synthesis
Selenoprotein P	Protects endothelial cells against peroxynitrite
Selenoprotein W	Skeletal and heart muscle metabolism
15-kDa selenoprotein	May protect prostate cells against carcinoma
18-kDa selenoprotein	Found in the kidney
Methionine sulfoxide reductase	May regulate lifespan
Selenoprotein N	If deficient may be linked to muscular dystrophy

Extraído de Fordyce, 2005.

Bajos niveles de ingesta de Se en humanos han sido asociados a cardiomiopatías, osteoartropatías, cáncer, enfermedades cardiovasculares, inmunodeficiencia, distrofia muscular y esclerosis muscular (Hartikainen, 2005; Fordyce, 2005). Se-deficiencias en animales han sido asociadas a debilidad muscular, distrofia muscular, reducción del apetito, pobre crecimiento y capacidad reproductiva y deformaciones embrionarias, estos desórdenes son generalmente descritos como “enfermedad del músculo blanco” (Fordyce, 2005).

Sin embargo el Se es considerado un elemento de “doble faz” ya que es tóxico en altas concentraciones. En regiones con suelos ricos en Se (seleníferas) y donde existen plantas Se-acumuladoras se han registrados casos de toxicidad en animales, descrita como “enfermedad de alkali” o selenosis crónica, la cual provoca la necrosis y desprendimiento de pezuñas, pérdida de pelo, pobre crecimiento y reproducción, e incluso puede provocar la muerte como se ha descrito en caballos que se alimentaban sobre filtraciones salinas (Hartikainen, 2005). Si bien existen regiones Se-tóxicas, con concentraciones de Se de hasta 1200 mg/kg, la mayoría de los suelos del planeta contienen bajas concentraciones, de entre 0,01 y 2 mg/kg (Hartikainen, 2005).

Según el Consejo de Investigación Nacional de los Estados Unidos (NRC U.S.), en humanos el nivel de ingesta seguro y adecuado para un adulto se encuentra en el rango de 0,05-0,20 mg/día de Se, mientras que en niños los niveles recomendados son menores (NRC U.S., 2000). Por ejemplo en Estados Unidos y Canadá la ingesta es de 0,10-0,25 mg/día, en otras regiones la ingesta puede ser menor a la definida por el NRC U.S. (2000), por ejemplo en Nueva Zelanda es de 0,03-0,05 mg/día, sin embargo no se han detectado casos clínicos de Se-deficiencias, aunque no debe subestimarse el potencial efecto subclínico del Se. En cuanto a los niveles máximos de ingesta en humanos, la Organización Mundial de la Salud ha propuesto como límite 0,40 mg/día de Se (Fordyce, 2005), coincidiendo con el límite marcado en las tablas RDI (ingesta diaria recomendada) del NRC U.S. (2000).

En cuanto a bovinos de carne, las tablas del NRC U.S. (2000) establecen las concentraciones de Se para cubrir los requerimientos y el máximo tolerable, en 0,10 mg/kg MS y 2 mg/Kg MS respectivamente. Esto incluye bovinos en crecimiento, en terminación, gestantes o lactantes. Algunos autores amplían el rango para los requerimientos mínimos entre 0,05-0,10 mg/kg MS (Hartikainen, 2005; Fordyce, 2005). El rango máximo tolerable podría responder a casos descritos de la “enfermedad de alkali” en

bovinos asociadas a ingestas de 2 mg/kg MS (Fordyce, 2005). Pero pueden esperarse efectos tóxicos en ingestas crónicas que excedan 1 mg/kg de MS (Hartikainen, 2005).

El rango de ingesta de Se es muy estrecho, y los niveles máximos y mínimos no son del todo definidos debido a que dependen de la forma química del Se (ej. orgánico, inorgánico), del la especie animal (ej. rumiantes, monogástricos), edad, sexo, condiciones fisiológicas (ej. preñez, lactación) y de las interacciones con otros alimentos (ej. la vitamina E compensa deficiencias de Se) (Fordyce, 2005).

Algunos de los principales alimentos fuente de Se son hígado, riñón, alimentos del mar, carne, ajo, champiñones, cereales integrales y nueces del Brasil (Fordyce, 2005).

Cabrera *et al.* (2010) midieron contenido de Se en carnes uruguayas de novillos Hereford y Bradford alimentados a pasturas, detectando niveles entre 0,42 y 1,30 mg/kg de tejido húmedo, los cuales variaron entre razas y cortes. Entre las conclusiones señalaron que cortes cárnicos uruguayos serían una fuente importante de Se para los consumidores.

Otro estudio en carnes uruguayas, pero en novillos Aberdeen Angus, mostró que las carnes derivadas de pasturas contendrían mayores niveles de minerales traza, entre ellos el Se, que las carnes derivadas de los terminados en feedlot (Saadoun *et al.*, 2011).

1.7. ANTIOXIDANTES EN LA DIETA DE BOVINOS Y OTROS ANIMALES DE PRODUCCIÓN

1.7.1. Antioxidantes en pasturas y concentrados

Los antioxidantes pueden ser incorporados al músculo a través de la dieta, esto ayudaría a retardar la oxidación lipídica y proteica de la carne, y a

preservar su color, sabor y valor nutritivo (Descalzo y Sancho, 2008, Descalzo *et al.*, 2008). La concentración de los antioxidantes en el músculo depende de la dieta, especie animal y tipo de músculo (Insani *et al.*, 2008).

Se ha descrito en novillos que carnes derivadas de pasturas presentaron mayores niveles de α -tocoferol, ácido ascórbico y β -caroteno que carnes derivadas de una terminación con concentrados. Esto explicaría por qué carnes derivadas de pasturas muestran mayor estabilidad oxidativa lipídica y proteica y mayor estabilidad de color que carnes derivadas de feedlot, a pesar de que las carnes derivadas de pasturas contienen mayores niveles de PUFA (Descalzo y Sancho, 2008; Descalzo *et al.*, 2005; Insani *et al.*, 2008; Scollan *et al.*, 2006; Realini *et al.*, 2004; Gatellier *et al.*, 2004). Además a favor de esta explicación se agrega que el glutatión también se ha encontrado en mayores niveles en carnes de pasturas sin encontrarse diferencias para la relación GSH/GSSG entre las dietas, lo que indicaría un mayor ambiente reductor en las carnes de pasturas (Descalzo y Sancho, 2008).

Investigaciones en novillos mostraron que carnes frescas derivadas de pasturas presentaron mayor actividad de la SOD que carnes derivadas de concentrados, la actividad de la CAT no varió con la dieta y la actividad de la GPx fue controversial, en algunos trabajos se observó el doble de actividad GPx en carnes de concentrados, mientras que en otros no se observaron diferencias (Descalzo y Sancho, 2008; Descalzo *et al.*, 2007; Gatellier *et al.*, 2004). Esta controversia puede ser explicada por el estatus redox individual anterior al sacrificio o probablemente por los diferentes niveles de Se en la dieta basal (Descalzo y Sancho, 2008).

1.7.2. Suplementación con vitamina E

La suplementación con vitamina E en bovinos alimentados con concentrados ha demostrado ser efectiva en reducir la oxidación lipídica de

la carne y consecuentemente extender la vida útil de sus productos (Descalzo y Sancho, 2008; Yang *et al.*, 2002a O'Grady *et al.*, 2001). Sin embargo no parece ser efectiva para sistemas de pasturas (Yang *et al.*, 2002a), incluso se ha observado para este sistema que provoca la disminución de la concentración de β -caroteno y como consecuencia disminuye la intensidad del color amarillo de la canal, característica aceptable para el mercado asiático (Yang *et al.*, 2002b).

Rowe *et al.* (2004) estudiaron en novillos el efecto de la suplementación con vitamina E sobre el músculo *Longissimus lumborum* madurado al vacío hasta 14 días y observaron mayor contenido de α -tocoferol en los suplementados y que la suplementación no afectó el color, además observaron que la maduración tampoco afectó el color.

1.7.3. Suplementación con selenio

Juniper *et al.* (2008) suplementaron novillos Limousin x Holstein-Friesian con Se orgánico (Se-levaduras; 0, 0,15 o 0,35 mg/kg MS) y Se inorgánico (selenito de sodio; 0,15 mg/kg MS) y observaron que los alimentados con Se orgánico tuvieron mayores concentraciones de Se y mayor actividad de la enzima GPx en sangre y tejidos, sugiriendo una mayor disponibilidad y mejor retención en los tejidos que el Se inorgánico. Otros trabajos en ovinos, cerdos y conejos, también mostraron mayor acumulación de Se en los tejidos y músculos cuando el Se es adicionado a la dieta en forma orgánica (Vignola *et al.*, 2009; Mahan *et al.*, 1999; Yanyan *et al.*, 2011). Juniper *et al.* (2008) también observaron que la suplementación con Se orgánico aumentó la concentración de Se en los músculos *Psoas major* y *Longissimus* y a su vez que aumentó la actividad de la GPx en los *Longissimus* frescos y madurados 10 días en MAP (no midieron actividad de la GPx en el PM), aclarando que por encima de los 0,5 mg Se/kg MS en el músculo muestra un efecto plateau. En el mismo trabajo se cita que De Vore

y Greene (1982) también habían descrito una correlación positiva entre la concentración de Se y la actividad de la GPx en el músculo de bovinos. Sin embargo, no observaron efecto de la suplementación sobre la estabilidad oxidativa lipídica del *Longissimus*, a pesar del aumento de la concentración de Se y de la actividad de la GPx.

O'Grady *et al.* (2001) suplementaron con Se orgánico (0,3 mg/kg MS) novillos Charolais cruzados, Simmental cruzados y Limousin cruzados y envasaron los *Longissimus* en MAP (80% O₂: 20% CO₂) por 14 días y a diferencia de Juniper *et al.* (2008) no observaron efecto sobre la actividad de la GPx pero coinciden en que tampoco observaron efecto sobre la oxidación lipídica.

Cozzi *et al.* (2011) suplementaron con Se novillos Charolais durante el período de terminación, según este trabajo serían 210 días previos a la faena. Formaron tres grupos, uno fue suplementado con selenito de sodio (0,3 mg Se/kg de MS), otro con Se-levaduras (0,3 mg Se/kg de MS) y el tercer grupo fue suplementado 140 días con selenito de sodio y los últimos 70 días con Se-levadura. Ellos no encontraron diferencia entre los grupos para las características de ganancia de peso diaria, consumo de MS, eficiencia de conversión, peso de canal y porcentaje de dressing. Pero sí encontraron que los grupos suplementados con Se orgánico mostraron mayor contenido de Se en el plasma y en el músculo *Longissimus thoracis*, también describieron mayor actividad antioxidante total en suero, aunque la actividad de la GPx en suero no mostró diferencias entre grupos. Además maduraron al vacío durante 6 y 11 días muestras del músculo *Longissimus thoracis*, y encontraron que los músculos de los animales suplementados con Se-levadura fueron más tiernos, más luminosos y con menos drip loss que los suplementados con selenito de sodio.

Vignola *et al.* (2009) suplementaron corderos Apeninos Italianos con Se-levadura (0,30 mg/kg MS y 0,45 mg/kg MS) sin obtener diferencias respecto al control (0,13 mg Se/kg MS en dieta basal) en el desempeño del crecimiento, eficiencia de conversión, canal y calidad de la carne (pH, drip

loss y por cocción, color, actividad GPx y análisis químico). Además estos niveles tampoco afectaron el color ni la estabilidad oxidativa del músculo *Longissimus thoracis* envasado y almacenado 9 días simulando la venta al consumidor (18h luz, 6h oscuridad), sugiriendo que el Se dietario tendría un límite potencial.

Ripoll *et al.* (2011) suplementaron corderos con selenito de sodio y observaron un aumento de la luminosidad de la carne madurada en MAP durante 13 días. No observaron un efecto sobre la oxidación lipídica y también se refieren a que podría existir un límite potencial del Se dietario.

Yanyan *et al.* (2011) suplementaron conejos de carne en crecimiento desde el destete hasta los dos meses con distintas concentraciones de selenito de sodio (0,08 (basal), 0,24, 0,41, 0,59 y 0,70 mg/kg MS) y concluyeron que el nivel óptimo de selenito de sodio en la dieta para dicho caso fue de 0,24-0,41 mg/kg MS, ya que a partir de esos niveles la ganancia de peso diario y la eficiencia de conversión fueron tan mejores como las mayores concentraciones de suplementación, además los análisis en hígado y sangre mostraron que a mayores concentraciones de Se ingerido la absorción de este disminuía, al igual que la expresión de la GPx-1, lo que podría ser explicado como estrategia para evitar la toxicidad por el radical libre ion selenito. Por lo tanto este trabajo apoyaría la idea de Vignola *et al.* (2009) y Ripoll *et al.* (2011) en que el Se tendría un límite potencial.

En ninguno de los trabajos anteriormente mencionados, en los cuales se ha suplementado con Se, se ha estudiado la calidad de la carne bovina envasada al vacío y sometida a tratamientos de conservación largos, como los que actualmente la industria lleva a cabo en Uruguay para el mercado interno y externo. Por esto, en el presente trabajo se ha realizado un estudio en novillos sobre el efecto de la suplementación con Se-levadura en la oxidación lipídica y proteica, color, pH, drip loss y actividad de la GPx de la carne madurada al vacío durante 60 días. Además tampoco se encontró bibliografía sobre la terminación de la canal cuando se suplementan bovinos

con Se, por lo que se aprovecharon los datos recogidos por el escáner del frigorífico para evaluar también este parámetro.

1.8. HIPÓTESIS

Suplementar novillos terminados con concentrados con Se orgánico ayudaría a disminuir la oxidación lipídica y proteica de la carne madurada al vacío. Esto podría influir positivamente sobre otros parámetros de la carne como color, pH y drip loss. Dicho efecto podría ser mediado por una mayor actividad de la GPx por su asociación con el Se.

1.9. OBJETIVO

El objetivo de este estudio consiste en determinar si la suplementación con Se orgánico en novillos terminados con concentrados, podría ser una herramienta eficaz para minimizar la oxidación lipídica y proteica de dos músculos de importante valor comercial para el mercado de Uruguay, *Longissimus thoracis* (bife angosto) y *Psoas major* (lomo), frescos y madurados al vacío.

1.10. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar si una suplementación alimenticia con selenio orgánico en novillos terminados con concentrados, contrarrestaría la oxidación lipídica de la carne fresca y madurada durante 7, 14, 28 y 60 días.

- Determinar si una suplementación alimenticia con selenio orgánico en novillos terminados con concentrados, contrarrestaría la oxidación proteica de la carne fresca y madurada durante 7, 14, 28 y 60 días.

- Determinar si una suplementación alimenticia con selenio orgánico en novillos terminados con concentrados, podría influir positivamente sobre el color, el pH y el drip loss de la carne fresca y madurada durante 7, 14, 21, 28 y 60 días.

- Determinar si una suplementación alimenticia con selenio orgánico en novillos terminados con concentrados produciría, un aumento de la actividad de la glutatión peroxidasa de la carne fresca y madurada durante 7, 14, 28 y 60 días.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. ANIMALES Y DIETAS

Luego de ser criados en pastoreo, un total de 286 novillos Aberdeen Angus de 24 a 26 meses de edad fueron pesados y encerrados en dos corrales, formando dos grupos de 139 y 147 novillos. Una vez en los corrales ambos grupos recibieron durante aproximadamente 110 días, una dieta rica en concentrados, compuesta por sorgo silo planta entera, sorgo grano húmedo, afrechillo de trigo y un núcleo compuesto por afrechillo de trigo, urea, sales de calcio, fósforo y MONENSIN (antibiótico utilizado para aumentar la eficiencia alimenticia y prevenir ciertas patologías). El grupo de 147 novillos fue suplementado con 0.30 mg Se/kg de MS, suministrado como extracto de levaduras enriquecidas con Se-metionina Sel-Plex (ALLTECH) (0,0015 kg de Sel-Plex/día/novillo). Por otra parte el grupo de 139 novillos no recibió suplementación. Según análisis químicos realizados por el equipo de investigación, la dieta basal contenía 0,1 mg Se/kg de MS. Cumplidos aproximadamente 110 días de encierro, se pesaron los novillos y se seleccionaron por peso homogéneo 35 novillos del grupo no suplementado (386 ± 5 kg) y 36 novillos del grupo suplementado (388 ± 3 kg) que fueron enviados al frigorífico para la faena. A los primeros se los llamó grupo Control y a los segundos grupo Selenio.

2.2. FAENA

En el frigorífico los dos grupos de 35 y 36 novillos fueron sacrificados y se les retiró el cuero, las vísceras, la cabeza y las extremidades y se registró

el peso pre-dressing. Luego se realizó el dressing y se registró el peso de la canal caliente o 4^{ta} balanza. Con estos datos se calculó el porcentaje de rendimiento de la canal dividiendo el peso de la canal caliente por el peso vivo pre-faena y multiplicándolo por 100. Luego de la 4ta balanza las canales fueron pasadas frente a un escáner que tomó imágenes y automáticamente las tipificó de acuerdo a su conformación y terminación siguiendo el criterio de la clasificación del INAC, esto significa que la conformación se tipificó con las letras I, N, A, C, U, R y la terminación con grados del 0 al 4, a su vez cada grado se subdividió en (-), (=) y (+). Una vez pesadas y pasadas frente al escáner, las canales fueron enfriadas en la cámara frigorífica a unos 4 °C.

2.3. EXTRACCIÓN DE MUESTRAS Y MADURACIÓN

A las 36 horas *post mortem* se extrajeron de las canales de los primeros 10 novillos faenados de cada grupo los músculos *Longissimus thoracis* (LT) y *Psoas major* (PM) (Fig. 3). Cada músculo se cortó en siete porciones para poder analizar cada musculo fresco y a distintos tiempos de maduración. A las porciones seleccionadas como muestra fresca de cada músculo, primero se les midió el color, pH y drip loss, y luego se las envasó al vacío con nylon impermeable al oxígeno, pero no se maduraron, sino que se congelaron a -20 °C hasta la determinación de la oxidación lipídica y proteica y actividad de la GPx. Por otra parte las porciones destinadas a la maduración fueron directamente envasadas al vacío con nylon impermeable al oxígeno y se almacenaron a 1-2 °C durante 7, 14, 21, 28 y 60 días. Una vez finalizado el tiempo de maduración fueron congeladas a -20 °C hasta el momento de las determinaciones de oxidación lipídica y proteica, color, pH, drip loss y actividad de la GPx.

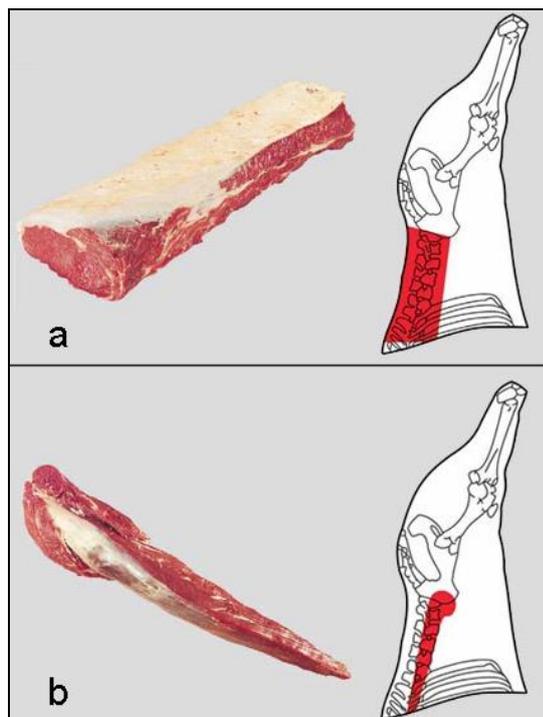


Figura 3. Fotografía y ubicación anatómica de los cortes bovinos. (a) *Bife angosto*: compuesto principalmente por el músculo *Longissimus thoracis*, ubicado en la región dorso lumbar, en las hemivértebras lumbares y las 3 o 4 últimas dorsales. (b) *Lomo*: compuesto principalmente por el músculo *Psoas major*, ubicado en la región sublumbar, en las seis hemivértebras lumbares, las dos últimas dorsales y el ilion. Extraído del manual de cortes INAC, 2014.

2.4. DETERMINACIÓN DE LA OXIDACIÓN LIPÍDICA

Se midieron los TBARS (especies reactivas al ácido tiobarbitúrico) siguiendo el método de Lynch y Frei (1993) descrito por Gatellier *et al.* (2004) y adaptado por Terevinto (2010). Se extrajeron aproximadamente 10 gr de cada muestra de músculo (apenas descongeladas para poder cortarlas) y se homogeneizaron con 200 ml de un buffer de extracción (KCl 0,15 M + EDTA 0,02 M) y 2 ml de BHT 0,30 M, en una licuadora Waring-Blendor a máxima velocidad durante 1 minuto. De este homogeneizado se extrajeron 8 ml y se congelaron hasta el día siguiente para la determinación

de la oxidación proteica. Continuando con el test de TBARS, se extrajeron 30 ml del homogeneizado, se centrifugaron a 2000 g y 4 °C durante 10 min y luego se extrajo 1 ml del sobrenadante al cual se le agregó 1 ml de la mezcla TBA-TCA (TBA 35 mM, TCA 10 % en HCl 125 mM). Se preparó un blanco con el buffer de extracción y se sometió al mismo procedimiento que las muestras. Las muestras y el blanco se colocaron en ebullición durante 30 min, luego en hielo durante 5 min para frenar la reacción y a temperatura ambiente durante 45 min.

Se agregaron 2 ml de n-butanol, se centrifugaron a 3000 g y 15 °C durante 10 min y se midió la absorbancia del sobrenadante en un espectrofotómetro (Genesys-6) a 535 nm. Se calculó la concentración del MDA de las muestras utilizando su coeficiente de extinción molar $156.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ y los resultados se expresaron en mg de MDA/kg de carne.

Los niveles de TBARS fueron determinados para las muestras maduradas 0, 14, 21, 28 y 60 días, pertenecientes a 10 novillos del grupo Control y 10 novillos del grupo Selenio. A estas mismas muestras se le determinó la oxidación de proteínas.

2.5. DETERMINACIÓN DE LA OXIDACIÓN PROTEICA

Se siguió el método descrito por Mercier *et al.* (2004) y adaptado por Terevinto (2010). Primero se descongelaron las muestras homogeneizadas el día anterior y se extrajeron 2 ml de cada muestra, para el blanco se extrajo 1 ml de una muestra cualquiera más 1 ml de otra muestra cualquiera. Se centrifugaron a 2000 g y 4 °C por 10 min, se agregaron 2 ml de HCl 2 M al blanco y 2 ml de 2,4-Dinitrofenilhidrazina 20 mM disuelto en HCl 2 M a las muestras. Se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora vortexeando cada 10 min. Se agregaron 2 ml de TCA 20 %, y se dejaron reposar durante 15 min vortexeando cada 5 min. Luego se centrifugaron a 2000 g y 15 °C por 10 min y se eliminó el sobrenadante. Se lavó el pellet 3 veces con 4 ml de

etanol:acetato de etilo (1:1) centrifugando luego de cada lavado para eliminar trazas de 2,4-Dinitrofenilhidrazina. Luego se disolvió el pellet con 6 ml de guanidina en KH_2PO_4 20 mM y se incubaron a temperatura ambiente durante 15 min vortexeando cada 5 min. Finalmente se centrifugaron a 2400 g y 15 °C por 10 min y se midió por duplicado la absorbancia del sobrenadante en un espectrofotómetro (Genesys-6) a 370 nm. La concentración del producto de reacción 2,4-Dinitrofenilhidrazona (DNPH) de las muestras se calculó utilizando su coeficiente de extinción molar 22.000 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ y los resultados se expresaron en nmol de DNPH/mg proteína.

2.6. MEDICIÓN DEL COLOR

Se retiraron las muestras del freezer y se les abrió la bolsa de nylon para eliminar el vacío y se expuso al aire libre y temperatura ambiente, luego de 25 minutos se tomaron las medidas sobre la superficie de la muestra utilizando un colorímetro MINOLTA BC10, registrándose los parámetros de luminosidad (L^*), enrojecimiento (a^*) y amarillamiento (b^*). Las mediciones se realizaron por duplicado sobre las muestras maduras 0, 7, 14, 21, 28 y 60 días, pertenecientes a 10 novillos del grupo Control y 10 novillos del grupo Selenio.

2.7. MEDICIÓN DEL pH

La medición del pH se realizó al mismo tiempo que la medición de color y sobre las mismas muestras. Para medir el pH primero se realizó un corte en el músculo y se introdujo el electrodo de vidrio del pHmetro (Oakton® Acorn™ Series pH 6) en forma perpendicular, evitando el contacto de la punta del electrodo con la grasa. Se esperó que la medida se estabilice para

registrar la lectura. Finalmente se limpió la sonda con agua destilada previo a la siguiente medida. Las mediciones se realizaron por duplicado.

2.8. DETERMINACIÓN DEL DRIP LOSS

Para determinar el drip loss se utilizó de cada muestra una porción de músculo de 1 cm de ancho x 1 cm de alto x 3 cm de largo, la cual se extrajo cortando longitudinalmente la fibra muscular. Las porciones fueron pesadas en una balanza analítica y colocadas en frascos de plástico, suspendidas con red de hilo evitando que toquen las paredes y la tapa del frasco. Se almacenaron a 2-4 °C para su próximo pesaje a las 24 horas y se calculó el porcentaje de pérdida entre ambas pesadas. Las mediciones se realizaron por duplicado sobre las muestras maduradas 0, 7, 14, 21, 28 y 60 días, pertenecientes a 10 novillos del grupo Control y 10 novillos del grupo Selenio.

2.9. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS

Para expresar la oxidación proteica por mg de proteína se midió la concentración de proteínas de cada uno de los homogeneizados, siguiendo el método descrito por Stoscheck (1990) y adaptado por Terevinto (2010). Este método consiste en obtener una curva estándar de la absorbancia en función de la concentración de proteínas. Para ello se utilizó una solución madre de 10 mg/ml de BSA (Sigma) a partir de cual se generaron cuatro diluciones con concentraciones de proteína conocidas (0, 0,5, 1 y 2 mg/ml). A estas diluciones se les midió la absorbancia a 280nm (densidad óptica) por triplicado y se obtuvo la curva estándar. Finalmente se realizaron las

mediciones de absorbancia de las muestras (por duplicado) y se calcularon sus concentraciones utilizando la función de la curva estándar.

2.10. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA GLUTATIÓN PEROXIDASA

La determinación de la actividad de la GPx fue realizada en base a la medición de la oxidación del NADPH, siguiendo el método descrito por De Vore y Greene (1982) y Günzler y Flohé (1985) y adaptado por Terevinto (2010).

Primero se extrajeron 5 gr de las muestras de músculo, se colocaron en tubos falcon y estos a su vez se colocaron en un recipiente con hielo. Luego se homogeneizaron con 25 ml de buffer de extracción (KH_2PO_4 50 mM y EDTA 0,5 mM, pH 7,0) usando un homogeneizador Ultra Turrax T18 durante 1 min a velocidad 3 (aprox. 18000 rpm). El homogeneizado fue centrifugado a 2000 g durante 2 min a 4 °C y se filtró el sobrenadante al vacío con papel de filtro usando un embudo Bucher y un kitasato. El filtrado se recogió en un tubo y se colocó en hielo hasta medir la actividad de la GPx. Una alícuota de 4 ml se guardó en el freezer a -20 °C para determinar la concentración de proteínas por el método antes descrito.

Luego se preparó el medio de reacción, agregando 5,51 μL de glutati3n reductasa 1,5 U, 0,0154 gr de glutati3n reducido 1 mM, 1,10 ml de H_2O_2 6,8 mM, 0,0032 gr de NaN_3 50 mM (pH 7,0), 0,0062 gr de NADPH 0,15 mM y se completó a 50 ml con el buffer de extracci3n.

Se colocó un tubo vacío por muestra en una gradilla a ba3o maría, y a cada tubo se le colocó 1980 μL del medio de reacci3n. Cuando la temperatura del medio llegó a 22 °C se le agregó a cada tubo 20 μL de filtrado de la muestra correspondiente, se agitó rápido y se pasó a una cuba de cuarzo para medir la absorbancia del NADPH a 340 nm cada 30 seg durante 30 min (se descartaron los primero 30 seg). De esta manera se

determinó la disminución de la absorbancia por unidad de tiempo, y teniendo en cuenta el coeficiente de extinción molar del NADPH ($6300 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) se calculó los mg de NADPH oxidados por minuto por gramos de carne (mg NADPH/min/gr carne). Para expresarlo por miligramos de proteína se utilizaron los datos de concentración de proteínas que se realizaron anteriormente, y los niveles de oxidación de NADPH se expresaron en nmol en lugar de mg (nmol NADPH/min/mg proteína).

2.11. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para analizar el efecto principales de la dieta, músculo y maduración se realizó un ANOVA GLM de medidas repetidas ($p < 0,05$, $n=10$) y cuándo las diferencias dieron significativas se realizó un Test de Tukey-Kramer para separar las medias. Este mismo procedimiento se realizó para analizar el efecto dieta y el efecto músculo para cada día de maduración y también para analizar el efecto dieta dentro de cada músculo,

Para analizar el efecto de la dieta para cada día de maduración dentro de cada músculo se realizó un ANOVA de una vía ($p < 0,05$, $n=10$) y cuando las diferencias fueron significativas se realizó un Test de Tukey-Kramer para separar las medias. Este mismo procedimiento se realizó para analizar el efecto de la dieta sobre el peso vivo y las características de la canal ($n=35-36$).

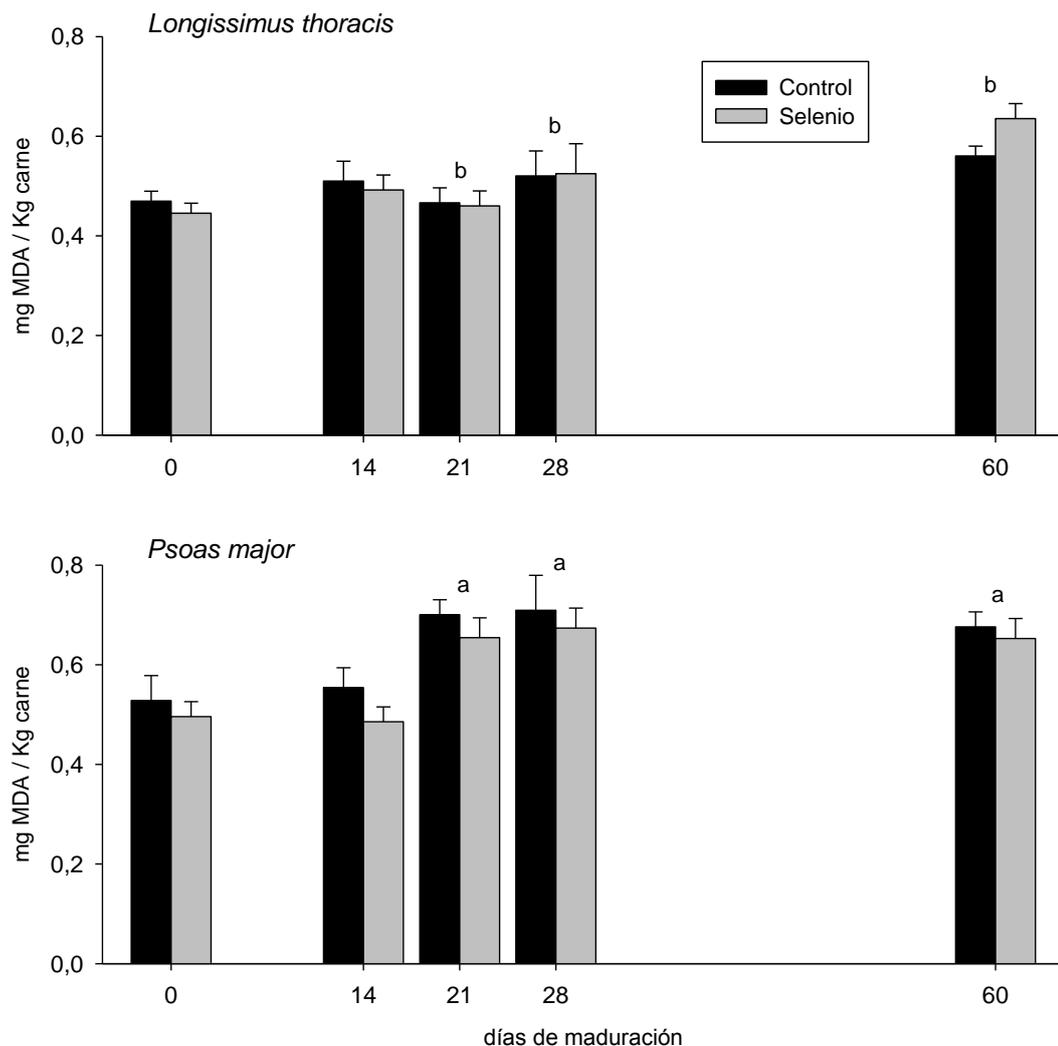
Para realizar estos análisis se utilizó el programa estadístico NCSS (2007) y los resultados siempre se expresaron como media \pm error estándar de la media (EEM).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. OXIDACIÓN LIPÍDICA

Para determinar la oxidación lipídica de los músculos LT y PM frescos y madurados 14, 21, 28 y 60 días se utilizó el método TBARS midiendo los mg MDA/kg carne. En los LT los valores medios se encontraron entre 0,45 y 0,64 mg MDA/kg carne y en los PM los valores se encontraron entre 0,49 y 0,71 mg MDA/kg carne (Fig. 4). Estos valores se encuentran por debajo del límite de aceptabilidad descrito por Campo *et al.* (2006) (2 mg MDA/kg carne), sin embargo según lo descrito por Greene y Cumuze (1981) los valores máximos podrían estar en el límite, aunque ellos destacan una gran variación en los límites de aceptabilidad de los panelistas (0,6 a 2,0 mg TBA/kg carne).

Al analizar el efecto principal de la dieta sobre la oxidación lipídica de los músculos no se observó diferencia significativa entre los grupos Control y Selenio (Fig. 4). Cuando se analizó el efecto de la dieta para cada día de maduración tampoco se observó diferencia significativa entre los grupos. Cuando se analizó el efecto de la dieta para cada músculo tampoco se observó diferencia significativa entre los grupos, ni en el LT ni en el PM (Fig. 4). Y cuando se analizó el efecto de la dieta para cada día de maduración dentro de cada músculo tampoco se observó diferencia significativa entre los grupos. Estos resultados concuerdan con los trabajos de Juniper *et al.* (2008) y O'Grady *et al.* (2001), quienes estudiaron el *Longissimus* de bovinos, y de Ripoll *et al.* (2011) y Vignola *et al.* (2009), quienes estudiaron el lomo entero y el LT de ovinos, respectivamente. Estos autores, al igual que en el presente trabajo, no observaron efecto de la suplementación con Se sobre la oxidación lipídica de los músculos. Este resultado podría



Efectos principales: Dieta: NS - Músculo: LT<PM ($p<0,0001$) - Maduración: 0<21, 28 y 60 / 14<28 y 60 ($p<0,0001$), aumento lineal ($p<0,0001$) - Interacción: Músculo x Maduración ($p<0,01$).

Efectos para cada día de maduración: Dieta: NS en todos los días
- Músculo: letras distintas (a,b) indican diferencias significativas ($p<0,05$).

Efecto de la dieta para cada músculo: LT: NS - PM: NS.

Figura 4. Oxidación lipídica en los músculos *Longissimus thoracis* y *Psoas major*, frescos y madurados, de los novillos Aberdeen Angus de los grupos Control y Selenio. Los valores son medias \pm EEM con un $n=10$. LT= *Longissimus thoracis*. PM= *Psoas major*. NS= diferencias no significativas.

deberse a que el nivel de Se en la dieta basal (0,1 mg Se/kg MS), suficiente para cubrir los requerimientos de los novillos (NRC, 2000), fuese suficiente para llegar al límite potencial de la actividad antioxidante a través de la GPx, como ya lo han sugerido Ripoll *et al.* (2011) y Vignola *et al.* (2009) en sus trabajos en ovinos y Yanyan *et al.* (2011) en su trabajo en conejos.

Al analizar el efecto principal del músculo sobre la oxidación lipídica se observó que los LT presentaron menores TBARS que los PM ($p < 0,0001$) (Fig. 4). Cuando se analizó el efecto músculo para cada día de maduración se observó que a los días 21, 28 y 60 los LT presentaron menores TBARS que los PM ($p < 0,0001$, $p < 0,01$, $p < 0,05$) como indican las letras a y b en la figura 4, mientras que para el resto de los días no se encontraron diferencias significativas. La oxidación lipídica fue diferente en cada músculo a pesar de que son músculos metabólicamente similares (Talmant y Monin, 1986), las causas pueden deberse al estatus antioxidativo de cada músculo o a la diferente concentración y/o composición de lípidos de la carne.

Finalmente se analizó el efecto principal de la maduración sobre la oxidación lipídica de los músculos, donde se observaron diferencias significativas entre algunos días de maduración ($p < 0,0001$) mostrando un aumento lineal con los días de maduración ($p < 0,0001$) (Fig. 4). Este resultado era de esperar ya que la oxidación lipídica es una reacción auto-catalítica que aumenta con el paso tiempo (Morrissey *et al.*, 1998), el estar envasados al vacío y a bajas temperaturas solo puede retardar este proceso.

3.2. OXIDACIÓN PROTEICA

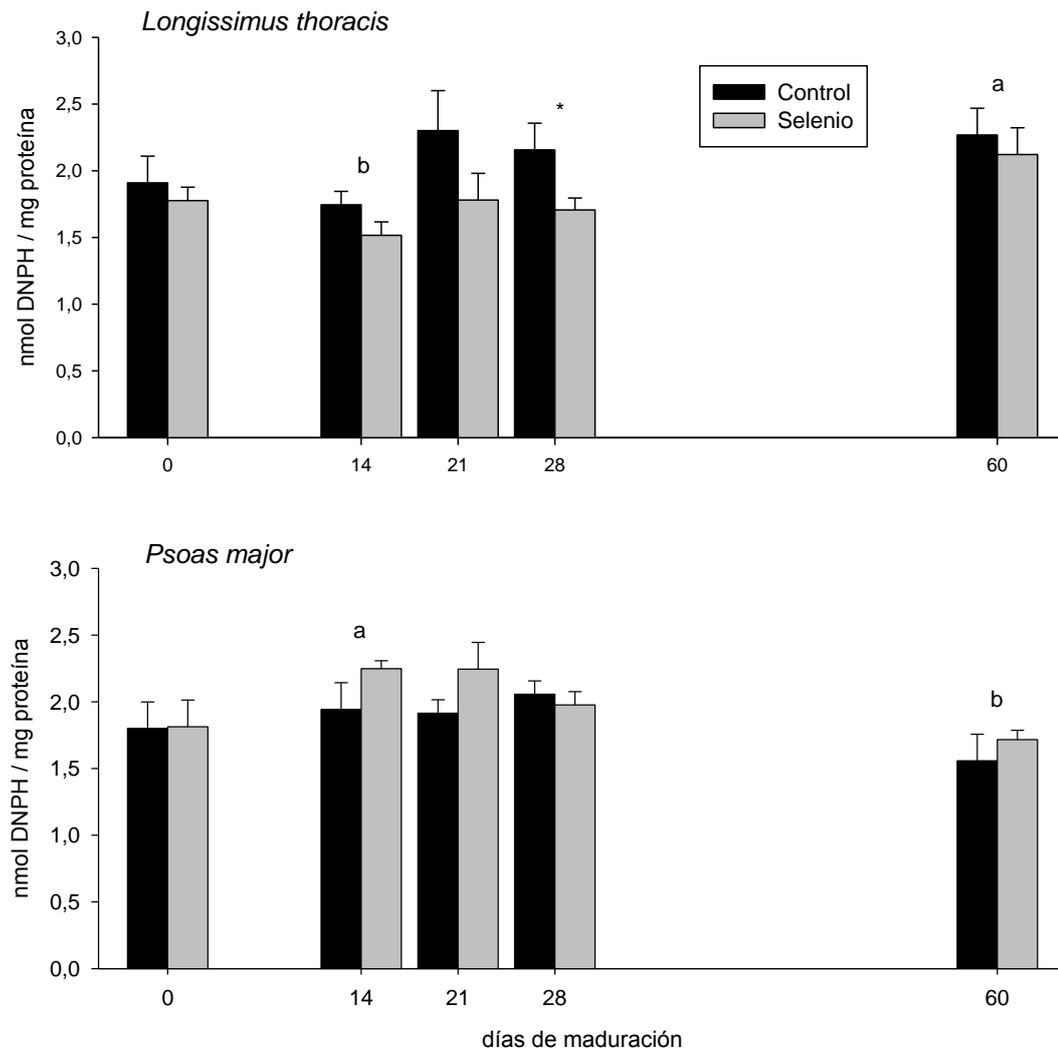
Se determinó la oxidación proteica de los músculos LT y PM frescos y madurados 14, 21, 28 y 60 días utilizando el método DNPH. En los LT los valores medios se encontraron entre 1,5 y 2,3 nmol DNPH/mg proteína y en los PM los valores se encontraron entre 1,6 y 2,2 nmol DNPH/mg proteína (Fig. 5). Estos valores se encontrarían incluso dentro de los niveles

registrados para la carne fresca según Estévez (2011), 1 a 3 nmol DNPH/mg proteína.

Al analizar el efecto principal de la dieta sobre la oxidación proteica de los músculos no se observó diferencia significativa entre los grupos Control y Selenio. Cuando se analizó el efecto de la dieta para cada día de maduración se observó que al día 28 los del grupo Selenio presentaron menos carbonilos que los del Control ($p < 0,05$), para el resto de los días no se observaron diferencias significativas. Cuando se analizó el efecto de la dieta para cada músculo se observó que los LT del grupo Selenio presentaron menos carbonilos que los del Control ($p < 0,01$) y que en los PM no se observó diferencia significativa entre las dietas. Cuando se analizó el efecto de la dieta para cada día de maduración dentro de cada músculo sólo se observó diferencia significativa entre las dietas en los LT del día 28, donde los del grupo Selenio presentaron menos carbonilos que los del Control ($p < 0,05$), como lo indica el asterisco en la figura 5. Por lo tanto, la suplementación con Se-levadura no afectó la oxidación proteica en ambos músculos frescos, mientras que en los madurados disminuyó la oxidación proteica en los LT y no afectó los PM.

Al analizar el efecto principal del músculo sobre la oxidación proteica no se observó diferencia significativa entre los músculos. Cuando se analizó el efecto del músculo para cada día de maduración solo se observaron diferencias significativas a los días 14 y 60, con la particularidad de que al día 14 los LT presentaron menor oxidación proteica que los PM ($p < 0,01$) y al día 60 se observó lo contrario ($p < 0,01$) (Fig. 5).

Finalmente se analizó el efecto principal de la maduración sobre la oxidación proteica de los músculos y no se observaron diferencias significativas entre los días de maduración (Fig. 5). No está muy claro el proceso de oxidación proteica a lo largo del tiempo, algunos autores (Santé-Lhoutellier *et al.*, 2008; Popova *et al.*, 2009) han observado un aumento de la oxidación proteica con el tiempo de maduración, pero ellos envasaron con film permeable al oxígeno, en cambio en el presente estudio se envasaron al



Efectos principales: Dieta: NS - Músculo: NS - Maduración: NS -
 Interacción: Dieta x Músculo ($p < 0,01$), Músculo x Maduración ($p < 0,001$).
Efectos para cada día de maduración: Dieta: Selenio < Control al día 28 ($p < 0,05$),
 NS en días 0, 14, 21 y 60 - Músculo: letras distintas (a,b) indican diferencias
 significativas ($p < 0,05$).
Efecto de la dieta para cada músculo: LT: Selenio < Control ($p < 0,01$) - PM: NS.

Figura 5. Oxidación proteica en los músculos *Longissimus thoracis* y *Psoas mayor*, frescos y madurados, de los novillos Aberdeen Angus de los grupos Control y Selenio. Los valores son medias \pm EEM con un $n=10$. LT= *Longissimus thoracis*. PM= *Psoas mayor*. NS= diferencias no significativas. El asterisco indica diferencias significativas entre dietas en cada día de maduración dentro de cada músculo ($p < 0,05$).

vacío y la oxidación proteica se mantuvo estable, al menos hasta los 60 días de maduración.

3.3. COLOR

Como se ha mencionado, la oxidación lipídica y proteica afectan negativamente el color de la carne. Principalmente por esto se midió el color de los músculos LT y PM frescos y madurados 7, 14, 21, 28 y 60 días (Cuadro 3). En los LT los valores medios de L* se encontraron entre 31,3 y 33,2, los valores medios de a* se encontraron entre 11,3 y 14,4, y los valores medios de b* se encontraron entre 24,5 y 26,7. En los PM los valores medios de L* se encontraron entre 31,2 y 32,8, los valores medios de a* se encontraron entre 13,0 y 16,1, y los valores medios de b* se encontraron entre 25,0 y 27,2. Hernández y Ríos (2009) han descrito para la carne bovina valores de L* entre 32,2 y 47,6, valores de a* entre 10,6 y 26,1 y valores de b* entre 10,3 y 21,5, según estos datos los músculos estudiados serían menos amarillos que lo descrito, mientras que de L* y a* estarían dentro de lo esperado.

Al analizar el efecto principal de la dieta se observó que la suplementación no afectó significativamente la L*, a* ni b*. Cuando se discriminó entre músculos se observó que la dieta afectó el color de los LT, donde los suplementados fueron más rojos ($p < 0,01$) y más amarillos ($p < 0,05$), sin embargo la dieta no afectó el color de los PM (Cuadro 3). Vignola *et al.* (2009) no observaron efecto del Se orgánico sobre el color del *Longissimus* de ovinos madurados y envasados simulando la venta al consumidor, mientras que Ripoll *et al.* (2011) observaron en lomos enteros envasados en atmósfera modificada que el selenito de sodio aumentó la L*. No se encontraron estudios sobre el color donde hayan suplementado con Se y madurado al vacío.

Al analizar el efecto músculo, los LT fueron más luminosos ($p < 0,01$) y los PM más rojos ($p < 0,0001$) (Cuadro 3).

La maduración afectó principalmente la L^* y la a^* , aumentando los valores con el tiempo ($p < 0,01$) (Cuadro 3), algo en principio no esperado ya que el principal determinante del color de la carne es la mioglobina, la cual posee un grupo hemo que sería afectado por la oxidación lipídica que aumenta con el tiempo, y provocaría una coloración amarronada (Descalzo *et al.*, 2005). De todas formas el aumento lineal que indican los análisis estadísticos no son muy claros ya que tanto para la L^* como para la a^* no hay diferencias significativas entre el día 0 y el día 60.

Cuadro 3. Color en los músculos *Longissimus thoracis* y *Psoas major*, frescos y madurados, de los novillos Aberdeen Angus de los grupos Control y Selenio.

Mad	(d)	LT		PM		Efectos principales			Inter
		Control	Selenio	Control	Selenio	D	M	Mad	
L*	0	32,2±0,3	32,8±0,3	32,5±0,4	32,3±0,4	NS	PM<LT p<0,01	7<0, 28, 60	NS
	7	31,3±0,5	32,1±0,4	31,2±0,3	31,9±0,3			/ 21<28, 60	
	14	32,0±0,4	32,8±0,4	32,2±0,4	31,4±0,4			p<0,0001	
	21	32,0±0,5	32,8±0,4	31,2±0,3	31,6±0,5				
	28	33,0±0,5	32,5±0,3	32,8±0,3	32,5±0,2			Lineal	
	60	33,1±0,4	33,2±0,4	32,5±0,4	32,4±0,5			p<0,01	
Efecto de la dieta y el músculo para cada día de maduración: D: NS en días 0, 7, 14, 21, 28 y 60 - M: PM<LT al día 21 (p<0,05). Efecto de la dieta para cada músculo: LT: NS - PM: NS.									
a*	0	12,2±0,7	13,2±0,4	15,3±0,4	15,7±0,5	NS	LT<PM p<0,0001	7<28, 0, 60	DxM p<0,01
	7	11,3±0,6	12,5±0,4	13,7±0,5	13,2±0,5			p<0,01	
	14	12,1±0,6b	14,3±0,4a	14,1±0,5	13,0±1,0				
	21	12,1±0,6b	14,0±0,5a	14,1±0,9	14,4±0,8			Lineal	
	28	13,0±0,6	12,5±0,6	16,1±0,5	14,8±0,5			p<0,01	
	60	13,7±0,9	14,4±0,6	15,0±0,3	15,6±0,5				
Efecto de la dieta y el músculo para cada día de maduración: D: NS en días 0, 7, 14, 21, 28 y 60 - M: LT<PM en días 0 (p<0,0001), 7 (p<0,01) y 60 (p<0,0001). NS en días 14, 21 y 60. Efecto de la dieta para cada músculo: LT: Control<Selenio (p<0,01) - PM: NS.									
b*	0	25,4±0,3	25,5±0,4	25,9±0,2	26,0±0,3	NS	NS	7<14, 21,	DxM p<0,05
	7	24,5±0,5b	25,6±0,2a	25,2±0,3	25,0±0,3			28 / 0, 60,	
	14	25,7±0,3b	26,6±0,2a	26,1±0,4	25,4±0,5			14, 21< 28	
	21	25,8±0,4	26,6±0,3	25,5±0,6	26,0±0,4			p<0,0001	
	28	26,6±0,4	26,7±0,3	27,2±0,3	26,7±0,2				
	60	25,3±0,5	25,7±0,5	25,8±0,2	26,1±0,4			No lineal	
Efecto de la dieta y el músculo para cada día de maduración: D: NS en días 0, 7, 14, 21, 28 y 60 - M: NS en días 0, 7, 14, 21, 28 y 60. Efecto de la dieta para cada músculo: LT: Control<Selenio (p<0,05) - PM: NS.									

Los valores son medias \pm EEM con un n=10. Mad= maduración. d= días. L*= luminosidad. a*= enrojecimiento. b*= amarillamiento. LT= *Longissimus thoracis*. PM= *Psoas major*. D= dieta. M= músculo. Inter= interacciones. NS= diferencias no significativas. Letras diferentes indican diferencias significativas entre dietas dentro de cada músculo y para cada día de maduración (p<0,05).

3.4. pH

El pH es un parámetro de la carne que afecta otras características como color, terneza, drip loss e higiene microbiológica, por esta razón se midió el pH en los músculos frescos y madurados 7, 14, 21, 28 y 60 días (Cuadro 4).

Principalmente los valores de pH se encontraron dentro de lo normal (5,4 a 5,8 según Huff-Lonergan *et al.*, 2010), salvo el valor medio registrado en los LT del grupo Selenio que fue de 5,11, los demás se encontraron entre 5,37 y 5,77, por lo tanto se descartan pHu altos que puedan generar carnes DFD (oscuras, firmes y secas) y puedan favorecer la proliferación bacteriana (Tarrant, 1989). No se registró el pH en las primeras horas *post mortem*, de todas formas no tiene tanta importancia en bovinos como sí la tiene en cerdos y pavos, donde se ha registrados que un descenso brusco del pH en las primeras horas *post mortem* generaría carnes PSE (pálidas, blandas y exudativas) (Pietrzak *et al.*, 1997).

Dentro de los niveles de pH registrados, se observó una diferencia significativa entre las dietas, donde los músculos del grupo Selenio mostraron menores niveles que los del grupo

Control ($p < 0,0001$) (Cuadro 4). Al analizar cada músculo por separado se observó que los LT del grupo Selenio presentaron menores pH que los del Control ($p < 0,0001$) y que en los PM la dieta no tuvo efecto significativo.

Al analizar el efecto principal del músculo se observaron menores niveles de pH en los LT que en los PM ($p < 0,0001$), sin embargo al analizarlo para cada día de maduración se observó que a los días 28 y 60 los menores niveles se registraron en los PM ($p < 0,05$, $p < 0,05$).

Por último no se observó un efecto de la maduración sobre el pH de los músculos ($p < 0,0001$) pero sin mostrar una tendencia lineal.

Cuadro 4. pH en los músculos *Longissimus thoracis* y *Psoas major*, frescos y madurados, de los novillos Aberdeen Angus de los grupos Control y Selenio.

Mad (d)	LT		PM		Efectos principales			
	Control	Selenio	Control	Selenio	D	M	Mad	Inter
0	5,52±0,07a	5,37±0,02b	5,57±0,07b	5,77±0,03a				
7	5,58±0,05a	5,11±0,04b	5,44±0,02	5,47±0,05			7<60, 21, 28, 0, 14 p<0,0001	DxM p<0,0001
14	5,63±0,05	5,53±0,06	5,59±0,04	5,65±0,06	Se<C	LT<PM		DxMad p<0,01
21	5,51±0,03a	5,42±0,02b	5,68±0,01	5,59±0,06	p<0,0001	p<0,0001		MxMad p<0,0001
28	5,67±0,04a	5,55±0,03b	5,53±0,02	5,47±0,07			No lineal	
60	5,66±0,04a	5,55±0,02b	5,50±0,02	5,46±0,08				DxMxMad p<0,001

Efecto de la dieta y el músculo para cada día de maduración:

D: Selenio<Control en días 7 (p<0,0001), 21 (p<0,05), 28 (p<0,05). NS en días 0 y 14.

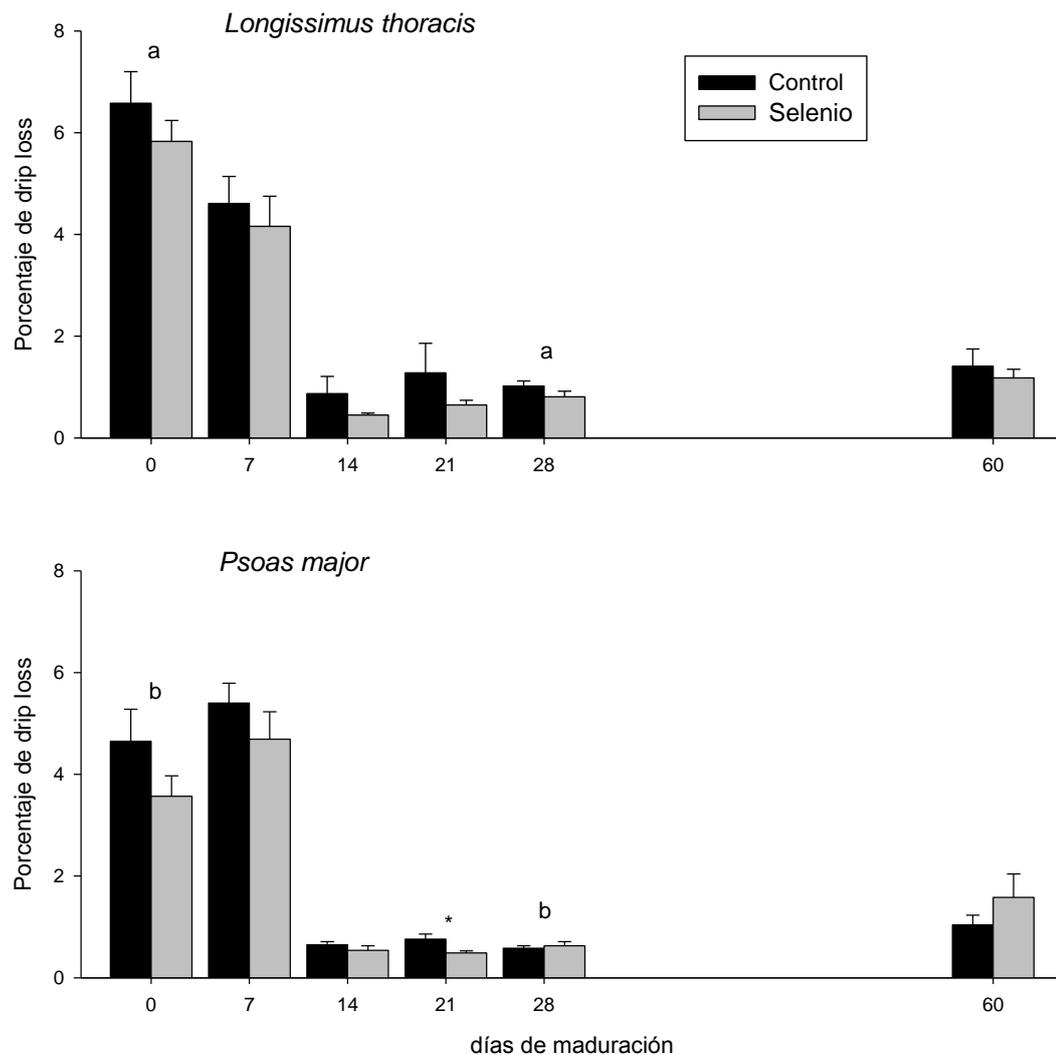
M: LT<PM en días 0 (p<0,001), 7 (p<0,05), 21 (p<0,0001). PM<LT en días 28 (p<0,05) y 60 (p<0,05). NS al día 14.

Efecto de la dieta para cada músculo: LT: Selenio<Control (p<0,0001) - **PM:** NS.

Los valores son medias ± EEM con un n=10. Mad= maduración. d= días. LT= Longissimus thoracis. PM= Psoas major. C= grupo Control. Se= grupo Selenio. D= dieta. M= músculo. Inter= interacciones. NS= diferencias no significativas. Letras diferentes indican diferencias significativas entre dietas en cada día de maduración dentro de cada músculo (p<0,05).

3.5. DRIP LOSS

El drip loss es un importante parámetro de la carne, es clave en la aceptación o rechazo de la carne por parte del consumidor ya que está asociado a la jugosidad, textura y terniza, además es importante para el comerciante que vende o compra la carne por su peso (Cheng y Wen Sun, 2008). Se mencionó que el pH afecta el drip loss, pero además la oxidación lipídica y proteica podrían tener su rol (Ventanas *et al.*, 2006). Para evaluar



Efectos principales: Dieta Selenio<Control ($p<0,05$) - Músculo PM<LT ($p<0,05$) - Maduración 14, 28, 21 y 60<7 y 0 ($p<0,0001$), descenso lineal ($p<0,0001$) - Interacciones: Músculo x Maduración ($p<0,0001$).

Efectos para cada día de maduración: Dieta: NS en todos los días - Músculo: letras distintas (a,b) indican diferencias significativas ($p<0,05$).

Efecto de la dieta para cada músculo: LT: NS - PM: NS.

Figura 6. Porcentaje de drip loss en los músculos *Longissimus thoracis* y *Psoas major*, frescos y madurados, de los novillos Aberdeen Angus de los grupos Control y Selenio. Los valores son medias \pm EEM con un $n=10$. LT= *Longissimus thoracis*. PM= *Psoas major*. NS= diferencias no significativas. El asterisco indica diferencias significativas entre dietas dentro de cada músculo y para cada día de maduración ($p<0,05$).

si la suplementación con Se-levadura tuvo un efecto sobre el drip loss se midió este parámetro en los músculos frescos y madurados. Los valores medios de drip loss registrados en los LT se encontraron entre 0,45 % y 6,58 % y en los PM se encontraron entre 0,49 % y 5,4 % (Fig. 6).

Al analizar el efecto principal de la dieta se observó que los músculos del grupo Selenio presentaron menores porcentajes de drip loss que los del grupo Control ($p < 0,05$). Al analizar el efecto de la dieta para cada día no se observaron diferencias significativas. Tampoco se observó efecto de la dieta para cada músculo y cuando se analizó para cada día dentro de cada músculo solo se observó diferencia significativa entre las dietas en el PM al día 21 ($p < 0,05$) como lo indica el asterisco en la figura 6, aunque en la gran mayoría de los días el grupo Selenio mostró menores porcentajes de drip loss. Por lo tanto la suplementación mostró ser beneficiosa para reducir el drip loss, aunque no se observó una relación entre el drip loss y la oxidación lipídica y proteica, ya que el primer parámetro no mostró ser afectado por la dieta y el segundo sólo mostró ser mejorado por la suplementación en el LT.

El drip loss fue diferente en cada músculo, observándose menor drip loss en los PM ($p < 0,05$). Al analizarlo por día de maduración esta misma diferencia se observó a los días 0 y 28 ($p < 0,001$ y $p < 0,05$ respectivamente), no encontrando diferencias significativas entre los músculos para el resto de los días (Fig. 6).

La maduración mostró afectar el drip loss, observándose una clara disminución de los porcentajes con el tiempo de maduración, al día 14 disminuyen notoriamente respecto a los días 0 y 7 y luego se mantienen hasta el día 60 ($p < 0,0001$) (Fig. 6). Según Morón-Fuenmayor y Zamorano (2004) en las primeras horas *post mortem* (24 a 72 horas) el drip loss de las carnes refrigeradas aumenta, esto no fue registrado en el presente estudio ya que se midió a las 36 horas *post mortem* (día 0) y luego al día 7, posiblemente haya existido un aumento del drip loss antes de las 36 horas debido al *rigor mortis* (Ouali *et al.*, 2006) y luego del envasado al vacío el drip loss fue parejo al menos hasta el día 7. Luego la pérdida comenzó a ser

menor, seguramente debido a que la mayoría del agua libre ya se habría perdido (Tornberg, 2005). Al día 60 el drip loss tiende a un pequeño aumento (no significativo), incluso luego de un largo periodo de tiempo, quizás sea debido a que la oxidación y consecuente degradación de las proteínas provocaría la liberación del agua ligada a estas.

3.6. ACTIVIDAD DE LA GLUTATIÓN PEROXIDASA

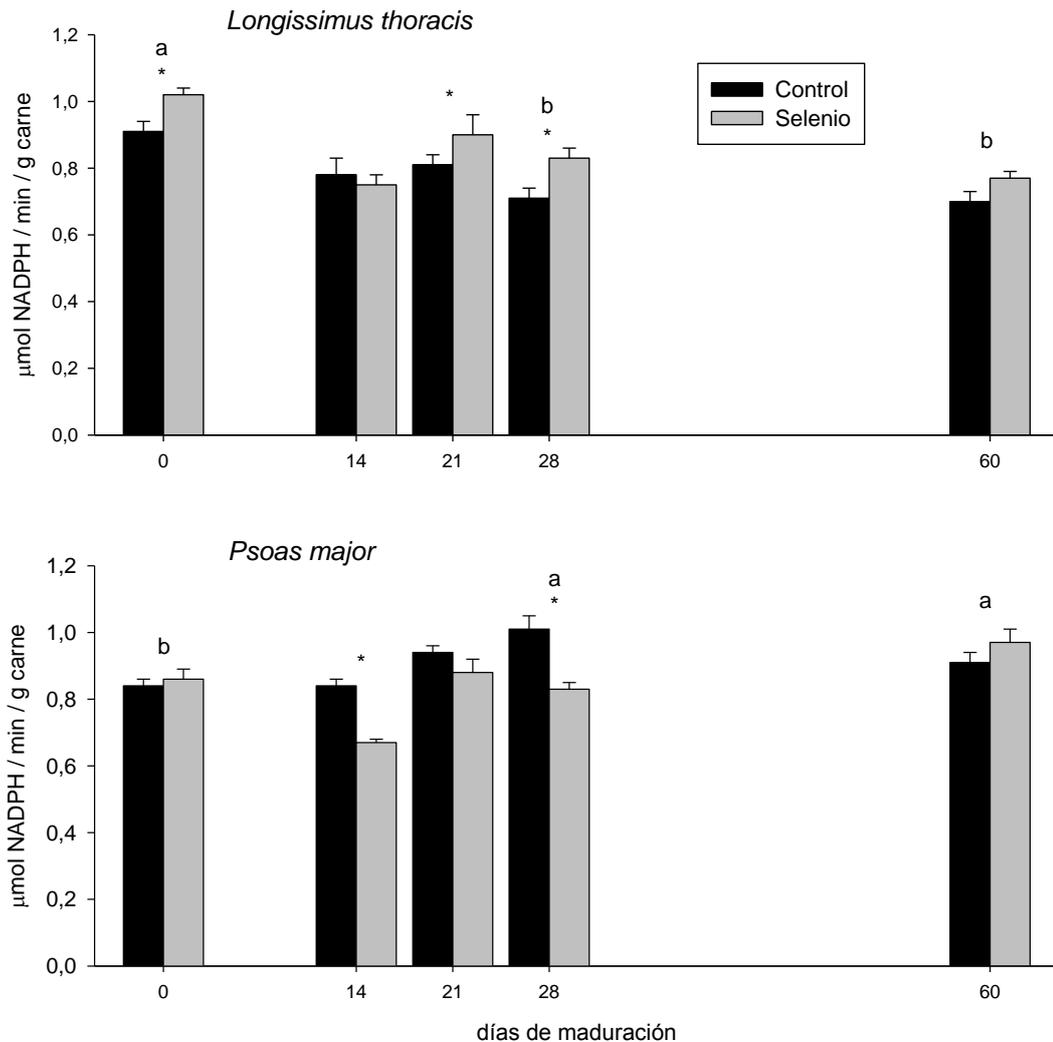
La GPx es una importante enzima antioxidante que utiliza el Se como cofactor y el glutatión como sustrato (Matés *et al.*, 1999), se conoce que el Se dietario se acumula en el músculo y otros tejidos (Juniper *et al.*, 2008) y que el glutatión se encuentra en altas concentraciones en el músculo esquelético (Descalzo y Sancho, 2008), por lo tanto conociendo la función de esta enzima y su dependencia por el Se es que se decidió medir la actividad de la GPx para ver si existe alguna relación entre esta, la suplementación con Se y la oxidación lipídica y proteica de los músculos.

En el LT, los valores medios se encontraron entre 0,70 y 1,02 μ moles NADPH/min/g carne (Fig. 7) y al expresarlo por mg de proteínas se encontraron entre 7,3 y 10,9 nmol NADPH/min/mg proteína (Fig. 8). En los PM los valores medios se encontraron entre 0,67 y 1,01 μ moles NADPH/min/g carne (Fig. 7) y al expresarlo por mg de proteínas se encontraron entre 7,1 y 10,4 nmol NADPH/min/mg proteína (Fig. 8).

Al analizar los efectos de la dieta y del músculo se observaron los mismos resultados tanto cuando se expresó por gramos de carne como cuando se expresó por mg de proteína. No se observó efecto de la dieta como efecto principal sobre la actividad de la GPx. Cuando se analizó para cada día de maduración se observó que al día 0 los músculos del grupo Selenio tuvieron mayor actividad de la GPx que los del grupo Control ($p < 0,05$ al expresarlo por g carne y $p < 0,01$ al expresarlo por mg proteína), al día 14 se observó lo contrario ($p < 0,01$ tanto al expresarlo por g carne como

por mg proteína) y al día 60 volvió a ser mayor la actividad en los cortes del grupo Selenio ($p < 0,05$, tanto al expresarlo por g carne como por mg proteína). Cuando se analizó el efecto de la dieta para cada músculo se observó que la suplementación aumentó la actividad de la GPx de los LT ($p < 0,01$ tanto al expresarlo por g carne como por mg de proteína), sin embargo en los PM se observó lo contrario ($p < 0,05$ tanto al expresarlo por g carne como por mg de proteína). A su vez dentro de cada músculo se analizó el efecto de la dieta para cada día de maduración, dentro de los LT se observó mayor actividad en los suplementados a los días: 0 ($p < 0,05$ al expresarlo por g carne y $p < 0,01$ al expresarlo por mg proteína), 21 ($p < 0,05$ tanto al expresarlo por g carne como por mg proteína) y 28 ($p < 0,01$ tanto al expresarlo por g carne como por mg proteína), para el resto de los días no se observaron diferencias significativas. Dentro de los PM se observó menor actividad en los suplementados a los días 14 ($p < 0,0001$ tanto al expresarlo por g carne como al expresarlo por mg proteína) y 28 ($p < 0,001$ tanto al expresarlo por g carne como por mg proteína), para el resto de los días no se observaron diferencias significativas. Estas diferencias significativas dentro de cada músculo para cada día se indican en las figuras 7 y 8 con un asterisco.

Al analizar el efecto de los músculos como efecto principal se observó mayor actividad de la GPx en los PM que en los LT ($p < 0,0001$ al expresarlo por g de carne y $p < 0,001$ al expresarlo por mg de proteína). Cuando se analizó el efecto de los músculos para cada día de maduración se observó que al día 0 los LT presentaron mayor actividad ($p < 0,001$ al expresarlo por g de carne y $p < 0,0001$ al expresarlo por mg de proteína) y a los días 28 y 60 los PM presentaron mayor actividad ($p < 0,0001$ tanto al expresarlo por g de carne como por mg de proteína, para ambos días). Estas diferencias significativas entre músculos para cada día se indican con las letras a y b en las figuras 7 y 8. Por lo tanto, los LT presentarían mayor actividad GPx que los PM, pero cuando son madurados, la actividad sería mayor en los PM.

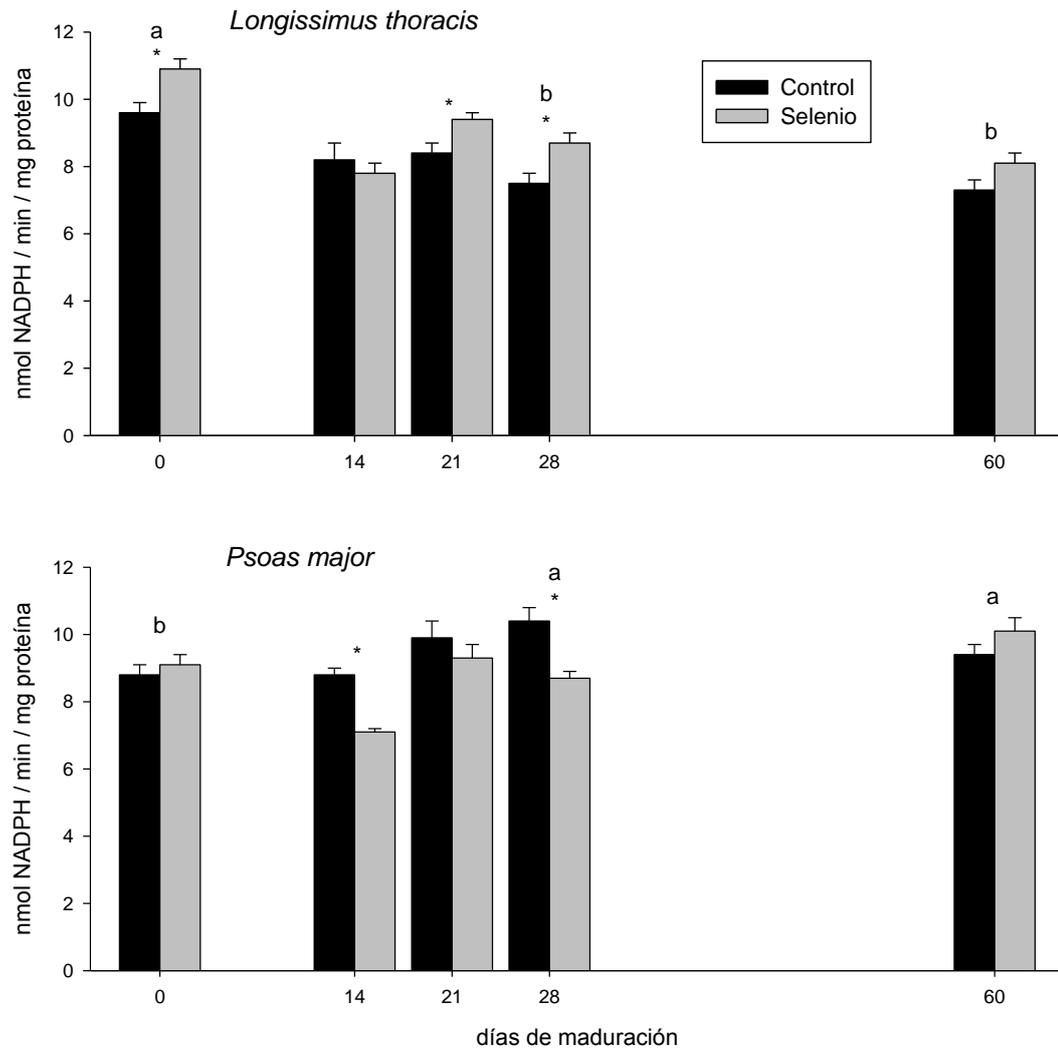


Efectos principales: Dieta NS - Músculo LT<PM ($p<0,0001$) - Maduración 14<60, 28, 21 y 0 / 60 y 28<0 ($p<0,0001$), no lineal - Interacciones: Dieta x Músculo ($p<0,0001$), Dieta x Maduración ($p<0,001$), Músculo x Maduración ($p<0,0001$), Dieta x Músculo x Maduración ($p<0,05$).

Efectos para cada día de maduración: Dieta: Control<Selenio en días 0 ($p<0,05$) y 60 ($p<0,05$), Selenio<Control al día 14 ($p<0,01$), NS en días 21 y 28 - Músculo: letras distintas (a,b) indican diferencias significativas ($p<0,05$).

Efecto de la dieta para cada músculo: LT: Control<Selenio ($p<0,01$) - PM: Selenio<Control ($p<0,05$).

Figura 7. Actividad de la GPx por g de carne en los músculos *Longissimus thoracis* y *Psoas mayor*, frescos y madurados, de los novillos Aberdeen Angus de los grupos Control y Selenio. Los valores son medias \pm EEM con un $n=10$. LT= *Longissimus thoracis*. PM= *Psoas mayor*. NS= diferencias no significativas. El asterisco indica diferencias significativas entre dietas en cada día de maduración dentro de cada músculo ($p<0,05$).



Efectos principales: Dieta NS - Músculo LT<PM ($p<0,001$) - Maduración 14<60, 28, 21 y 0 / 60<0 ($p<0,0001$), descenso lineal ($p<0,05$) - Interacciones: Dieta x Músculo ($p<0,0001$) - Dieta x Maduración ($p<0,001$) - Músculo x Maduración ($p<0,0001$) - Dieta x Músculo x Maduración ($p<0,05$).

Efectos para cada día de maduración: Dieta: Control<Selenio en días 0 ($p<0,01$) y 60 ($p<0,05$), Selenio<Control al día 14 ($p<0,01$), NS en días 21 y 28 - Músculo: letras distintas (a,b) indican diferencias significativas ($p<0,05$).

Efecto de la dieta para cada músculo: LT: Control<Selenio ($p<0,01$) - PM: Selenio<Control ($p<0,05$).

Figura 8. Actividad de la GPx por mg de proteína en los músculos *Longissimus thoracis* y *Psoas major*, frescos y madurados, de los novillos Aberdeen Angus de los grupos Control y Selenio. Los valores son medias \pm EEM con un $n=10$. LT= *Longissimus thoracis*. PM= *Psoas major*. NS= diferencias no significativas. El asterisco indica diferencias significativas entre dietas en cada día de maduración dentro de cada músculo ($p<0,05$).

Finalmente se analizó el efecto principal de la maduración, y se observó que cuando se expresó la actividad GPx por g de carne se encontraron diferencias significativas entre los días de maduración, pero no existió una tendencia al aumento o disminución de la actividad GPx con el tiempo de maduración. Sin embargo cuando se analizó el efecto de la maduración sobre los valores expresados por mg de proteína se observó una disminución de la actividad GPx al aumentar el tiempo de maduración ($p < 0,05$).

Por lo tanto, la suplementación (0,30 mg Se/kg MS) no mostró un efecto principal sobre la actividad de la GPx de los músculos madurados hasta 60 días. Sin embargo al discriminar entre músculos la suplementación aumentó la actividad de la GPx en los LT y la disminuyó en los PM. Trabajos anteriores como los de Juniper *et al.* (2008) y O'Grady *et al.* (2001) quienes trabajaron en *Longissimus* de bovinos y Vignola *et al.* (2009) quienes trabajaron en LT de ovinos, apoyan los resultados observados en los LT, sin embargo no es de esperar lo observado en los PM, aunque no se hayan encontrado estudios similares sobre este músculo, se supone que se comportarían de forma similar a los LT ya que son metabólicamente similares (Talmant y Monin; 1986).

Estos efectos del Se dietario sobre la actividad de la GPx no se vieron reflejados en la oxidación lipídica de los músculos. Sin embargo parece existir una asociación con la oxidación proteica en el LT, donde el aumento de la actividad de la GPx, debido a la suplementación, podría ser la causa de la disminución de la oxidación proteica observada en este mismo músculo. Cabe destacar que no se conocen trabajos anteriores que relacionen la actividad de la GPx con la oxidación proteica en los músculos.

3.7. PARÁMETROS PRODUCTIVOS

Si bien no fue el objetivo de este trabajo, se registraron datos de las pesadas de los novillos vivos y de sus canales y también de la tipificación de estas canales. Al momento de ingresar los novillos del grupo Control pesaron 386 ± 5 kg y los del grupo Selenio pesaron 388 ± 3 kg, sin mostrar diferencia significativa. A los 110 días de encierro los del grupo Control pesaron 523 ± 3 kg y los del grupo Selenio pesaron 505 ± 3 kg, siendo los primeros significativamente más pesados ($p < 0,0001$) (Cuadro 5).

Las canales pre-dressing y calientes del Control también fueron más pesadas que las del grupo Selenio ($p < 0,0001$ para ambas características). Las canales pre-dressing pesaron 294 ± 2 kg y 276 ± 2 kg para los grupos Control y Selenio, respectivamente. Y las canales calientes pesaron 262 ± 2 kg y 246 ± 2 kg para los grupos Control y Selenio, respectivamente (Cuadro 5). El rendimiento de la canal también fue mayor en el grupo Control ($p < 0,001$), presentando valores medios de $50,2 \pm 0,3$ % contra $48,8 \pm 0,3$ % del grupo Selenio (Cuadro 5).

Cuadro 5. Peso vivo y características de la canal de los novillos Aberdeen Angus de los grupos Control y Selenio.

Grupo	n	PVi ¹ (kg)	PVf ² (kg)	Pre-dressing ³ (kg)	Canal caliente ⁴ (kg)	Rend. ⁵ (%)
Control	35	386 ± 5	$523 \pm 3a$	$294 \pm 2a$	$262 \pm 2a$	$50,2 \pm 0,3a$
Selenio	36	388 ± 3	$505 \pm 3b$	$276 \pm 2b$	$246 \pm 2b$	$48,8 \pm 0,3b$

Los valores son medias \pm EEM. ¹ Peso vivo de los novillos al momento de ingresar al corral. ² Peso vivo de los novillos a los 110 días de encierro. ³ Peso de la canal pre-dressing. ⁴ Peso de la canal caliente. ⁵ Porcentaje de rendimiento de la canal. Letras diferentes indican diferencias significativas entre las dietas ($p < 0,05$).

3.8. TIPIFICACIÓN DE LA CANAL

En cuanto a los resultados de tipificación se observaron canales con conformaciones N y A en ambos grupos y canales con grados de terminación (1=), (1+), (2-), (2=) y (2+) también en ambos grupos. Y tanto para la conformación como para la terminación, no se observaron diferencias significativas entre los grupos (Cuadro 6).

Por lo tanto, según estos resultados, la suplementación con Selenio se asociaría a novillos más livianos a los 110 días de encierro, con canales pre-dressing y calientes más livianas y con rendimientos más bajos, mientras que no afectaría significativamente la conformación y terminación de las canales.

Cuadro 6. Conformación y terminación de la canal de los novillos Aberdeen Angus de los grupos Control y Selenio.

Grupo	n	Conformación (puntos)	Terminación (puntos)
Control	35	1,31 ±0,08	3,2 ±0,2
Selenio	36	1,19 ±0,07	2,9 ±0,2

Los valores son medias ± EEM. La conformación se tipificó de acuerdo a la clasificación INACUR de INAC, registrándose solo canales N y A. Para el análisis estadístico se le asignó un puntaje a cada letra, siendo N=2 y A=1. La terminación también se tipificó de acuerdo a la clasificación de INAC, según esto se registraron canales entre (1=) y (2+) grados, para el análisis estadístico se les asignó un puntaje del 1 al 5 según el siguiente esquema: (1=)=1, (1+)=2, (2-)=3, (2=)=4 y (2+)=5. Letras diferentes indican diferencias significativas entre las dietas ($p < 0,05$).

Estos resultados no se esperaban ya que el Se tendría efectos beneficiosos sobre la regulación metabólica y sobre el sistema inmune (Fordyce, 2005), además los niveles suplementados están por debajo del

máximo tolerable establecido por el Consejo de Investigación Nacional de los Estados Unidos, el cuál sería de 2 mg/kg MS (NRC U.S., 2000). En todo caso se podría esperar una baja de peso que se explique por una disminución de la grasa de cobertura debido a un cambio en el metabolismo, sin embargo esto no ocurrió. No se encontraron trabajos anteriores en bovinos para discutir estos resultados, pero un trabajo realizado en cerdos por Mahan *et al.* (1999) mostró que la suplementación con Se no afectó el peso vivo, y un trabajo realizado en ratas por Ewan (1976) mostró que la suplementación con Se logra que las ratas coman más y crezcan más rápido, estos trabajos confirman que los resultados de peso vivo, peso y rendimiento de la canal, no fueron lo esperado. Otra explicación podría ser que este no fue el objetivo de este trabajo por lo que no se diseñó el experimento pensando en estos análisis, para estudiar estos parámetros de peso vivo y características de la canal, por ejemplo los novillos deberían estar separados individualmente y llevar un control más exhaustivo del consumo.

6. CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos podemos concluir que la suplementación con Se-levadura (0,30 mg Se/kg MS) en novillos Aberdeen Angus terminados con concentrados:

- no afectaría la oxidación lipídica de los músculos *Longissimus thoracis* y *Psoas major* madurados al vacío hasta 60 días.
- Sería efectiva en disminuir la oxidación proteica, aumentar el enrojecimiento y el amarillamiento y disminuir el pH en el *Longissimus thoracis* madurados al vacío hasta 60 días, este efecto sería explicado por el aumento de la actividad de la GPx en este mismo músculo debido a la suplementación con Se.
- Además sería efectiva en reducir el drip loss de los músculos madurados al vacío hasta 60 días.

Los *Longissimus thoracis* madurados al vacío hasta 60 días serían más resistentes a la oxidación lipídica que los *Psoas major*.

Los *Psoas major* serían menos luminosos, más rojos, con mayor pH, menor drip loss y mayor actividad de la GPx que los *Longissimus thoracis*.

No habría diferencias entre músculos al compararlos según los niveles de oxidación proteica y amarillamiento.

La maduración de los músculos al vacío durante 60 días a 1-2 °C aumentaría la oxidación lipídica, no afectaría la oxidación proteica y disminuiría la actividad de la GPx al expresarla por mg de proteína, aumentaría la luminosidad y el enrojecimiento sin afectar el amarillamiento, el pH no se vería afectado y el drip loss disminuiría claramente luego del día 7 de maduración.

Por lo tanto, la suplementación con Se-levadura no fue efectiva en disminuir la oxidación lipídica de los músculos madurados derivados de novillos terminados con concentrados, pero fue efectiva en disminuir la oxidación proteica, mejorar el enrojecimiento y el amarillamiento y disminuir el pH de los *Longissimus thoracis*, además podría ser efectiva en disminuir el drip loss de los músculos madurados al vacío. Estos son efectos positivos en términos de calidad de la carne y son favorables para el consumidor, comerciantes y productor.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Arthur JR. 2000. The glutathione peroxidase. *Cellular Molecular Life Science* 57: 1825-1835.
- Berlett BS, Stadtman ER. 1997. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *The Journal of Biological Chemistry* 272: 20313-20316.
- Bendall JR, Swatland HJ. 1988. A Review of the relationship of pH with physical aspects of pork quality. *Meat Science* 24: 85-126.
- Botsoglou NA, Yannakopoulos AL, Fletouris DJ, Tserveni-Goussi AS and Fortomaris PD. 1997. Effect of dietary thyme on the oxidative stability of egg yolk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 3711-3716.
- Buckley DJ, Morrissey PA, Gray JI. 1995. Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. *Journal of Animal Science* 73: 3122-3130.
- Cabrera M, Ramos A, Saadoun A, Brito G. 2010. Selenium, copper, zinc, iron and manganese content of seven meat cuts from Hereford and Braford steers fed pasture in Uruguay. *Meat Science* 84: 518–528.
- Campo M, Nute G, Hughes S, Enser M, Wood J, Richardson R. 2006. Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Science* 72: 303-311.
- Cascone A. 2005. Study and prevention of lipid oxidation in meat. Tesis Doctoral. Nápoles, Italia. Universidad de Nápoles Federico II. 11p.
- Cecarini V, Gee J, Fioretti E, Amici M, Angeletti M, Eleuteri AM, Keller JN. 2007. Protein oxidation and cellular homeostasis: emphasis on metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research* 1773: 93-104.
- Cheng Q, Wen Sun D. 2008. Factors affecting the water holding capacity of red meat products: a Review of recent research advances. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48:137-159
- Cifuni GF, Napolitano F, Riviezzi AM, Braghieri A, Girolami A. 2004. Fatty acid profile, cholesterol content and tenderness of meat from Podolian young bulls. *Meat Science* 67: 289–29.
- Cozzi G, Prevedello P, Stefani AL, Piron A, Contiero B, Lante A, Gottardo F, Chevaux E. 2011. Effect of dietary supplementation with different sources of selenium on

- growth response, selenium blood levels and meat quality of intensively finished Charolais young bulls. *Animal* 5(10): 1531-1538.
- Crane FL, Navas P. 1997. The diversity of coenzyme Q function. *Molecular Aspects of Medicine* 18: 1-6.
- De Azevedo Gomes H, da Silva EN, Lopes do Nascimento MR, Fukuma HT. 2003. Evaluation of the 2-thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. *Food Chemistry* 80: 433-437.
- De Vore VR, Greene BE. 1982. Glutathione Peroxidase in Post-Rigor Bovine Semitendinosus Muscle. *Journal of Food Science* 47: 1406-1409.
- Del Puerto M. 2009. Tipo de almidón dietario y su influencia en la cinética del pH, color, Fe hemínico y oxidación de lípidos y proteínas de los m. *Pectoralis* y *Gastrocnemius* aviar. Tesis de Maestría. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. 7, 15p.
- Descalzo AM, Rossetti L, Sancho AM, García PT, Biolatto A, Carduza F, Grigioni GM. 2008. Antioxidant consumption and development of oxidation during ageing of buffalo meat produced in Argentina. *Meat Science* 79: 582-588.
- Descalzo AM, Sancho AM. 2008. A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef product in Argentina. *Meat Science* 79: 423-436.
- Descalzo AM, Rossetti L, Grigioni G, Irurueta M, Sancho AM, Carrete J, Pensel NA. 2007. Antioxidant status and odour profile in fresh beef from pasture or grain-fed cattle. *Meat Science* 75: 299-307.
- Descalzo AM, Insani EM, Biolatto A, Sancho AM, García PT, Pensel NA, Josifovich JA. 2005. Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Science* 70: 35-44.
- Drandsfield E. 1994. Optimisation of tenderisation, ageing and tenderness. *Meat Science* 36: 105-121.
- Estévez M. 2011. Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Science* 89: 259-279.
- Ewan RC. 1976. Effects of selenium on rat growth, growth hormone and diet utilization. *Journal of Nutrition* 106: 702-709.
- FAO (Organización para la Alimentación y Agricultura). 2014. Agriculture and Consumer Protection Department/ Animal Production and Health/ Animal production/ Meat and meat production [En línea]. Consultado 22 marzo 2014. Disponible en: <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/meat/home.html>

-
- Fernández J, Pérez-Álvarez JA, Fernández-López JA. 1997. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry* 59: 345-353.
- Fordyce F. 2005. Selenium deficiency and toxicity in the environment. *Essentials of Medical Geology: Impacts of the natural environment on public health*. 15: 373-414.
- Gatellier P, Mercier Y, Renerre M. 2004. Effect of diet finishing mode (pasture or mixed diet) on antioxidant status of Charolais bovine meat. *Meat Science* 67: 385-394.
- Greene BE, Cumuze TH. 1981. Relationship between TBA numbers and inexperienced panellists' assessments of oxidized flavor in cooked beef. *Journal of Food Science* 47: 52-54, 58.
- Halliwel B, Chirico S. 2003. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *The American Journal of Clinical Nutrition* 57: 15-25.
- Hartikainen H. 2005. Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 18: 309-318.
- Hernández J, Ríos F. 2009. Efecto de los grupos raciales bovinos en las características de calidad de la carne [En línea]. *Necameh* 3(1): 1-20. Consultado 22 marzo 2014. Disponible en:
http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/v3n1/Nacameh_v3n1_001Hernandez&Rincon.pdf
- Huerta-Leidenz N, Morón-Fuenmayor O. 1996. Variación de características en pie y en canal de bovinos en Venezuela y su relación con el rendimiento de cortes valiosos. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Zulia, Venezuela* 5(1): 53-57.
- Huff-Lonergan E., Zhang W, Lonergan SM. 2010. Biochemistry of post mortem muscle - Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Science* 86: 184-195.
- Immonen K, Ruusunen M, Hissa K, Puolanne E. 2000. Bovine muscle glycogen concentration in relation to finishing diet, slaughter and ultimate pH. *Meat Science* 55: 25-31.
- INAC (Instituto Nacional de Carnes) 2014a. Algunas definiciones prácticas [En línea]. Consultado 25 marzo 2014. Disponible en:
http://www.inac.gub.uy/innovaportal/file/6351/1/algunas_definiciones_practicas.pdf
- INAC (Instituto Nacional de Carnes) 2014b. Consumo de carnes en el mercado interno [En línea]. Consultado 25 marzo 2014. Disponible en:
http://www.inac.gub.uy/innovaportal/file/9200/1/mercado_interno_cierre_ano_2013.pdf

- INAC (Instituto Nacional de Carnes) 2014c. Anuario 2013. Parte 4: Exportación [En línea]. Consultado 29 abril 2014. Disponible en:
http://www.inac.gub.uy/innovaportal/file/9249/1/4_anuario_2013_exportacion.pdf
- INAC (Instituto Nacional de Carnes) 2014d. Manual de cortes [En línea]. Consultado 26 marzo 2014. Disponible en:
http://www.inac.gub.uy/innovaportal/v/1668/1/innova.net/manual_de_cortes
- INAC (Instituto Nacional de Carnes) 2014e. Clasificación de carne vacuna [En línea]. Consultado 22 marzo 2014. Disponible en:
http://www.inac.gub.uy/innovaportal/v/1776/1/innova.net/clasificacion_carne_vacuna
- Insani EM, Eyherabide A, Grigioni G, Sancho AM, Pensel NA, Descalzo AM. 2008. Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated display of beef produced in Argentina. *Meat Science* 79: 444-452.
- Juniper DT, Phipps RH, Ramos-Morales E, Bertin G. 2008. Effect of dietary supplementation with selenium-enriched yeast or sodium selenite on selenium tissue distribution and meat quality in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 86: 3100-3109.
- Kanner J. 1994. Oxidative processes in meat and meat products: Quality implications. *Meat Science* 36: 169-189.
- Lamare M, Taylor RG, Farout L, Briand Y, Briand M. 2002. Changes in proteasome activity during post mortem aging of bovine muscle. *Meat Science* 61: 199-204.
- Larraín RE, Schaefer DM, Richards MP, Reed JD. 2008. Finishing steers with diets based on corn, high-tannin sorghum or a mix of both: color and lipid oxidation in beef. *Meat Science* 79: 656-665.
- Li JG, Zhou JG, Zhao H, Lei XG, Xia XJ, Gao G, Wang KN. 2011. Enhanced water-holding capacity of meat was associated with increased *Sepw1* gene expression in pigs fed selenium-enriched yeast. *Meat Science* 87: 95-100.
- Liu SM, Sun HX, Jose C, Murray A, Sun ZH, Briegel JR, Jacob R, Tan ZL. 2011. Phenotypic blood glutathione concentration and selenium supplementation interactions on meat colour stability and fatty acid concentrations in Merino lambs. *Meat Science* 87: 130-139.
- MacDougall DB. 1982. Changes in the colour and opacity of meat. *Food Chemistry* 9: 75-88
- Mahan DC, Cline TR, Richert B. 1999. Effects of dietary levels of selenium-enriched yeast and sodium selenite as selenium sources fed to growing-finishing pigs on performance, tissue selenium, serum glutathione peroxidase activity, carcass characteristics, and loin quality. *Journal of Animal Science* 77: 2172-2179.

-
- Matés JM, Pérez-Gómez C, Núñez de Castro I. 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry* 32: 595-603.
- Morón-Fuenmayor OE, Zamorano L. 2004. Pérdida por goteo en carne cruda de diferentes tipos de animales. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Zulia, Venezuela* 14(1): 36-39.
- Morrissey PA, Sheehy PJA, Galvin K, Kerry JP, Buckley DJ. 1998. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science* 49: 73-86.
- NRC U.S. (Consejo de Investigación Nacional de los Estados Unidos). 2000. Nutrient Requirements of Beef Cattle [En línea]. Consultado 24 marzo 2014. Disponible en: http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=9791&page=54
- O'Grady M, Monahan F, Fallon R, Allen P. 2001. Effects of dietary supplementation with vitamin E and organic selenium on the oxidative stability of beef. *Journal of Animal Science* 79: 2827-2834.
- Ouali A, Herrera-Mendez CH, Coulis G, Becila S, Boudjellal A, Aubry L, Sentandreu MA. 2006. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Science* 74: 44-58.
- Pietrzak M, Greaser ML, Sosnicki AA. 1997. Effect of rapid rigor mortis processes on protein functionality in pectoralis major muscle of domestic turkeys. *Journal of Animal Science* 75: 2106-2126.
- Popova T, Marinova P, Vasileva V, Gorinov Y, Lidji K. 2009. Oxidative changes in lipids and proteins in beef during storage. *Archiva Zootechnica* 12(3): 30-38.
- Priolo A, Micol D, Agabriel J. 2001. Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavour: A review. *Animal Research* 50: 185-200.
- Realini CE, Duckett SK, Brito GW, Dalla Rizza M, De Mattos D. 2004. Effect of pasture vs concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. *Meat Science* 66: 567-577.
- Renner M. 1982. Influence de l'âge et du poids à l'abattage sur le couleur des viandes bovines. *Sciences des Aliments* 2: 17-30.
- Ripoll G, Joy M, Muñoz F. 2011. Use of dietary vitamin E and selenium (Se) to increase the shelf life of modified atmosphere packaged light lamb meat. *Meat Science* 87: 88-93.
- Rowe LJ, Maddock KR, Lonergan SM, Huff-Lonergan. 2004. Influence of early post mortem protein oxidation on beef quality. *Journal of Animal Science* 82: 785-793.

-
- Saadoun A, Ramos A, Palma R, Cabrera MC. 2011. Hierro, zinc, cobre, selenio y manganeso en el músculo de novillos Aberdeen Angus terminados a pasturas, pasturas con suplementación ó feedlot. Reunión de ALPA 2011. Montevideo, Uruguay, 24-26 octubre 2011.
- Santé-Lhoutellier V, Engel E, Aubry L, Gatellier P. 2008. Effect of animal (lamb) diet and meat storage on myofibrillar protein oxidation and in vitro digestibility. *Meat Science* 79(4): 777-783.
- Scollan N, Hocquette JF, Nuernberg K, Dannenberger D, Richardson I, Moloney A. 2006. Innovation in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Science* 74: 17:33.
- Seifried HE. 2003. The antioxidant conundrum in cancer. *Cancer Res.* 63: 4295-4298.
- Talmant A, Monin G. 1986. Activities of Metabolic and Contractile Enzymes in 18 Bovine Muscles. *Meat Science* 18: 23-40.
- Tarladgis BG, Watts BM, Younathan MT, Dugan L Jr. 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of the American Oil Chemists Society* 37(1): 44-48.
- Tarrant PV. 1989. The Effect of transport, slaughter and chilling on meat quality and yield in pigs. *Journal of Food Science and Technology* 13: 79-107.
- Terevinto A, 2010. Oxidación lipídica y proteica, capacidad antioxidante y actividad de las enzimas catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa en la carne fresca y madurada de novillos Hereford y Braford. Tesis de Maestría. Montevideo, Universidad de la República. 21, 22, 25 p.
- Tornberg E. 2005. Effects of heat on Meta proteins: Implication on Structure and quality of meat products. *Meat Science* 70: 493-508.
- USDA-FAS (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos – Servicio Agrícola Exterior). 2014. Livestock and Poultry World Markets and Trade. Circular Abril 2014 [En línea]. Consultado 29 abril 2014. Disponible en: <http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/fas/livestock-poultry-ma//2010s/2014/livestock-poultry-ma-04-18-2014.pdf>
- Ventanas S, Estévez M, Tejeda JF, Ruiz J. 2006. Protein and lipid oxidation in *Longissimus dorsi* and dry cured loin from Iberian pigs as affected by crossbreeding and diet. *Meat Science* 72: 647-655.

- Vignola G, Lambertini L, Mazzone G, Giammarco M, Tassinari M, Martelli G, Bertin G. 2009. Effects of selenium source and level of supplementation on the performance and meat quality of lambs. *Meat Science* 81: 678-685.
- Weiss SL, Sunde RA. 1998. Cis-acting elements are required for selenium regulation of glutathione peroxidase-1 mRNA levels. *RNA* 4: 816-827.
- Yang A, Brewster MJ, Lanari MC, Tume RK. 2002b. Effect of vitamin E supplementation on α -tocopherol and β -carotene concentrations in tissues from pasture- and grain-fed cattle with or without vitamin E supplement. *Meat Science* 60: 35-40.
- Yang A, Lanari MC, Brewster M, Tume RK. 2002a. Lipid stability and meat colour of beef from pasture- and grain-fed cattle with or without vitamin E supplement. *Meat Science* 60: 41-50.
- Yanyan Z, Suzhen Z, Xuepeng W, Chunyang W, Fuchang L. 2011. The effect of dietary selenium levels on growth performance, antioxidant capacity and glutathione peroxidase 1 (GSHPx1) mRNA expression in growing meat rabbits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 169: 259-264.
- Zhou S, Decker EA. 1999. Ability of Carnosien and Other Skeletal Muscle Components To Quench Unsaturated Aldehydic Lipid Oxidation Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 51-55.

8. ANEXOS

8.1. ABREVIATURAS

°C - grados Celsius	GPx - glutatión peroxidasa
a* - enrojecimiento	GSH - glutatión reducido
AA - aminoácido	GSSG - glutatión oxidado
ADN - ácido desoxiribonucleico	H - hidrógeno
ADP - adenosín difosfato	h - horas
ANOVA - análisis de varianza	H ₂ O - agua
ARNm - ácido ribonucleico mensajero	H ₂ O ₂ - peróxido de hidrógeno
ATP - adenosín trifosfato	HCl - ácido clorhídrico
b* - amarillamiento	HO• - radical hidroxilo
BHT - Butil hidroxitolueno	KCl - cloruro de potasio
BSA - seroalbúmina bovina	kg - kilogramo
CAT - catalasa	KH ₂ PO ₄ - fosfato de potasio monobásico
cm - centímetro	L* - luminosidad
CO ₂ - dióxido de carbono	LT - <i>Longissimus thoracis</i>
Cu - cobre	M - molar
DFD - carnes oscuras, firmes y secas	MAP - envasado a atmósfera modificada
DNPH - dinitrofenilhidrazina	MDA - malondialdehído
EDTA – ácido etilendiaminotetracético	Mg - magnesio
EEM - error estándar de la media	mg - miligramos
Fe - hierro	min - minutos
g - gramo	ml - mililitros
GLM - modelo general lineal	mM - milimolar
	Mn - manganeso

MS - materia seca	RO [•] - radical alcoxilo
NaN ₃ - azida de sodio	ROO [•] - radical peroxilo
nm - nanómetros	ROOH - hidroperóxidos lipídicos
nmol - nanomoles	ROS - especies reactivas al oxígeno
O ₂ - oxígeno	rpm - revoluciones por minuto
O ₂ ^{•-} - radical anión superóxido	Se - selenio
pHu - pH último	SOD - superóxido dismutasa
PM - <i>Psoas major</i>	TBA - ácido tiobarbitúrico
PSE - carnes pálidas, blandas y exudativas	TBARS - especies reactivas al ácido tiobarbitúrico
PUFA - ácidos grasos poliinsaturados	TCA - ácido tricloroacético
PV - peso vivo	U - unidades de inhibición
R [•] - radical lipídico	WHC - capacidad de retención de agua
RCV% - rendimiento de cortes valiosos	Zn - zinc
RH - ácido graso	μl - microlitro
	μmol - micromoles

8.2. LIPID AND PROTEIN OXIDATION AND PARAMETERS OF MEAT QUALITY FROM ABERDEEN ANGUS STEERS FINISHED WITH CONCENTRATES AND SUPPLEMENTED WITH ORGANIC SELENIUM.

Graziano Franko ^{a,b}, Terevinto Alejandra ^{a,b}, Cabrera Cristina ^{a,b},
Saadoun Ali ^{b,*}

^a Dpto. Producción Animal y Pasturas, Laboratorio Calidad de los Alimentos, Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Garzón 780, C.P. 12900 Montevideo, Uruguay.

^b Sección Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, Universidad de la República. Iguá 4225, C.P. 11400 Montevideo, Uruguay.

** Corresponding author: Saadoun A., Sección Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, Universidad de la República. Iguá 4225, C.P. 11400 Montevideo, Uruguay. (+598) 25258620 int. 151. asaadoun@fcien.edu.uy*

ABSTRACT

Valuable meat cuts are aged in vacuum packing and stored at low temperature to enhance its tenderness and flavor. These cuts are aged for more than 14 days and even 4 months in some cases. Long times would increase oxidation of lipids and proteins to levels that could affect color, flavor, tenderness, pH, water holding capacity and nutritional quality of meat. There are antecedents which describe that antioxidant supplementation could help to reverse this oxidation. This study evaluated the effect of supplementation with organic selenium in steers finished with concentrates on lipid and protein oxidation of *Longissimus thoracis* and *Psoas major* muscles fresh and aged for 60 days. Beside we measured color, pH, drip loss and glutathione peroxidase activity. Supplementation had no effect on lipid oxidation in both aged muscles, but was effective to reducing protein oxidation, increased redness and yellowness and reducing pH of aged *Longissimus thoracis*, this effect would be explained by increased of glutathione peroxidase activity in this muscle due to supplementation with selenium. Furthermore the supplementation was effective to reducing drip loss of aged muscles for long times, derived from steers finished with concentrates.

Key words: meat, oxidation, selenium.

1. Introduction

Meat provides valuable and beneficial health nutrients, contains high levels of protein of high biological value, vitamins, minerals and micronutrients, which are essential for the growth and development of our bodies (FAO, 2014). Uruguay sells high quality beef cuts, vacuum packed and stored at 1-2 °C for at least 14 days, even some markets require at least 28 days of aging. This process is performed because it is associated with greater tenderness and flavor intensity (Ouali *et al.*, 2006). However, extensive maturation time may affect the lipid and protein oxidation of meat. Lipid oxidation begins with the attack of the reactive oxygen species (ROS) to poliinsaturated lipids (PUFA) from cell membranes, then spreads because it is a self-catalytic process and promotes oxidation of myoglobin resulting in deterioration of the color, in addition to the formation of rancid odors and unwanted flavors meat (Descalzo *et al.*, 2005; Campo *et al.*, 2006). Protein oxidation of meat is associated with loss of function of the muscle proteins, causing an increase in water loss, weaker protein gels or less stable emulsions, such modifications may adversely affect texture, tenderness, color, water holding capacity and nutritional value (Ventanas *et al.*, 2006; Estévez, 2011).

Muscles contain an endogenous antioxidant defense system consisting of enzymes and other non-enzymatic agents. One of the antioxidant enzymes is the glutathione peroxidase (GPx), an enzyme that dependent to selenium (Se) as cofactor (Hartikainen, 2005; Vignola *et al.*, 2009). Studies on cattle have shown

that supplementation with Se increases GPx activity in muscle (De Vore & Greene, 1982; Juniper *et al.*, 2008). However it would not be effective to reducing lipid oxidation of beef (O'Grady *et al.*, 2001; Juniper *et al.*, 2008) or mutton (Vignola *et al.*, 2009; Ripoll *et al.*, 2011). These results led the authors to assume that Se dietary has a potential limit on the lipid oxidative stability of meat. This concept is in part supported by a Yanyan *et al.* study on rabbits (2011), where measured parameters such as daily weight gain, conversion efficiency, absorption of Se and GPx expression and defined the optimal level of supplementation with selenite in a level below the maximum studied. As mentioned, there are studies about the effect of supplementation with Se on GPx activity and lipid oxidation, but not it found studies on the protein oxidation of meat.

The objective of this study is to determine whether supplementation with organic Se on steers finished in feed-lot could be an effective tool to minimize lipid and protein oxidation of two valuable muscles for the uruguayan market, *Longissimus thoracis* (striploin) and *Psoas major* (tenderloin), fresh and aged under vacuum until 60 days. GPx activity was also determined to see if supplementation with Se increases antioxidant enzyme activity. And were determined for these same muscles the evolution of color, pH and drip loss during a maturation period of 60 days.

2. Material and methods

2.1. Animals and diets

After being raised on pasture, a total of 286 Aberdeen Angus steers 24 to 26 months of age were weighted and confined in two corrals, forming two groups of 139 and 147 steers. Once in the corrals both groups received 110 days a diet rich in concentrates, comprising whole plant sorghum silage, sorghum wet grain, wheat bran and a premix composed of wheat bran, urea, calcium salts, phosphorus and MONENSIN. The group of 147 steers was supplemented with 0.30 mg Se/kg DM, supplied with Sel-Plex an extract of yeast enriched with selenomethionine (0.0015 kg Sel-Plex/day/animal). Moreover, the group of 139 steers received no supplementation. According to chemical analysis by the research team, the basal diet contained 0.1 mg Se/kg DM. Completed 110 days of confinement, 35 steers from the no supplemented group and 36 steers from the supplemented group were weighed and sent to a slaughterhouse. The first were called Control group and the second Selenium group.

2.2. Slaughter

At the slaughterhouse, steers were slaughtered and were extracted leather, viscera, head and limbs and pre-dressing weight was registered. Then was performed the dressing (removal of the tail and shall attract, scrotal

adipose tissue, pericardial adipose tissue, kidney and kidney's fat, adipose tissue from pelvic canal, muscle sterno-hyoid and sterno-thyroid and elastic connective tissue of diaphragm) and hot carcass weight were registered. With these data the dressing percentage was calculated, dividing the hot carcass weight between body weight pre-slaughter and multiplying this by 100. After of 4th scale carcasses were passed in front of a scanner that imaged it and typified it automatically according to their conformation and finishing following the criteria of the classification of Instituto Nacional de Carne (INAC, 2014), this means that the conformation was typified by the letters I, N, A, C, U, R where I = large muscle development and R = large muscle deficiency, and the finishing was typified with grades 0 to 4 where 0 = lack of coverage and 4 = excessive finish, turn each grade was subdivided into (-), (=) and (+). Once weighed and passed in front of the scanner, the carcasses were cooled in the cold room at about 4 ° C.

2.3. *Sampling and aging*

At 36 hours *postmortem* were extracted from the first 10 steers slaughtered of each group, the muscles *Longissimus thoracis* (LT) and *Psoas major* (PM), which correspond to the striploin and tenderloin commercial cuts respectively. The muscles were subdivided into portions of approximately 3 cm in thickness, a portion it of each muscle were measured color, pH and drip loss, then were vacuum packed with impermeable nylon at oxygen and then frozen at

-20 °C until determining the lipid and protein oxidation and GPx activity. These portions correspond to fresh samples or day 0 of aging. Other portions were vacuum packed and aged at 1-2 °C for 7, 14, 21, 28 and 60 days. Once you complete aging time were frozen at -20 °C until determinations color, pH, drip loss, lipid and protein oxidation and GPx activity.

2.4. *Measurement of color*

Samples were removed from the freezer and they opened the nylon bag to remove the vacuum and exposed to fresh air and ambient temperature, then of 25 minutes measurements were taken on the surface of the sample using a MINOLTA BC10, by measuring the parameters: lightness (L *), enrojamiento (a *) and yellowness (b *). Measurements were performed in duplicate on aged samples 0, 7, 14, 21 and 28 days, belonging to 10 steers from Control group and 10 steers from Selenium group.

2.5. *Measurement of pH*

pH and color measurement were performed at the same time on the same samples. To measure the pH first was made a cut on the muscle, the glass electrode of pHmeter (Oakton® Acorn™ Series pH 6) was introduced perpendicularly, avoiding contact of the electrode tip with fat and was waited a stable measure to register the reading. Finally the sensor was cleaned with

distilled water prior to the next step. Measurements were performed in duplicate.

2.6. *Determination of drip loss*

The samples of muscles of 1 cm wide x 1 cm high x 3 cm long were extracted, by cutting longitudinally the muscle fiber. The portions were weighed on an analytical balance and placed in plastic bottle, suspended with wire network, preventing the portion touch the walls and the bottle cap. Were stored at 2-4 °C for 24 hours and weighed, finally the percentage loss between both weightings were calculated. Measurements were performed in duplicate on aged samples 0, 7, 14, 21, 28 and 60 days, belonging to 10 steers from Control group and 10 steers from Selenium group.

2.7. *Determination of lipid oxidation*

TBARS (thiobarbituric acid reactive species) were measured following the method of Lynch and Frei (1993) described by Gatellier *et al.* (2004) and adapted by Terevinto (2010). Approximately 10 grams from each muscle sample were homogenized with 200 ml of extraction buffer (0.15 M KCl + 0.02 M EDTA) and 2 ml of 0.30 M BHT in a Waring-Blendor mixer at maximum speed for 1 minute. 8 ml of this homogenate were extracted and were frozen until next day for determining protein oxidation. For the test of TBARS, 30 ml of

homogenate were extracted and centrifuged at 2000 g and 4 °C for 10 min and then 1 ml of supernatant was extracted into a tube, to which was added 1 ml of TBA-TCA mixture (TBA 35 mM, TCA 10% in 125 mM HCl). The target was prepared with the extraction buffer and subjected to the same procedure as the samples. The samples and the target were placed in boiling for 30 min, then on ice for 5 min to stop the reaction at ambient temperature for 45 min.

2 ml of n-butanol were added, centrifuged at 3000 g and 15 °C for 10 min and the supernatant absorbance was measured in a spectrophotometer (Genesys-6) at 535 nm. MDA concentration in the samples was calculated using the molar extinction coefficient of 156.000 M⁻¹ cm⁻¹ and the results were expressed in mg of MDA/kg of meat.

TBARS levels were determined for samples aged 0, 14, 21, 28 and 60 days, belonging to 10 steers from Control group and 10 steers from Selenium group. To these same samples was determined the protein oxidation.

2.8. *Determination of protein oxidation*

Was followed the method described by Mercier *et al.* (2004) and adapted by Terevinto (2010). First the homogenized samples were thawed the day before and then 2 ml of each sample was extracted and to the target 1 ml from any sample was extracted completed with 1 ml from any other sample. Were centrifuged at 2000 g and 4 °C for 10 min, 2 ml of 2 M HCl were added to the target and 2 ml of 20 mM 2,4-Dinitrophenylhydrazine dissolved in 2 M HCl to

the samples. Were incubated at ambiental temperature for 1 hour, by mixing in a vórtex every 10 min. 2 ml of 20% TCA was added, and allowed to stand for 15 min by mixing in a vórtex every 5 min. Then centrifuged at 2000 g and 15 °C for 10 min, and the supernatant was removed. Were washed pellet 3 times with 4 ml of ethanol:ethyl acetate (1:1), centrifuging after each washing to remove traces of 2,4-Dinitrophenylhydrazine. Then the pellet was dissolved in 6 ml of guanidine in 20 mM KH_2PO_4 and incubated at ambiental temperature for 15 min by mixing every 5 min. Finally were centrifuged at 2400 g and 15 °C for 10 min and the absorbance of supernant was measured in duplicate in a spectrophotometer (Genesys-6) at 370 nm. The concentration of the reaction product 2,4-Dinitrifenílhidrazona (DNPH) of samples was calculated using the molar extinction coefficient of $22,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ and the results were expressed as nmol of DNPH/mg protein.

2.9. Determination of protein concentration

The concentration of protein of each homogenate was measured to express the protein oxidation per mg of protein, following the method described in Stoscheck (1990) and adapted by Terevinto (2010). A standard curve was made from a stock solution of 10 mg/ml BSA (Sigma). Each point of the curve was done in triplicate by measuring absorbance at 280 nm. The absorbance (optical density) as a function of protein concentration (mg/ml) was plotted.

Absorbance measurements of the samples were performed in duplicate and their protein concentrations were extrapolated using the standard curve.

2.10. *Determination of glutathione peroxidase activity*

GPx activity determination was performed based on the measurement of NADPH oxidation, by the method described by De Vore & Greene (1982) and Flohe Günzler (1985) and adapted by Terevinto (2010).

First, 5 g of muscles samples were extracted and placed in falcon tubes, in turn this were placed in a container with ice. Then homogenized with 25 ml of extraction buffer (KH₂PO₄ 50 mM and EDTA 0.5 mM, pH 7.0) using an Ultra Turrax T18 homogenizer for 1 minute at speed 3 (about 18000 rpm). The homogenate was centrifuged at 2000 g for 2 min at 4 °C and the supernatant was vacuum filtered with filter paper using a Bucher funnel and a Kitasato. The filtrate was collected in a tube and placed on ice until measure the GPx activity. A 4 ml aliquot was stored in a freezer at -20 °C to determine the protein concentration by the method described above.

Then the reaction medium was prepared by adding 5.51 µL of glutathione reductase 1.5 U, 0.0154 g of 1 mM reduced glutathione, 1.10 ml of 6.8 mM H₂O₂, 0.0032 g of 50 mM NaN₃ (pH 7.0), 0.0062 g of 0.15 mM NADPH and was completed to 50 ml with extraction buffer.

An empty tube per sample was placed in a rack into the waterbath, and in each tube was introduced 1980 µL of the reaction medium. When the medium

temperature came to 22 °C was added to each tube 20 ml of filtrate of corresponding sample and stirred rapidly and was transferred to a quartz cuvette to measure the absorbance of NADPH at 340 nm every 30 sec for 30 min (the first 30 sec were discarded). This way the decrease in absorbance per unit time was determined, and knowing the molar extinction coefficient of NADPH ($6300 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) was calculated mg NADPH oxidized per minute per gram of meat (mg NADPH/min/g meat). To express it per milligram of protein were used the protein concentration data previously performed, and the oxidation levels were expressed in nmol NADPH instead of mg (nmol NADPH/min/mg protein).

2.11. Statistical analysis

For statistical analysis the NCSS (2007) program was used. The main effects for diet, aging and muscle were analyzed by ANOVA and Tukey-Kramer test using the GLM procedure ($P < 0.05$). The same method was performed to analyze the diet and muscle effect for each day of aging and also when the diet effect within each muscle was analyzed. However, when diet effect was analyzed for each day of aging within each muscle was performed a one-way ANOVA and Tukey-Kramer test ($P < 0.05$). A One-way ANOVA and Tukey-Kramer test ($P < 0.05$) was also performed when the diet effect on body weight and carcass characteristics was analyzed. Results are expressed as mean \pm standard error of the mean (SEM).

3. Results and discussion

3.1. Lipid oxidation

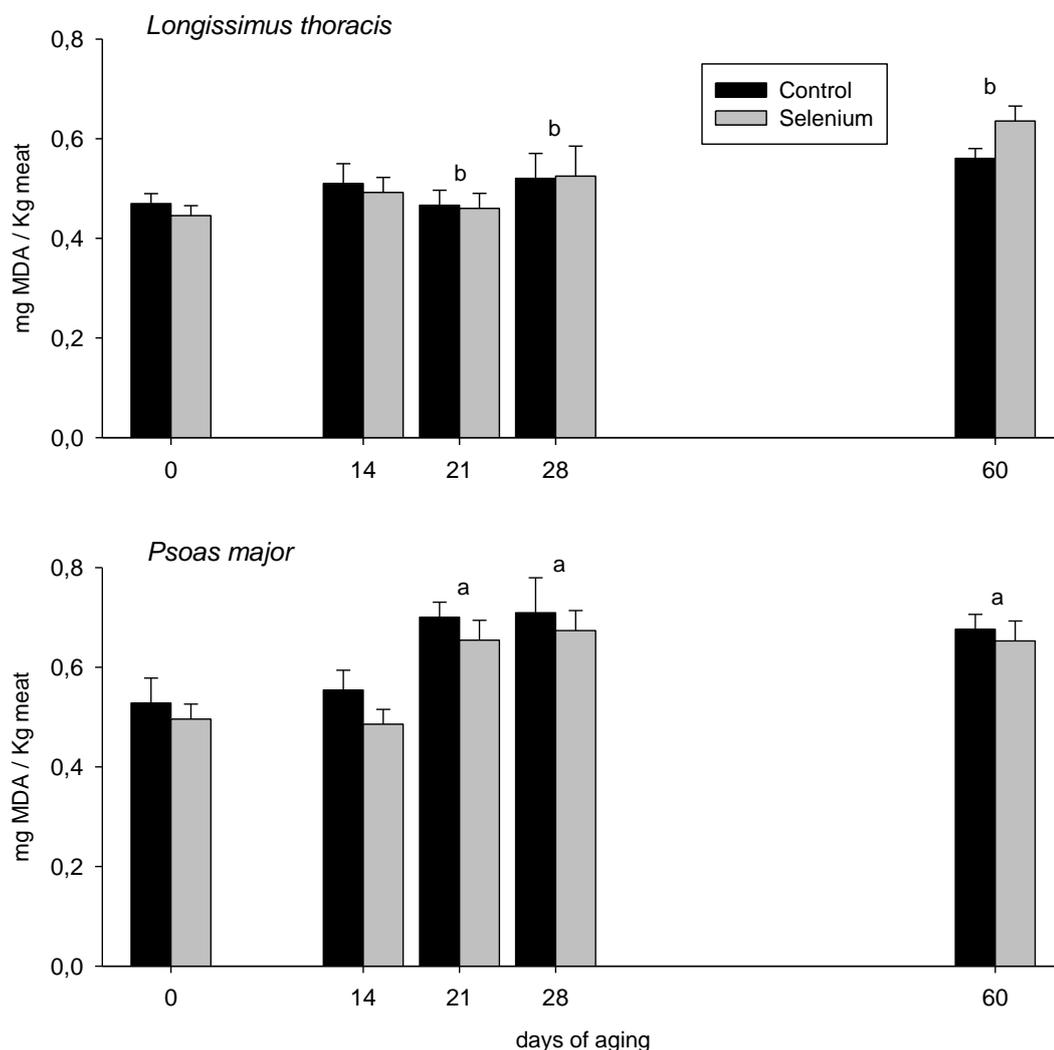
To determine lipid oxidation on LT and PM fresh and aged 14, 21, 28 and 60 days the TBARS method was used, by measuring mg MDA/kg meat. The LT mean values were between 0.45 and 0.64 mg MDA/kg meat and the PM mean values were between 0.49 and 0.71 mg MDA/kg meat (Fig. 4). These values are below the limit of acceptability described by Campo *et al.* (2006) (2 mg MDA/kg meat) and Greene & Cumuze (1981) (0.6 to 2.0 mg TBA/kg meat) (Fig. 1).

When analyzing the main effect for diet on lipid oxidation of muscles no significant difference between Control and Selenium groups was observed (Fig. 1). When the diet effect for each day of aging was analyzed not significant difference between the groups was observed. When the diet effect to each muscle was analyzed not significant difference between the groups was observed, both for LT as for PM (Fig. 1). When the diet effect for each day of aging within each muscle was analyzed not significant difference between the groups was observed. These results agree with the studies of Juniper *et al.* (2008) and O'Grady *et al.* (2001), who studied the *Longissimus* on cattle, and Ripoll *et al.* (2011) and Vignola *et al.* (2009) who studied the whole tenderloin and LT on sheep, respectively. These authors, as in the present study found no effect of supplementation with Se on lipid oxidation of muscle. This result could be due to the level of Se in the basal diet (0.1 mg Se/kg DM), enough to cover the

requirements of the steers (NRC, 2000), could be enough to reach the potential limit of antioxidant activity through the GPx, as has been suggested Ripoll *et al.* (2011) and Vignola *et al.* (2009) in their studies on sheep and Yanyan *et al.* (2011) in his study on rabbits.

When analyzing the main effect for muscle on lipid oxidation was observed that LT had lower TBARS than PM ($P < 0.0001$) (Fig. 1). When the muscle effect for each day of aging was analyzed it was noted that LT had lower TBARS than the PM at 21, 28 and 60 days ($P < 0.0001$, $P < 0.01$, $P < 0.05$) as indicated by the letters a and b in figure 1, while for the other days no significant differences were found. Lipid oxidation was different in each muscle although muscles are metabolically similar (Talmant and Monin, 1986), the causes may be due to the antioxidative status of each muscle or different concentration and/or lipid composition of meat.

Finally the main effect for aging on lipid oxidation of muscles was analyzed, where significant differences between some days of aging were observed ($P < 0.0001$) by showing a linear increase with aging days ($P < 0.0001$) (Fig. 1). This result was expected since the lipid oxidation is an autocatalytic reaction that increases over time (Morrissey *et al.*, 1998), vacuum packaging and low temperatures can only delay this process.



Main Effects: Diet: NS - Muscle: LT<PM ($P<0.0001$) - Aging: 0<21, 28 y 60 / 14<28 y 60 ($P<0.0001$), linear increase ($P<0.0001$)
 - Interactions: Muscle x Aging ($P<0.01$).
Effects for each day of aging: Diet: NS for all days - Muscle: different letters (a,b) indicate significant differences ($P<0.05$).
Effect of diet for each muscle: LT: NS - PM: NS.

Figure 1. Lipid oxidation in Longissimus thoracis and Psoas major muscles, fresh and aged, of Aberdeen Angus steers from Control and Selenium group. Values are means \pm SEM with $n=10$. LT= Longissimus thoracis. PM= Psoas major. NS= no significant differences.

3.2. *Protein oxidation*

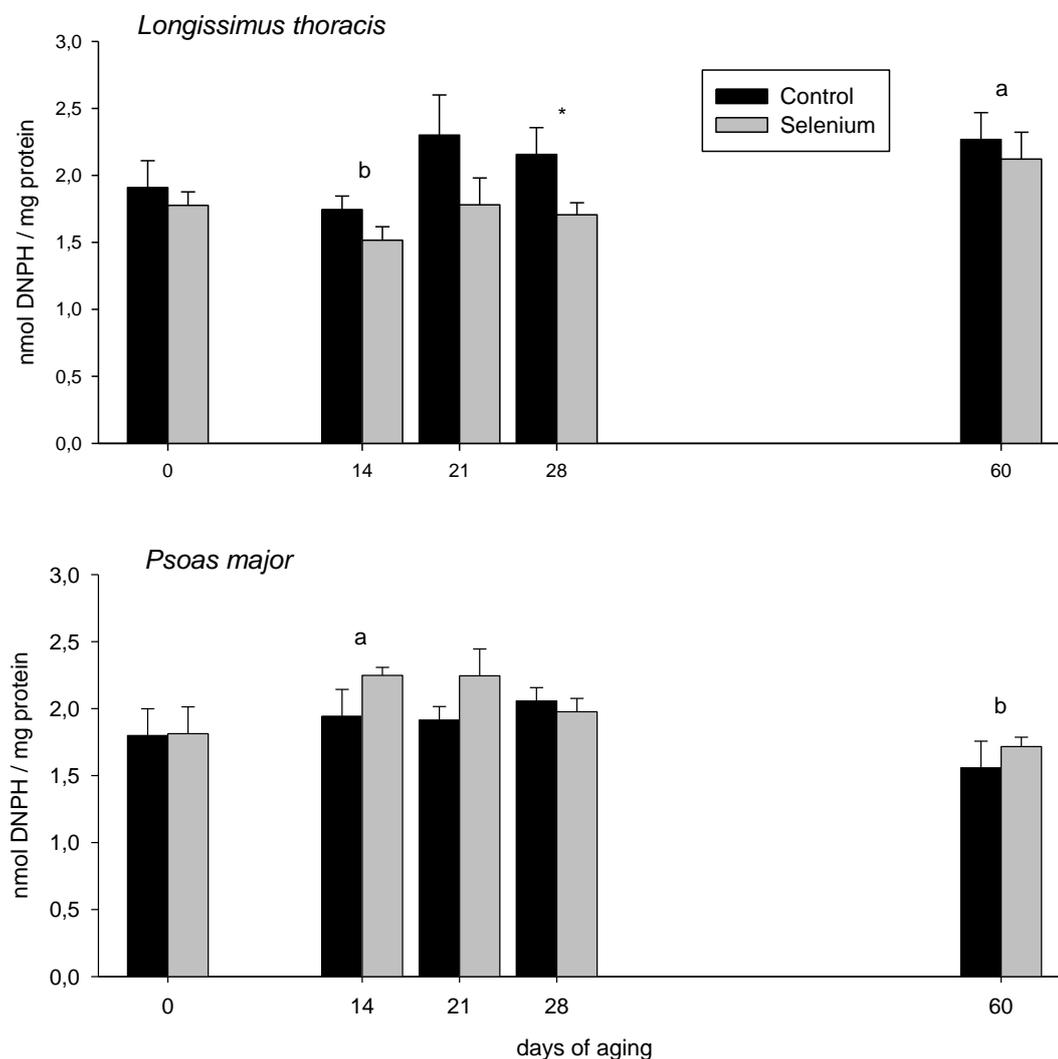
Protein oxidation on fresh and aged 14, 21, 28 and 60 days PM and LT muscles were determined, using the DNPH method. For LT, mean values were between 1.5 and 2.3 nmol DNPH/mg protein and for PM values were between 1.6 and 2.2 nmol DNPH/mg protein (Fig. 2). Even these values would be within the levels registered for the fresh meat as Estévez (2011) 1-3 nmol DNPH/mg protein.

When analyzing the main effect for diet on protein oxidation of muscles no significant difference between Control and Selenium groups was observed. When the diet effect for each day of aging was analyzed it was observed at day 28 that Selenium group showed less carbonyls than Control ($P < 0.05$) for the other days no significant differences were observed. When the diet effect was analyzed to each muscle was observed that the Selenium group showed less carbonyls than Control on LT ($P < 0.01$) and no significant difference between diets on PM. When the diet effect for each day of aging was analyzed within each muscle only significant difference between the diets was observed in LT at 28 days, where the Selenium group had fewer carbonyls than the Control ($P < 0.05$) as indicated by the asterisk in figure 2. Therefore, supplementation with Se-yeast did not affect protein oxidation in both fresh muscles, while in aged muscles decreased the protein oxidation in the LT and did not affect the PM.

When analyzing the main effect for diet on protein oxidation no significant difference between the muscles was observed. When muscle effect

for each day of aging was analyzed only significant differences at 14 and 60 were observed, with the particularity that at day 14 LT had lower protein oxidation than PM ($P < 0.01$) and at day 60 the contrary was observed ($P < 0.01$) (Fig. 2).

Finally, the main effect for aging on protein oxidation of muscles was analyzed and no significant differences between days of aging were observed (Fig. 2). It is not clear the process of protein oxidation over time, some authors (Santé-Lhoutellier *et al.*, 2008; Popova *et al.*, 2009) have observed an increase in protein oxidation with aging time, but they packed with oxygen permeable film, nevertheless in the present study were vacuum packed and protein oxidation remained stable, at least until 60 days of aging.



Main effects: Diet: NS - Muscle: NS - Aging: NS
 - Interactions: Diet x Muscle ($P < 0.01$), Muscle x Aging ($P < 0.001$).
Effects for each day of aging: Diet: Selenium < Control at day 28 ($P < 0.05$), NS for days 0, 14, 21 y 60 - Muscle: different letters (a,b) indicate significant differences ($P < 0.05$).
Effecto of diet for each muscle: LT: Selenium < Control ($P < 0.01$) - PM: NS.

Figure 2. Protein oxidation in Longissimus thoracis and Psoas major muscles, fresh and aged, of Aberdeen Angus steers from Control and Selenium group. Values are means \pm SEM with $n=10$. LT= Longissimus thoracis. PM= Psoas major. NS= no significant differences. Asterisk indicates significant differences between diets for each day of aging within each muscle ($P < 0.05$).

3.3. *Glutathione peroxidase activity*

GPx is an important antioxidant enzyme that used Se as cofactor and glutathione as substrate (Matés *et al.*, 1999), it known that dietary Se accumulates in muscle and other tissues (Juniper *et al.*, 2008) and that glutathione is found in high concentrations in skeletal muscle (Descalzo & Sancho, 2008), therefore knowing the function of this enzyme and its Se dependence is that it was decided to measure the GPx activity to see if there is any connection between this, supplementation with Se and lipid and protein oxidation on muscles.

LT mean values were found between 0.70 and 1.02 μ moles NADPH/min/g meat (Fig. 3) and between 7.3 and 10.9 nmol NADPH/min when expressed per mg of protein (Fig. 4). PM mean values were found between 0.67 and 1.01 μ moles NADPH/min/g meat (Fig. 3) and between 7.1 and 10.4 nmol NADPH/min/mg when expressed per mg of protein (Fig. 4).

When analyzing the diet and muscle effects the same results were observed when expressed per g of meat than when expressed per mg protein. No was observed main effect of diet on GPx activity. When analyzed for each day of maturation was observed that on day 0, or in fresh muscles, Selenium group had higher GPx activity than Control group ($P < 0.05$ when expressed per g meat and $P < 0.01$ to express per mg protein), at day 14 the opposite was observed ($P < 0.01$ thus when expressed per g meat as per mg protein) and on day 60 again increased the activity in the cuttings of Selenium group ($P < 0.05$ thus when

expressed per g meat as per mg protein). When the diet effect was analyzed for each muscle was observed that supplementation increased GPx activity of LT ($P < 0.01$ thus when expressed per g meat as per mg protein), but in PM the opposite was observed ($P < 0.05$ thus when expressed per g meat as per mg protein). In turn within each muscle the diet effect for each day of aging was analyzed, within LT the greater activity was observed in the supplemented at day 0 ($P < 0.05$ when expressed per g meat and $P < 0.01$ when expressed per mg protein), 21 ($P < 0.05$ thus when expressed per g meat as mg protein) and 28 ($P < 0.01$ thus when expressed per g meat as mg protein), for the rest of the days no significant differences were observed. Within PM the less activity was observed in supplemented on days 14 ($P < 0.0001$ thus when expressed per g meat as per mg protein) and 28 ($P < 0.001$ thus when expressed per g meat as per mg protein), for the rest of the days no significant differences were observed. These significant differences within each muscle for each day are shown in figures 3 and 4 with an asterisk.

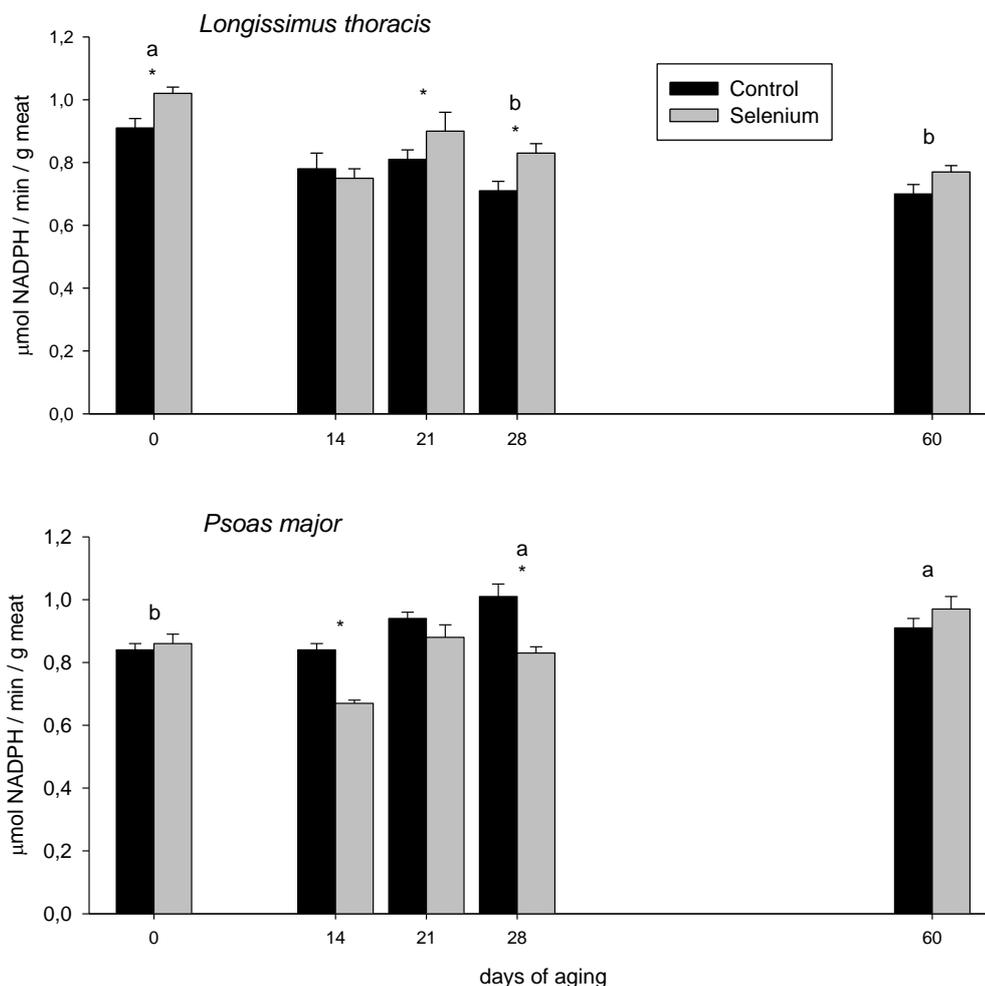
When analyzing the main effect for muscle greater GPx activity was observed in PM than in LT. When muscle effect for each day of aging was analyzed it was observed that at day 0 the LT showed higher activity ($P < 0.001$ when expressed per g of meat and $P < 0.0001$ when expressed per mg protein) and at 28 and 60 the PM had higher activity ($P < 0.0001$ thus when expressed per g of meat as per mg of protein, for two days). These significant differences between muscles for each day are indicated by letters a and b in figures 3 and 4.

Therefore LT presented higher GPx activity than PM, but when they are aged, the activity would be higher in the PM.

Finally the main effect for aging on GPx activity was analyzed, and significant differences between days were found when expressed per g of meat, but was not observed a tendency to increase or decrease GPx activity over time of aging. However when the aging effect was analyzed on the values expressed per mg protein, a decrease in GPx activity was observed with increasing aging time ($P < 0.05$).

Therefore, supplementation (0.30 mg/kg DM) showed no major effect on the GPx activity of aged muscles until 60 days. But when was discriminated between muscles, supplementation increased GPx activity on LT and decreased on the PM. Previous studies such as Juniper *et al.* (2008) and O'Grady *et al.* (2001) who worked on *Longissimus* of cattle and Vignola *et al.* (2009) who worked on *Longissimus thoracis* of sheep, supporting the results observed in LT, however it is not expected that observed in PM, but though have not found similar studies on this muscle is assumed to behave similarly LT, because they are metabolically similar (Talmant & Monin, 1986).

These effects of dietary Se on GPx activity were not reflected on lipid oxidation of muscle. However there appears to be associated with protein oxidation in LT, where increasing GPx activity, due to supplementation, may be the cause of the decrease in protein oxidation observed on this muscle. Note that no previous studies that relate GPx activity with protein oxidation on muscles are known.



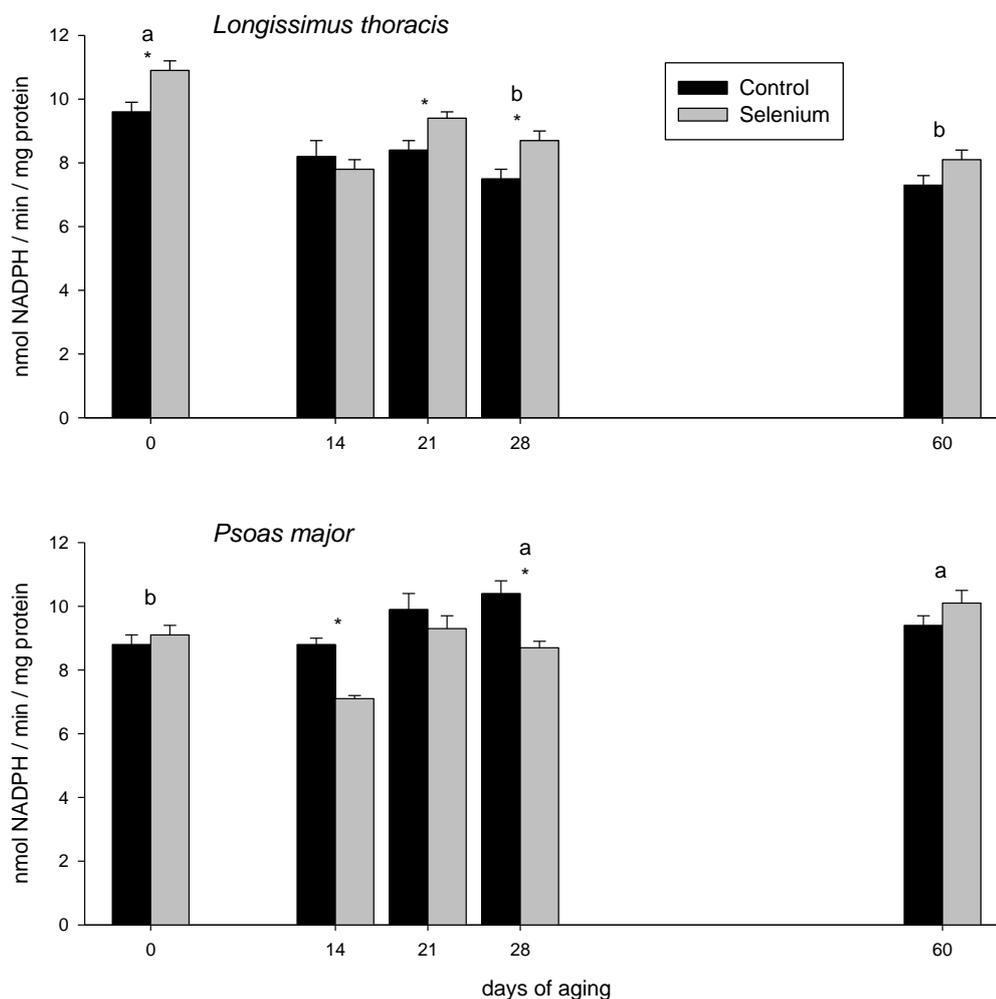
Main effects: Diet NS - Muscle LT<PM ($P<0.0001$) - Aging 14<60, 28, 21 and 0 / 60 and 28<0 ($P<0.0001$), no linear - Interactions: Diet x Muscle ($P<0.0001$), Diet x Aging ($P<0.001$), Muscle x Aging ($P<0.0001$), Diet x Muscle x Aging ($P<0.05$).

Effects for each day of aging: Diet: Control<Selenium for days 0 ($P<0.05$) and 60 ($P<0.05$), Selenium<Control at day 14 ($P<0.01$), NS for days 21 and 28 - Muscle: different letters (a,b) indicate significant differences ($P<0.05$).

Effect of diet for each muscle: LT: Control<Selenium ($P<0.01$) - PM: Selenium<Control ($P<0.05$).

Figure 3. Glutathione peroxidase activity per g of meat in Longissimus thoracis and Psoas major muscles, fresh and aged, of Aberdeen Angus steers from Control and Selenium group.

Values are means \pm SEM with $n=10$. LT= Longissimus thoracis. PM= Psoas major. NS= no significant differences. Asterisk indicates significant differences between diets for each day of aging within each muscle ($P < 0.05$).



Main effects: Diet NS - Muscle LT<PM ($P<0.001$) - Aging 14<60, 28, 21 and 0 / 60<0 ($P<0.0001$), linear decrease ($P<0.05$) - Interactions: Diet x Muscle ($P<0.0001$) - Diet x Aging ($P<0.001$) - Muscle x Aging ($P<0.0001$) - Diet x Muscle x Aging ($P<0.05$).

Effects for each day of aging: Diet: Control<Selenium for days 0 ($P<0.01$) and 60 ($P<0.05$), Selenium<Control at day 14 ($P<0.01$), NS for days 21 y 28 - Muscle: different letters (a,b) indicate significant differences ($P<0.05$).

Effect of diet for each muscle: LT: Control<Selenium ($P<0.01$) - PM: Selenium<Control ($P<0.05$).

Figure 4. Glutathione peroxidase activity per mg of protein in Longissimus thoracis and Psoas major muscles, fresh and aged, of Aberdeen Angus steers from Control and Selenium group. Values are means \pm SEM with $n=10$. LT= Longissimus thoracis. PM= Psoas major. NS= no significant differences. Asterisk

indicates significant differences between diets for each day of aging within each muscle ($P < 0.05$).

3.4. Color

As mentioned, the lipid and protein oxidation negatively affect meat color. Mainly for this the color on PM and LT muscles was measured, fresh and aged for 7, 14, 21, 28 and 60 days (Table 1). In LT the lightness average values were found between 31.3 and 33.2, the a^* average values were found between 14.4 and 11.3, and the b^* average values were found between 24.5 and 26.7. In the LT lightness average values were found between 31.2 and 32.8, the a^* average values were found between 16.1 and 13.0, and the b^* average values were found 25.0 to 27.2. Hernandez & Ríos (2009) described for beef L^* values between 32.2 and 47.6, a^* values between 10.6 and 26.1 and b^* values between 10.3 and 21.5, according to these data the studied muscles would be less yellows than described, while lightness and a^* would be within expected.

When analyzing the main effect for diet was observed that supplementation not significantly affect the L^* , a^* or b^* . When analyzed for each muscle was observed diet effect on color in LT, where the supplemented were redder ($P < 0.01$) and more yellow ($p < 0.05$), however in PM the diet not affected to color (Table 1). Vignola *et al.* (2009) found no effect of organic Se on color of the *Longissimus* of sheep, aged and packed simulating for sale to consumers, while Ripoll *et al.* (2011) observed in whole loins packed under modified

atmosphere that sodium selenite increased L*. No studies on color were found that have supplemented with Se and aged under vacuum.

When analyzing the muscle effect, LT were more luminous ($P < 0.01$) and PM were reddest ($P < 0.0001$) (Table 1).

Aging mainly affected the L* and a* by increasing values with time ($P < 0.01$) (Table 1), something unexpected in principle because the main determinant of meat color is myoglobin, which contains a group heme that would be affected by lipid oxidation increase with time, causing a brownish coloration (Descalzo *et al.*, 2005). However the myoglobin is a protein and no significant increase of protein oxidation was observed with time. Anyway linear increasing indicating statistical analyzes are unclear because both L* as a* not showed significant difference between day 0 and day 60.

Table 1. Color in *Longissimus thoracis* and *Psoas major* muscles, fresh and aged, of Aberdeen Angus steers from Control and Selenium group.

Days of aging	LT		PM		Main effects			Interactions
	Control	Selenium	Control	Selenium	Diet	Muscle	Aging	
L*								
0	32.2±0.3	32.8±0.3	32.5±0.4	32.3±0.4			7<0, 28, 60 /	
7	31.3±0.5	32.1±0.4	31.2±0.3	31.9±0.3			21<28, 60	
14	32.0±0.4	32.8±0.4	32.2±0.4	31.4±0.4	NS	PM<LT (P<0.01)	(P<0.0001)	NS
21	32.0±0.5	32.8±0.4	31.2±0.3	31.6±0.5				
28	33.0±0.5	32.5±0.3	32.8±0.3	32.5±0.2			Linear (P<0.01)	
60	33.1±0.4	33.2±0.4	32.5±0.4	32.4±0.5				
Effects of diet and muscle for each day of aging: DIET: NS for days 0, 7, 14, 21, 28 and 60 - MÚSCLE: PM<LT at day 21 (P<0.05). Effect of diet for each muscle: LT: NS - PM: NS.								
a*								
0	12.2±0.7	13.2±0.4	15.3±0.4	15.7±0.5			7<28, 0, 60	
7	11.3±0.6	12.5±0.4	13.7±0.5	13.2±0.5			(P<0.01)	DxM (P<0.01)
14	12.1±0.6b	14.3±0.4a	14.1±0.5	13.0±1.0	NS	LT<PM (P<0.0001)		
21	12.1±0.6b	14.0±0.5a	14.1±0.9	14.4±0.8			Linear (P<0.01)	
28	13.0±0.6	12.5±0.6	16.1±0.5	14.8±0.5				
60	13.7±0.9	14.4±0.6	15.0±0.3	15.6±0.5				
Effects of diet and muscle for each day of aging: DIET: NS for days 0, 7, 14, 21, 28 and 60 - MÚSCLE: LT<PM for days 0 (P<0.0001), 7 (P<0.01) and 60 (P<0.0001). NS for days 14, 21 and 60. Effect of diet for each muscle: LT: Control<Selenium (P<0.01) - PM: NS.								
b*								
0	25.4±0.3	25.5±0.4	25.9±0.2	26.0±0.3			7<14, 21, 28 / 0, 60,	
7	24.5±0.5b	25.6±0.2a	25.2±0.3	25.0±0.3			14, 21<28	DxM (P<0.05)
14	25.7±0.3b	26.6±0.2a	26.1±0.4	25.4±0.5	NS	NS	(P<0.0001)	
21	25.8±0.4	26.6±0.3	25.5±0.6	26.0±0.4			No linear	
28	26.6±0.4	26.7±0.3	27.2±0.3	26.7±0.2				
60	25.3±0.5	25.7±0.5	25.8±0.2	26.1±0.4				
Effects of diet and muscle for each day of aging: DIET: NS for days 0, 7, 14, 21, 28 y 60 - MÚSCLE: NS for days 0, 7, 14, 21, 28 y 60. Effect of diet for each muscle: LT: Control<Selenium (P<0.05) - PM: NS.								

Values are means ± SEM with n=10. L*= lightness. a*= redness. b*= yellowness. LT= *Longissimus thoracis*. PM= *Psoas major*. D= diet. M= muscle. NS= no significant differences. Different letters indicate significant differences between muscles for each day of aging (P < 0.05).

3.5. pH

The pH is a meat parameter that affects other characteristics such as color, tenderness, drip loss and microbiological hygiene, therefore the pH was measured on fresh muscle and aged 7, 14, 21, 28 and 60 days (Table 2).

Mainly pH values were within normal (5.4 to 5.8 according to Huff-Lonergan *et al.*, 2010), except the mean value registered in LT of Selenium group, that was 5.11, the others were between 5.37 and 5.77, therefore high pHu that generate DFD meats (dark, firm and dry) and may favor bacterial growth (Tarrant, 1989) were discarded. The pH was not measured in early hours *postmortem*, however in cattle is not as important as in pigs and turkeys, in which has described that a sharp drop of pH in the first hours *postmortem* generate PSE meats (pale, soft and exudative) (Pietrzak *et al.*, 1997).

Within registered pH levels, a significant difference between diets was observed where muscles of Selenium group showed lower levels than of the Control group ($P < 0.0001$) (Table 2). When analyzing each muscle separately was observed that LT of Selenium group had lower pH than of the control ($P < 0.0001$) and that the diet had no significant effect on PM.

When analyzing the main effect for muscle, lower pH levels were observed in the LT than in PM ($P < 0.0001$), however when analyzed for each day of aging was observed at 28 and 60 days that the lower levels were registered in the PM ($P < 0.05$, $P < 0.05$).

Finally was observed that aging affect to the pH of muscle ($P < 0.0001$) but not showed a linear trend.

Table 2. pH in *Longissimus thoracis* and *Psoas major* muscles, fresh and aged, of Aberdeen Angus steers from Control and Selenium group.

Days	LT		PM		Mean Effects			Interactions
	Control	Selenium	Control	Selenium	Diet	Muscle	Aging	
0	5.52±0.07a	5.37±0.02b	5.57±0.07b	5.77±0.03a				DxM ($P < 0.0001$)
7	5.58±0.05a	5.11±0.04b	5.44±0.02	5.47±0.05				
14	5.63±0.05	5.53±0.06	5.59±0.04	5.65±0.06	Se<C ($P < 0.0001$)	LT<PM ($P < 0.0001$)	7<60, 21, 28, 0, 14 ($P < 0.0001$)	DxA ($P < 0.01$)
21	5.51±0.03a	5.42±0.02b	5.68±0.01	5.59±0.06				MxA ($P < 0.0001$)
28	5.67±0.04a	5.55±0.03b	5.53±0.02	5.47±0.07			No linear	
60	5.66±0.04a	5.55±0.02b	5.50±0.02	5.46±0.08				DxMxA ($P < 0.001$)

Effects of diet and muscle for each day of aging:

DIET: Selenium<Control for days 7 ($P < 0.0001$), 21 ($P < 0.05$), 28 ($P < 0.05$). NS for days 0 y 14.

MUSCLE: LT<PM for days 0 ($P < 0.001$), 7 ($P < 0.05$), 21 ($P < 0.0001$). PM<LT for days 28 ($P < 0.05$) and 60 ($P < 0.05$). NS at day 14.

Effect of diet for each muscle: LT: Selenium<Control ($P < 0.0001$) - PM: NS.

Values are means \pm SEM with $n=10$. LT= *Longissimus thoracis*. PM= *Psoas major*. C= Control group. Se= Selenium group. D= diet. M= muscle. NS= no significant differences. Different letters indicate significant differences between muscles for each day of aging ($P < 0.05$).

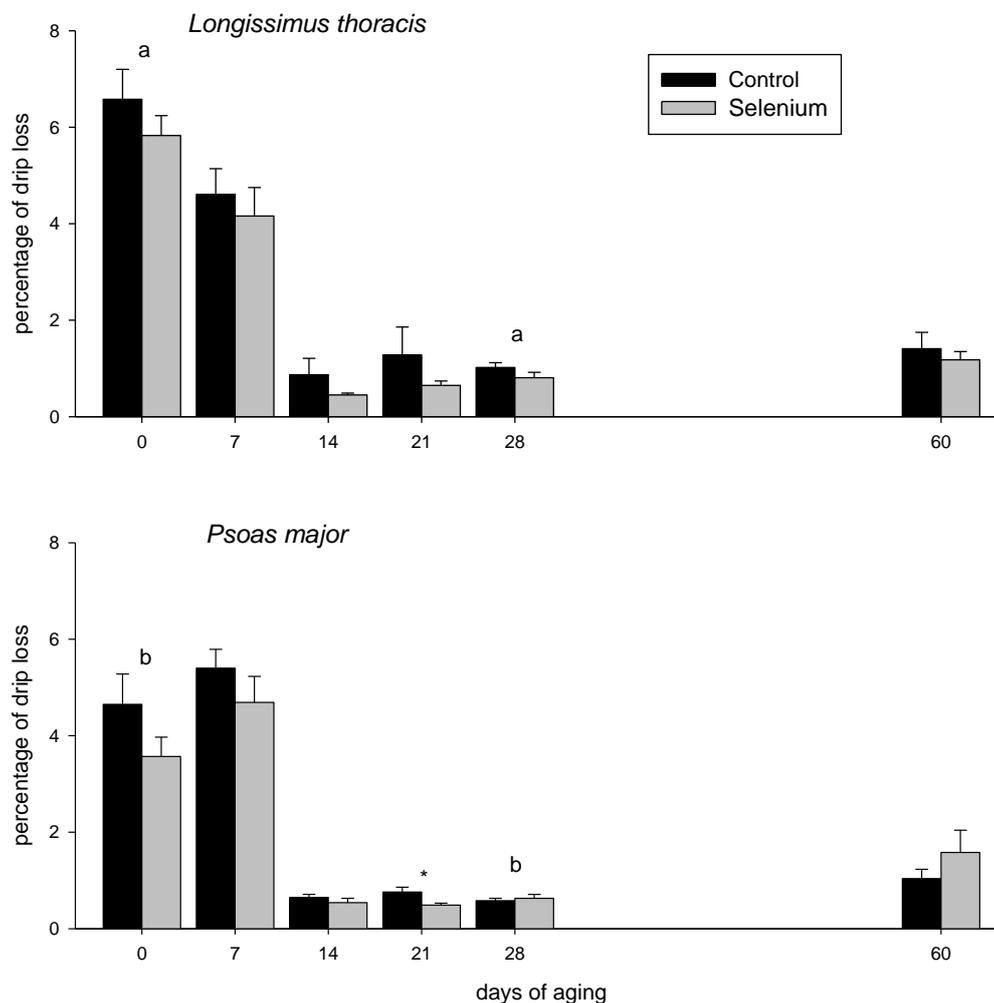
3.6. Drip loss

The drip loss is an important parameter of meat, is key to acceptance or rejection of meat by consumer, as it is associated with juiciness, texture and tenderness, it is also important for the trader which buys or sells meat per weight (Cheng & Wen Sun, 2008). It was mentioned that the pH affects the drip loss, but also lipid and protein oxidation could have their role (Ventanas *et al.*, 2006). To assess whether supplementation with Se-yeast had an effect on this parameters was measured drip loss on fresh and aged muscles. The mean values of drip loss registered in LT were found between 0.45 % (day 14, Selenium) and 6.58 % (day 0, Control) and the PM were found between 0.49 % (day 21, Selenium) and 5.4 % (day 7 Control) (Fig. 5).

When analyzing the main effect for diet was observed that muscles of Selenium group had lower percentages of drip loss than muscles of Control group ($P < 0.05$). When analyzing diet effect for each day no significant differences were observed. Neither diet effect for each muscle was observed and when analyzed for each day within each muscle only significant difference between the diets was observed in the PM to day 21 ($P < 0.05$) as indicated by the asterisk in figure 5, although the vast majority of days Selenium group showed lower percentages of drip loss (Fig. 5). Therefore supplementation proved to be beneficial for reducing the drip loss, though relationship between the drip loss with lipid and protein oxidation was not observed.

The drip loss was different in each muscle, lower drip loss was observed in the PM ($P < 0.05$). To analyze for each days of aging this same difference was observed at days 0 and 28 ($P < 0.001$ and $P < 0.05$ respectively) and found no significant differences between muscles for the other days (Fig. 5).

The aging affected the drip loss, showing a clear decrease in the percentages with aging time, at day 14 decreases sharply about days 0 and 7 and then maintained until day 60 ($p < 0.0001$) (Fig. 5). According to Morón-Fuenmayor & Zamorano (2004) in the early hours postmortem (24-72 hours) the drip loss of chilled meat increases, this was not recorded in this study as it was measured at 36 hours *postmortem* (day 0) and then at day 7, possibly has been an increase of drip loss before 36 hours due to *rigor mortis* (Ouali *et al.*, 2006) and then of packaging the drip loss was maintained at least until day 7, then decreases loss because most of free water has already been lost (Tornberg, 2005). At day 60 drip loss tends to increase, perhaps due to that oxidation and consequent degradation of proteins would cause release of water linked to these.



Main effects: Diet Selenium<Control ($P<0.05$) - Muscle PM<LT ($P<0.05$) - Aging 14, 28, 21 and 60<7 and 0 ($P<0.0001$), linear decrease ($P<0.0001$) - Interactions: Muscle x Aging ($P<0.0001$).

Effects for each day of aging: Diet: NS for all days - Muscle: different letters (a,b) indicate significant differences ($P<0.05$).

Effect of diet for each muscle: LT: NS - PM: NS.

Figure 5. Percentage of drip loss in *Longissimus thoracis* and *Psoas major* muscles, fresh and aged, of Aberdeen Angus steers from Control and Selenium group. Values are means \pm SEM with $n=10$. LT= *Longissimus thoracis*. PM= *Psoas major*. NS= no significant differences. Asterisk indicates significant differences between diets for each day of aging within each muscle ($P < 0.05$).

3.7. *Body weight and carcass characteristics*

At time of entering, the steers of Control group weighed 386 ± 5 kg and steers of Selenium group weighed 388 ± 3 kg, showing no significant difference. After 110 days of confinement the Control group weighed 523 ± 3 kg and Selenium group weighed 505 ± 3 kg, the former being significantly heavier ($P < 0.0001$) (Table 3).

The pre-dressing and hot carcasses of Control were also heavier than the Selenium group ($P < 0.0001$ for both characteristics). The pre-dressing carcass weighed 294 ± 2 kg and 276 ± 2 kg for Control and Selenium groups, respectively. And the hot carcass weighed 262 ± 2 kg and 246 ± 2 kg for Control and Selenium groups, respectively (Table 3).

The carcass yield was also higher in the Control group ($P < 0.001$) showing average values of $50.2 \pm 0.3\%$ versus $48.8 \pm 0.3\%$ of the Selenium group (Table 3).

Moreover, the results of characterization of both conformation and finishing showed no significant differences between groups. In both groups were registered carcasses with N and A conformation, and with degrees of finishing of (1=), (1+), (2-), (2=) and (2+).

Therefore, according to these results, supplementation with Se-yeast would be associated with lighter steers at 110 days of confinement, with lighter pre-dressing and hot carcass, with lower yields and would not have significant effect on the conformation and finishing of the carcass.

Table 3. Body weight and carcass characteristics of Aberdeen Angus steers from Control and Selenium group.

Group	n	BWi ¹ (kg)	BWf ² (kg)	Pre-dressing ³ (kg)	Hot carcass ⁴ (kg)	Yeild ⁵ (%)	Conf. ⁶ (points)	Finish. ⁷ (points)
Control	35	386 ±5	523 ±3a	294 ±2a	262 ±2a	50.2 ±0.3a	1.31 ±0.08	3.2 ±0.2
Selenium	36	388 ±3	505 ±3b	276 ±2b	246 ±2b	48.8 ±0.3b	1.19 ±0.07	2.9 ±0.2

Values are means ± SEM. ¹ Body weight of steers at time of entering at the corral. ² Body weight of steers at 110 days of confinement. ³ pre-dressing carcass weight. ⁴ Hot carcass weight. ⁵ Percentage of carcass yield. ⁶ Conformation was typified according to the classification INACUR by INAC, and carcasses N and A were registered. For statistical analysis was assigned a score to each letter, where N=2 and A=1. ⁷ Finishing was typified according to the classification of INAC, and carcasses between (1=) and (2+) degrees were registered, for statistical analysis were assigned a score from 1 to 5 according to the following scheme: (1=)=1, (1+)=2, (2-)=3, (2=)=4, and (2+)=5. Different letters indicate significant differences between diets ($P < 0.05$).

These results were not expected since the Se would have beneficial effects on metabolic regulation and the immune system (Fordyce, 2005), further the supplementation levels are below the tolerable maximum set by the National Research Council from U.S., 2 mg/kg MS (NRC, 2000). In any case one would expect a low weight that is explained by a decrease on fat coverage due to a change on metabolism, however this did not happen. No previous studies were found on cattle to discuss these results, but a study performed on pigs by Mahan et al. (1999) showed that supplementation with Se did not affect body weight,

and a study performed on rats by Ewan (1976) showed that supplementation with Se does the rats eat more and grow faster, these studies confirm that the results of body weight, weight and carcass yield were not expected.

4. Conclusions

According to the results we can conclude that supplementation with Se-yeast (0.30 mg Se/kg DM) in Aberdeen Angus steers finished in feedlot:

- Would not have effect on lipid oxidation of *Longissimus thoracis* and *Psoas major* muscles aged under vacuum until 60 days.

- Would help to decrease protein oxidation in *Longissimus thoracis* aged under vacuum until 60 days, but was effective to reducing protein oxidation, increased redness and yellowness and reducing pH of aged *Longissimus thoracis*, this effect would be explained by increased of GPx activity in this muscle due to supplementation with Se.

- Furthermore the supplementation was effective to reducing drip loss of aged muscles for long times, derived from steers finished with concentrates.

The *Longissimus thoracis* aged under vacuum until 60 days would be more resistant to lipid oxidation than the *Psoas major*. The *Psoas major* would be most luminous, redder, with higher pH, lower drip loss and higher GPx activity than *Longissimus thoracis*. There would not be differences between muscles for levels of protein oxidation and yellowness.

The aging of muscles under vacuum for 60 days at 1-2 °C would increase the lipid oxidation, would not affect the protein oxidation, would decrease lighthness and redness without affecting the yellowness, pH would not be affected, drip loss would decrease clearly after day 7 of aging and GPx activity would decrease when expressed per mg protein.

Therefore, the Se-yeast supplementation was not effective to decrease lipid oxidation of aged cuts derived from steers finished with concentrate, but was effective in decrease the protein oxidation, improving redness and yellowness and decreased pH of *Longissimus thoracis* and may also be effective in decrease the drip loss of muscles aged under vacuum. These are positive effects on meat quality and are favorable for the consumer, merchants and breeders.

Bibliography

- Campo, M., Nute, G., Hughes, S., Enser, M., Wood, J., & Richardson, R. (2006). Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Science*, 72, 303-311.
- Cheng, Q., Wen Sun, D. (2008). Factors affecting the water holding capacity of red meat products: a Review of recent research advances. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 137-159.
- De Vore, V. R. & Greene, B. E. (1982). Glutathione Peroxidase in Post-Rigor Bovine Semitendinosus Muscle. *Journal of Food Science*, 47, 1406-1409.
- Descalzo, A. M., Insani, E. M., Biolatto, A., Sancho, A. M., García, P. T., Pensel, N. A., & Josifovich, J. A. (2005). Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Science*, 70, 35-44.
- Descalzo, A.M. & Sancho, A.M. (2008). A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef product in Argentina. *Meat Science*, 79, 423-436.
- Estévez, M. (2011). Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Science*, 89, 259-279.
- Ewan, R. C. (1976). Effects of selenium on rat growth, growth hormone and diet utilization. *Journal of Nutrition*, 106, 702-709.
- FAO (2014). Agriculture and Consumer Protection Department: Animal Production and Health: Animal production: Meat and meat production. <<http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/meat/home.html>>

- Fordyce, F. (2005). Selenium deficiency and toxicity in the environment. *Essentials of Medical Geology: Impacts of the natural environment on public health*, 15, 373-414.
- Gatellier, P., Mercier, Y., Renerre, M. (2004). Effect of diet finishing mode (pasture or mixed diet) on antioxidant status of Charolais bovine meat. *Meat Science*, 67, 385-394.
- Greene, B. E. & Cumuze, T. H. (1981). Relationship between TBA numbers and inexperienced panellists assessments of oxidized flavor in cooked beef. *Journal of Food Science*, 47, 52-54.
- Hartikainen, H. (2005). Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18, 309-318.
- Hernández, J. & Ríos, F. (2009). Efecto de los grupos raciales bovinos en las características de calidad de la carne. *Publicación electrónica Nacameh*, 3, 1-20. <<http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/>>
- Huff-Lonergan, E. H., Zhang, W., & Lonergan, S. M. (2010). Biochemistry of *postmortem* muscle - Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Science*, 86, 184-195.
- INAC (2014). Clasificación de carne vacuna. <http://www.inac.gub.uy/innovaportal/v/1776/1/innova.net/clasificacion_carne_vacuna>
- Juniper, D. T., Phipps, R. H., Ramos-Morales, E., & Bertin, G. (2008). Effect of dietary supplementation with selenium-enriched yeast or sodium

-
- selenite on selenium tissue distribution and meat quality in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 86, 3100-3109.
- Mahan, D. C., Cline, T. R., & Richert, B. (1999). Effects of dietary levels of selenium-enriched yeast and sodium selenite as selenium source fed to growing-finishing pigs on performance, tissue selenium, serum glutathione peroxidase activity, carcass characteristics, and loin quality. *Journal of Animal Science*, 77, 2172-2179.
- Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., & Núñez de Castro, I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32, 595-603.
- Morón-Fuenmayor, O. E., & Zamorano L. (2004). Pérdida por goteo en carne cruda de diferentes tipos de animales. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia*, 14, 36-39.
- Morrissey, P. A., Sheehy, P. J. A., Galvin, K., Kerry, J. P., & Buckley, D. J. (1998). Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science*, 49, 73-86.
- NRC U.S. (2000). Nutrient Requirements of Beef Cattle.
<http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=9791&page=54>
- O'Grady, M., Monahan, F., Fallon, R., & Allen, P. (2001). Effects of dietary supplementation with vitamin E and organic selenium on the oxidative stability of beef. *Journal of Animal Science*, 79, 2827-2834.
- Ouali, A., Herrera-Mendez, C. H., Coulis, G., Becila, S., Boudjellal, A., Aubry, L., & Sentandreu, M. A., (2006). Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Science*, 74, 44-58.

- Pietrzak, M., Greaser, M. L., & Sosnicki, A. A., (1997). Effect of rapid rigor mortis processes on protein functionality in pectoralis major muscle of domestic turkeys. *Journal of Animal Science*, 75, 2106-2126.
- Popova, T., Marinova, P., Vasileva, V., Gorinov, Y., & Lidji, K. (2009). Oxidative changes in lipids and proteins in beef during storage. *Archiva Zootechnica*, 12, 30-38.
- Ripoll, G., Joy, M., & Muñoz, F. (2011). Use of dietary vitamin E and selenium (Se) to increase the shelf life of modified atmosphere packaged light lamb meat. *Meat Science*, 87, 88-93.
- Santé-Lhoutellier, V., Engel, E., Aubry, L., & Gatellier, P. (2008). Effect of animal (lamb) diet and meat storage on myofibrillar protein oxidation and in vitro digestibility. *Meat Science*, 79, 777-783.
- Talmant, A., & Monin, G. (1986). Activities of Metabolic and Contractile Enzymes in 18 Bovine Muscles. *Meat Science*, 18, 23-40.
- Tarrant, P.V. (1989). The Effect of transport, slaughter and chilling on meat quality and yield in pigs. *Journal of Food Science and Technology*, 13, 79-107.
- Terevinto, A. (2010). Oxidación lipídica y proteica, capacidad antioxidante y actividad de las enzimas catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa en la carne fresca y madurada de novillos Hereford y Braford. *Tesis de Maestría, Montevideo, Universidad de la República*.
- Tornberg, E. (2005). Effects of heat on Meta proteins: Implication on Structure and quality of meat products. *Meat Science*, 70, 493-508.

- Ventanas, S., Estevez, M., Tejeda, J. F., & Ruiz, J. (2006). Protein and lipid oxidation in Longissimus dorsi and dry cured loin from Iberian pigs as affected by crossbreeding and diet. *Meat Science*, 72, 647-655.
- Vignola, G., Lambertini, L., Mazzone, G., Giammarco, M., Tassinari, M., Martelli, G., & Bertin, G. (2009). Effects of selenium source and level of supplementation on the performance and meat quality of lambs. *Meat Science*, 81, 678-685.
- Yanyan, Z., Suzhen, Z., Xuepeng, W., Chunyang, W., & Fuchang, L. (2011). The effect of dietary selenium levels on growth performance, antioxidant capacity and glutathione peroxidase 1 (GSHPx1) mRNA expression in growing meat rabbits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 169, 259-264.