

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

**LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE FRESCA,
MADURADA Y REFRIGERADA DE NOVILLOS ABERDEEN
ANGUS PRODUCIDOS EN URUGUAY**

por

Lic. Mag. María Alejandra TEREVINTO HERRERA

TESIS presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de
Doctora en Ciencias Agrarias

MONTEVIDEO
URUGUAY
Noviembre 2017

Tesis aprobada por el tribunal integrado por la Dra. Raquel Pérez Clariget, el Dr. Peter Purslow, y la Dra. María Salhi, el 5 de diciembre de 2017. Autor: María Alejandra Terevinto Herrera. Director: Dr. Ali Saadoun, co-directora: Dra. María Cristina Cabrera.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer a:

Mis orientadores de tesis, el Dr. Ali Saadoun y la Dra. María Cristina Cabrera por su dedicación, enseñanza y paciencia.

La Comisión Académica de Posgrado de la CSIC por la beca otorgada.

Mis compañeras/os del Laboratorio de Fisiología y Nutrición de la Facultad de Ciencias y del Laboratorio de Calidad de Alimentos de la Facultad de Agronomía: Marta del Puerto, Franko Graziano, Gabriela Castromán, Ana Ramos, Angela Felice y Carmen Figarola, que colaboraron con esta tesis de Doctorado.

A Fernanda Zaccari por guiarme en la medición del contenido de vitaminas en la carne y ayudarme en la interpretación de los resultados del color.

Mi familia y esposo por apoyarme en mis estudios.

Mis hijos Tomás y Joaquín por darme su alegría siempre.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
RESUMEN	VII
SUMMARY	VIII
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1. PROCESOS DE OXIDACIÓN EN LA CARNE.....	3
1.1.1. <u>Oxidación lipídica</u>	4
1.1.2. <u>Oxidación proteica</u>	4
1.2. COMPONENTES ANTIOXIDANTES EN LA CARNE	5
1.2.1. <u>Enzimas antioxidantes</u>	6
1.2.1.1. Superóxido dismutasa	6
1.2.1.2. Catalasa	7
1.2.1.3. Glutatión peroxidasa	7
1.2.2. <u>Vitaminas y péptidos</u>	8
1.3. MADURACIÓN DE LA CARNE	9
2. <u>INFLUENCIA DE LOS DISTINTOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN UTILIZADOS EN EL URUGUAY, SOBRE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE DE NOVILLOS ABERDEEN ANGUS</u>	12
2.1. INTRODUCCIÓN	12
2.2. OBJETIVO GENERAL	14
2.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
2.4. HIPÓTESIS	14
2.5. MATERIALES Y MÉTODOS	14
2.5.1. <u>Cortes y animales</u>	14
2.5.2. <u>Contenido total de lípidos y composición en ácidos grasos</u>	16
2.5.3. <u>Oxidación de lípidos</u>	17
2.5.4. <u>Oxidación de proteínas</u>	18
2.5.5. <u>Capacidad antioxidativa</u>	19
2.5.6. <u>Actividad de la catalasa</u>	19
2.5.7. <u>Actividad de la superóxido dismutasa</u>	20
2.5.8. <u>Actividad de la glutatión peroxidasa</u>	20
2.5.9. <u>Concentración de proteínas</u>	21
2.5.10. <u>Análisis estadístico</u>	22
2.6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
2.6.1. <u>Corte bife angosto</u>	22
2.6.1.1. Contenido total de lípidos y composición en ácidos grasos	22

2.6.1.2. Oxidación de lípidos	26
2.6.1.3. Oxidación de proteínas	28
2.6.1.4. Capacidad antioxidativa	29
2.6.1.5. Actividad de enzimas antioxidantes	32
2.6.2. <u>Corte nalga de afuera</u>	38
2.6.2.1. Contenido total de lípidos y composición en ácidos grasos	38
2.6.2.2. Oxidación de lípidos	40
2.6.2.3. Oxidación de proteínas	41
2.6.2.4. Actividad de enzimas antioxidantes	43
2.6.3. <u>Corte paleta</u>	49
2.6.3.1. Contenido total de lípidos y composición en ácidos grasos	49
2.6.3.2. Oxidación de lípidos	51
2.6.3.3. Oxidación de proteínas	52
2.6.3.4. Actividad de enzimas antioxidantes	53
2.7. DISCUSIÓN GENERAL	61
3. <u>EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON SELENIO, EN LA DIETA DE NOVILLOS ABERDEEN ANGUS PRODUCIDOS EN FEEDLOT, SOBRE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE EN EL TIEMPO</u>	63
3.1. INTRODUCCIÓN	63
3.2. OBJETIVO GENERAL	65
3.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	65
3.4. HIPÓTESIS	65
3.5. MATERIALES Y MÉTODOS	65
3.5.1. <u>Cortes y animales</u>	65
3.5.2. <u>Oxidación de lípidos y proteínas</u>	67
3.5.3. <u>Actividad de enzimas antioxidantes</u>	67
3.5.4. <u>Concentración de proteínas</u>	68
3.5.5. <u>Análisis estadístico</u>	68
3.6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	68
3.6.1. <u>Oxidación de lípidos</u>	68
3.6.2. <u>Oxidación de proteínas</u>	70
3.6.3. <u>Actividad de catalasa</u>	72
3.6.4. <u>Actividad de la superóxido dismutasa</u>	74
3.6.5. <u>Actividad de la glutatión peroxidasa</u>	76
3.7. DISCUSIÓN GENERAL	78
4. <u>INFLUENCIA DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN, PASTURA VS GRANOS, SOBRE EL COLOR Y LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE, EN SIMULACIÓN DE EXPOSICIÓN COMERCIAL EN VITRINA REFRIGERADA</u>	80
4.1. INTRODUCCIÓN	80
4.2. OBJETIVO GENERAL	80

4.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	82
4.4. HIPÓTESIS	82
4.5. MATERIALES Y MÉTODOS	82
4.5.1. <u>Corte y animales</u>	82
4.5.2. <u>Medición del color</u>	84
4.5.3. <u>Determinación del hierro hemo</u>	84
4.5.4. <u>Cuantificación de carotenoides y tocoferoles</u>	85
4.5.5. <u>Contenido total de lípidos y composición en ácidos grasos</u>	86
4.5.6. <u>Oxidación de lípidos y de proteínas</u>	86
4.5.7. <u>Análisis estadístico</u>	86
4.6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	87
4.6.1. <u>Color (L, a, b, hue, chroma, ΔL, ΔE, ΔH)</u>	87
4.6.2. <u>Hierro hemo</u>	93
4.6.3. <u>Carotenoides y α-tocoferol</u>	94
4.6.4. <u>Contenido total de lípidos y composición en ácidos grasos</u>	95
4.6.5. <u>Oxidación de lípidos</u>	98
4.6.6. <u>Oxidación de proteínas</u>	100
4.7. DISCUSIÓN GENERAL	102
5. <u>CONSIDERACIONES FINALES</u>	103
6. <u>CONCLUSIONES</u>	107
7. <u>PERSPECTIVAS</u>	108
8. <u>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	109
9. <u>ANEXOS</u>	124
9.1. ANEXO 1: LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	124
9.2. ANEXO 2: ABREVIATURAS	126
9.3. ANEXO 3: Influence of Feeding System on Lipids and Proteins Oxidation, and Antioxidant Enzymes Activities of Meat from Aberdeen Angus Steers	127
9.4. ANEXO 4: Catalase, SOD and GPx Activities in <i>Triceps brachii</i> Muscle from Aberdeen Angus Steers Finished on Pasture, Pasture and Concentrate, or Concentrate	133
9.5. ANEXO 5: ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE DE NOVILLOS ABERDEEN ANGUS PRODUCIDOS A PASTURAS Y FEEDLOT, DURANTE SU EXPOSICIÓN EN VITRINA REFRIGERADA	140

RESUMEN

Esta Tesis de Doctorado se dividió en tres partes. En la primera, se estudió el impacto de los tres sistemas de producción que se realizan en el Uruguay (pasturas, pasturas más suplementación de granos y feedlot) sobre la estabilidad oxidativa de la carne de novillos Aberdeen Angus, fresca y madurada. Se observó un efecto del sistema de producción sobre los niveles de oxidación lipídica en la nalga madurada y la paleta fresca, donde el sistema pastura más suplemento (P+S) presentó una mayor oxidación, y sobre la oxidación proteica en la nalga (Pastura>P+S, Feedlot) y en la paleta (P+S>Pastura). Se encontró una mayor actividad de la catalasa en el bife angosto del sistema pastura comparado con los otros dos sistemas, y una mayor actividad de la superóxido dismutasa en los sistemas pastura y feedlot comparado con el P+S (bife angosto) y en sistema pastura comparado con feedlot (paleta). La actividad de la enzima glutatión peroxidasa (GPx), fue mayor en la carne del sistema feedlot comparado con los otros dos sistemas (en los tres cortes estudiados). El sistema pastura presentó una mayor capacidad antioxidante comparado con el sistema feedlot, en el bife angosto madurado. En la segunda parte de la tesis, se evaluó el efecto de la suplementación con selenio orgánico, en la dieta de novillos Aberdeen Angus en sistema feedlot, sobre la estabilidad oxidativa de la carne fresca y madurada. Se encontró una menor oxidación proteica y una mayor actividad de la enzima GPx en el corte bife angosto, y una mayor actividad de la catalasa en los cortes lomo y bife angosto, de novillos suplementados comparado con los no suplementados. En la tercera parte, se quiso determinar si la carne de novillos Aberdeen Angus alimentados a pasturas y en sistema feedlot, presenta una estabilidad oxidativa y del color diferente, al ser sometidas a exposición en vitrina refrigerada. Se encontró una menor oxidación lipídica y proteica, y una mayor estabilidad del color en la carne del sistema pastura comparado con la de feedlot, durante la exposición. Esto es respaldado por el mayor contenido de β -caroteno y α -tocoferol (antioxidantes) encontrado en la carne fresca de novillos a pasturas.

Palabras clave: carne bovina, sistemas de producción, oxidación, antioxidantes, color.

SUMMARY

Oxidative stability in fresh, aged and refrigerated beef meat from Aberdeen Angus steers produced in Uruguay

This Doctoral thesis was divided in three parts. In the first one, the impact of the three feeding systems that take place in Uruguay (pasture, pasture plus grain supplementation and feedlot) on the oxidative stability of fresh and aged beef meat from Aberdeen Angus steers, was investigated. A feeding system effect was observed on lipid oxidation in the aged outside and the fresh blade bolar cuts, where pasture plus grain supplementation (P+S) system presented a higher oxidation, and on protein oxidation in the outside cut (Pasture>P+S, Feedlot) and in the blade bolar cut (P+S>Pasture). A higher catalase activity was found in the striploin of pasture system compared with the other two systems, and a higher superoxide dismutase activity in pasture and feedlot systems compared with P+S (striploin) and in pasture system compared with feedlot (blade bolar). Glutathione peroxidase (GPx) activity was higher in feedlot meat compared with the other two systems (in the three cuts studied). Pasture system presented a higher antioxidant capacity compared with feedlot system in the aged striploin cut. In the second part of the thesis, the effect of supplementating with organic selenium in the diet of Aberdeen Angus steers in feedlot, on the oxidative stability of fresh and aged meat, was evaluated. A lower protein oxidation and a higher GPx activity were found in the striploin, and a higher catalase activity in the tenderloin and the striploin cuts were found, from supplemented steers compared with not supplemented. In the third part, the aim was to determine if meat from Aberdeen Angus steers produced in pasture and in feedlot had differential oxidative and colour stability, when submitted to refrigerated retail display conditions. Lower lipid and protein oxidation, and a greater colour stability was found in meat from pasture system compared with meat from feedlot, during display. This is backed up by the higher content of β -carotene and α -tocopherol (antioxidants) found in fresh meat from steers produced in pasture.

Keywords: beef meat, feeding systems, oxidation, antioxidants, colour.

1. INTRODUCCIÓN

En el Uruguay, el 70 % del territorio se dedica a la ganadería y posee un stock bovino de casi 12 millones de cabezas. Se faenan anualmente 2 millones de vacunos aproximadamente, y se exportan 360.000 toneladas de carne vacuna, que representan casi 1.500 millones de dólares (MGAP, 2015). El principal sistema de producción es en base a pasturas naturales a cielo abierto sobre una gran extensión de territorio. Pero hay además un sistema de producción que agrega un suplemento de granos a las pasturas, y otro donde los animales son terminados exclusivamente a base de granos y se encuentran confinados (sistema feedlot). Este último tipo de sistema está en aumento en el Uruguay, y tiene como fin disminuir el tiempo de engorde de los animales. Los departamentos con mayores cantidades de establecimientos de engorde a corral son: Soriano, Río Negro, Paysandú, Durazno, Flores, Florida y San José (Ciganda et al., 2015). En el año 2012 surgió la cuota a corral 481, que es el cupo de la Unión Europea (UE) para cortes de carne bovina de alta calidad, proveniente de animales jóvenes (menores a 30 meses), cuyos últimos 100 días hayan sido terminados con raciones constituidas por no menos del 62 % de concentrados y/o coproductos de cereales piensos, sobre la materia seca, que tengan o superen un contenido de energía metabolizable superior a 12,26 MJ/kg MS. Esto ha brindado una estandarización a la calidad del producto, en cuanto a sus niveles de terneza, color, terminación y calibre de los cortes. El último año se exportaron 10.951 toneladas en la Cuota 481, de un total de 48.200 toneladas que importa la UE. Uruguay destina entre 450 mil a 500 mil novillos por año para hacer la cuota Hilton (cortes cárnicos de alta calidad provenientes de novillos jóvenes a pasturas) y unos 200 mil para la Cuota 481. Lo que demuestra una coexistencia de ambos sistemas de producción.

Las principales dos razas bovinas con fines de producción de carne en el Uruguay son, la Hereford y la Aberdeen Angus. El Aberdeen Angus, que hemos elegido como objeto de este estudio, es una raza carnicera por excelencia. Sus carnes se destacan por su terneza y sabor debido a su característico marmoleado (grasa

intramuscular). Su pelaje puede ser negro o colorado manteniendo ambos las mismas características raciales, con excelentes madres que caracterizan a la raza por la facilidad de parto, fertilidad y longevidad. Son animales muy rústicos que se adaptan fácilmente a los diferentes climas, suelos y condiciones alimenticias, siendo su respuesta excelente en situaciones adversas. El programa de certificación de carne Angus se inicia en el año 2003 y se basa en un protocolo que define la calidad del producto y asegura al consumidor que la carne etiquetada proviene de animales de la raza Angus, que ha cumplido con las especificaciones en materia de conformación carnicera, tipificación de res, cobertura de grasa y marmoreo (SCAAU, 2016).



Fig. 1. Ejemplar de la raza Aberdeen Angus

La estrategia de alimentación del ganado, juega un rol clave para la obtención de una carne con una calidad nutricional definida. Dicha característica va a depender en gran medida de que tipo de sistema productivo ha sido utilizado, de los que se describieron más arriba. O sea, animales terminados con pasto solo, con pasto y suplementación con granos, o terminados con granos y/o ración balanceada. Generalmente, la alimentación a pasto puede aumentar la concentración de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) en la carne vacuna, especialmente la de los n-3, comparado con la alimentación a grano (Descalzo et al., 2007). Sin embargo, en investigaciones previas, se han encontrado niveles más altos de oxidación lipídica en la carne de animales alimentados a base de granos, comparado con los alimentados a

base de pasturas (Insani et al., 2008, Larraín et al., 2008, Descalzo et al., 2005, Gatellier et al., 2005, Mercier et al., 2004, Realini et al., 2004, Lynch et al. 1999). De hecho, hay muy pocos trabajos que hayan estudiado la implicancia del sistema productivo, y en particular la alimentación de terminación, tal como se plantea en esta tesis, sobre el resultado de la composición en ácidos grasos poliinsaturados y su potencial susceptibilidad a la oxidación lipídica y proteica. También existen pocos trabajos que hayan considerado dicha susceptibilidad a la oxidación, a lo largo del proceso particular de la maduración de la carne, que se describe más adelante, y que se realiza a nivel industrial.

1.1. PROCESOS DE OXIDACIÓN EN LA CARNE

El proceso oxidativo es mediado por radicales libres que afectan principalmente los ácidos grasos insaturados, en particular los PUFA 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 la mitocondria 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 (Cecarini et al., 2007), provocando un daño oxidativo y aumentando el riesgo de contraer enfermedades. Aunque 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 los peróxidos como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los hidroperóxidos lipídicos (ROOH) (Morrisey et al., 1998).

1.1.1. Oxidación lipídica

La oxidación lipídica en la carne es un factor responsable de la pérdida de calidad mediante la formación de olores rancios y deterioro del flavor (Gatellier et al., 2005) y puede ocurrir tanto en los triacilgliceroles almacenados como en los fosfolípidos del tejido. La oxidación lipídica se acelera en el período inmediato luego de la faena y durante el manejo, procesamiento, almacenamiento y cocción, produciendo descoloramiento, drip loss, sabores indeseados, defectos en la textura y compuestos potencialmente tóxicos. 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 (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 de lípidos en los tejidos (Morrisey et al., 1998). La propagación de esa peroxidación lipídica en las membranas promueve la oxidación de la mioglobina (formación de metmioglobina) resultando en el deterioro del color (marrón oscuro), formación de olores rancios y otros sabores no deseados en la carne fresca (Descalzo et al., 2005, Dewhurst et al., 2003).

1.1.2. Oxidación proteica

La oxidación proteica es también responsable de muchas modificaciones biológicas como la fragmentación o agregación de péptidos, descenso en la solubilidad proteica y en la biodisponibilidad de los AA. Las especies reactivas al oxígeno atacan las cadenas laterales de los AA (lisina, histidina y arginina) y los pueden convertir en derivados carbonilos. Estos grupos carbonilos pueden reaccionar con grupos aminos libres para formar enlaces amidas. La oxidación de estos AA lleva a un descenso en el valor nutricional de la carne, ya que son esenciales para la nutrición (Filgueras et al., 2011).

Por otra parte, las proteínas miofibrilares son importantes proteínas estructurales implicadas en la terneza y capacidad de retención de agua de la carne. La hidrofobicidad de las proteínas ha sido objeto de numerosos estudios incluyendo el doblamiento de proteínas, la unión de proteínas a lípidos o micelas, polimerizaciones y agregaciones, y susceptibilidad a la proteólisis. También está implicada en la formación de geles y emulsiones, que son importantes en la tecnología de la carne (Chelh et al., 2006). La oxidación de proteínas miofibrilares tiene un impacto en el valor nutricional de la carne, ya que involucra la pérdida de AA esenciales y disminuye la digestibilidad proteica. Además, el desarrollo de la oxidación proteica en la carne ha sido relacionada con el deterioro del color y la textura (Armenteros et al., 2009). Algunos autores han reportado interacciones fuertes entre la oxidación proteica (formación de carbonilos proteicos) y la desnaturalización de proteínas (Leygonie et al., 2012).

El nivel de oxidación proteica en la carne puede variar con el tipo de alimentación del ganado, ya que se han observado mayores niveles de carbonilos proteicos en el músculo de novillos (Insani et al., 2008) y en las miofibrillas de corderos (Santé-Lhoutellier et al., 2008) alimentados con granos que con pastura.

1.2. COMPONENTES ANTIOXIDANTES EN LA CARNE

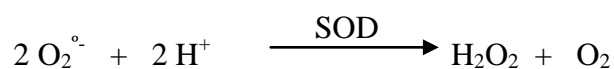
Los antioxidantes son sustancias que a bajas concentraciones retardan la oxidación de biomoléculas fácilmente oxidables, como lípidos y proteínas presentes en la carne, mejorando la vida útil de los productos, protegiéndolos del deterioro causado por la oxidación (Karre et al., 2013). Dichos antioxidantes corresponden a péptidos pequeños como el glutatión, la carnosina y la anserina, a enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa (GPx), y también a vitaminas como, por ejemplo, la vitamina E, los carotenoides y la vitamina C.

1.2.1. Enzimas antioxidantes

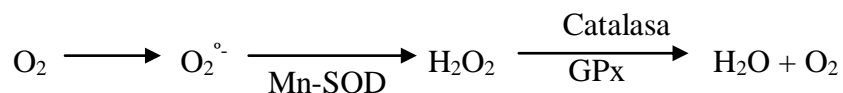
Las enzimas SOD, catalasa y GPx constituyen el principal mecanismo de defensa celular frente al daño oxidativo in vivo, y son relativamente estables en la carne durante el almacenamiento refrigerado, por lo tanto pueden ofrecer protección contra los radicales libres durante un tiempo post-mortem (Gatellier et al., 2004). Algunos investigadores como Renerre et al. (1996) en vacunos, Alessio y Goldfarb (1988), Laughlin et al. (1990), y Tiidus y Houston (1994) en ratas, han propuesto que los músculos oxidativos y oxidativos-glicolíticos, o sea los que sufren más estrés oxidativo, presentan una mayor actividad de las enzimas antioxidantes para contrarrestar este proceso.

1.2.1.1. Superóxido dismutasa (SOD)

La superóxido dismutasa cataliza la dismutación del anión superóxido, que se forma como producto secundario de la cadena respiratoria en las mitocondrias, en oxígeno y peróxido de hidrógeno (Matés et al., 1999) según la siguiente reacción:

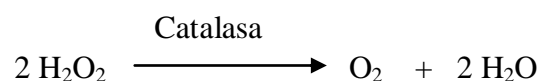


La familia de la SOD incluye tres enzimas diferentes: (1) la Cu-Zn-SOD expresada en todas las células de mamíferos localizada en el citosol y el núcleo, (2) la Mn-SOD generada en las mitocondrias, y (3) la SOD extracelular. El producto final de cualquiera de las tres enzimas es el H₂O₂, que es extremadamente peligroso para las células y es removido inmediatamente por la catalasa y la GPx (Cecarini et al., 2007), según las siguientes reacciones:

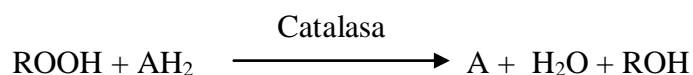


1.2.1.2. Catalasa

La catalasa es una enzima tetramérica que contiene un grupo ferriprotoporfirina en cada subunidad (Matés et al., 1999) y está presente en los peroxisomas (Cecarini et al., 2007). Cataliza la reacción de dos moléculas de peróxido de hidrógeno a oxígeno y dos moléculas de agua (actividad catalítica) como se muestra a continuación:

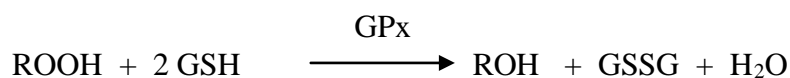


También posee actividad peroxidativa, donde alcoholes como el metanol, etanol, ácido fórmico y fenoles, pueden servir como dadores de electrones (Matés et al., 1999):



1.2.1.3. Glutación peroxidasa (GPx)

Las glutación peroxidases son importantes selenoproteínas específicas (Daun y Åkesson, 2004a) que catalizan la reducción de los hidroperóxidos utilizando glutación reducido (GSH) (Matés et al., 1999):



La familia de las GPx consiste de 4 selenoproteínas (citósólica, plasmática, gastrointestinal, hidroperóxido fosfolipídica) caracterizadas por diferencias en localización y estructura molecular. Funcionan en el citosol y en la mitocondria (Cecarini et al, 2007). A pesar de que la GPx comparte el sustrato (H_2O_2) con la catalasa, ella sola puede reaccionar efectivamente con los hidroperóxidos lipídicos y otros hidroperóxidos orgánicos, siendo la principal vía de protección contra altos niveles de estrés oxidativo (Matés et al., 1999).

La actividad de todas estas enzimas está modulada por la presencia de ciertos minerales (Cu, Zn, Mn, Fe y Se) que actúan como cofactores de las mismas. Por ejemplo, el suplemento con selenio (Se) en la dieta es un factor preponderante en el control de la actividad de GPx (Daun y Åkesson, 2004b; Gatellier et al., 2004). Esto se explica porque la principal forma de la GPx es una proteína dependiente del Se, por lo que se ha propuesto que el selenio de la dieta es la mayor fuente de variación en la actividad de GPx (Descalzo y Sancho, 2008). Algunos estudios han señalado una relación significativa entre la actividad de GPx y el contenido de Se en los músculos *Psoas major* y *Longissimus dorsi* de bovinos (Daun et al., 2001) y el contenido total de Se en distintos músculos de varias especies (Daun y Åkesson, 2004a).

1.2.2. Vitaminas y péptidos

Los tocoferoles y carotenoides constituyen los principales eliminadores liposolubles de radicales libres en la carne. Los tocoferoles son un grupo de isómeros fenólicos de las plantas depositados a partir de fuentes dietarias (Descalzo et al., 2008). La vitamina E (α -tocoferol) es un potente y ampliamente estudiado antioxidante en los sistemas biológicos (Yang et al., 2002a), y es uno de los 4 isómeros (los otros son β -, γ -, y δ -tocoferoles) de la familia de los tocoferoles (Jiang y Xiong, 2016). El β -caroteno es otro producto de las plantas, posee actividad provitamina A, barre con los radicales peroxilos y su actividad antioxidante es más pronunciada a presiones bajas de oxígeno. Actúa en sitios localizados dentro de la región hidrofóbica de las membranas biológicas, contrastando con la actividad del α -tocoferol cerca de la superficie de membrana. A pesar de que el β -caroteno es menos reactivo que el α -tocoferol, ambos antioxidantes llevan a cabo una actividad antioxidante cooperativa en diferentes posiciones de la membrana (Descalzo et al., 2008). También se ha mencionado que la luteína y la zeaxantina (carotenoides) pueden proteger contra la degeneración macular relacionada con la edad y contra la aterosclerosis, y pueden disminuir la predisposición al cáncer potenciando la función inmune (Wang et al., 2010). En la carne también está presente la vitamina C (ácido ascórbico), que es hidrosoluble, captura radicales hidroxilo (OH^\bullet) y superóxido (O_2^\bullet)

), y actúa rompiendo la reacción en cadena de las peroxidaciones lipídicas. El ácido ascórbico puede también actuar indirectamente protegiendo las membranas lipídicas mediante la regeneración de la forma activa de la vitamina E unida a membrana (Jiang y Xiong, 2016).

Existen además, otros sistemas de protección endógenos en el propio músculo, que incluyen, péptidos pequeños como la carnosina, la anserina y el glutatión. La anserina (*N-b*-alanil-1-metil-L-histidina) y carnosina (*b*-alanil-L-histidina) son dipéptidos histidilos antioxidativos (Descalzo et al., 2008), y son los dipéptidos más abundantes presentes de forma natural en varios tejidos de mamíferos incluyendo el músculo esquelético (Bauchart et al., 2006). Sus actividades antioxidantes pueden resultar en su habilidad para quelar metales de transición como Cu y Fe (Descalzo et al., 2008). El glutatión (GT) es un tripéptido compuesto por cisteína, ácido glutámico y glicina, y funciona como un antioxidante principalmente como componente del sistema enzimático que contiene GT oxidasa y reductasa. Dentro de la célula, GT tiene la capacidad de secuestrar radicales libres (como peróxido de hidrógeno), protegiendo la célula de lípidos y proteínas oxidadas, y previniendo el daño al ADN.

1.3. MADURACIÓN DE LA CARNE

Este proceso consiste en la conservación al vacío de la carne, por encima del punto de congelamiento, y está asociado a un aumento de la terneza (Daun et al., 2001). Cerca del 50 % del proceso de terneza ocurre dentro de las 24 horas *postmortem* del animal y el restante 50 % ocurre durante la maduración de la carne (Dransfield, 1994). Este proceso ocurre mediante la acción sinérgica de varios sistemas enzimáticos endógenos con acción proteolítica, como el de las catepsinas, calpaínas y proteasomas (Ouali et al., 2006) y a cambios estructurales en el músculo debido a mecanismos fisicoquímicos complejos que involucran pH y fuerza iónica (Lamare et al., 2002). Durante la maduración, la carne muestra una alteración significativa en el nivel de numerosos componentes químicos (glúcidos, ácidos orgánicos, péptidos y AA libres) y metabolitos como el adenosín trifosfato (ATP) (Monsón et al., 2005). Como consecuencia de ello, las enzimas antioxidantes, que también son proteínas, pueden perder actividad o ser redistribuidas entre

compartimentos celulares (Daun et al., 2001). La tasa de maduración aumenta con temperaturas más altas, y un desarrollo del rigor más rápido, y difiere significativamente entre las especies animales (Lawrie, 1979). La maduración puede causar un aumento en los niveles de oxidación lipídica en la carne, tal como fue observado por Renerre et al. (1996) y por Cifuni et al. (2004) en varios músculos de toros luego de 8 y 15 días a 2-4 °C, respectivamente, por Braghieri et al. (2005) en el músculo *Longissimus dorsi* de toros entre 2 y 7 días a 4 °C, y por Yancey et al. (2006) en tres músculos de vacuno entre 7 y 35 días a 2-4 °C. También fue observado este aumento en el músculo *Longissimus dorsi* de búfalos alimentados a pastura luego de 15 días de maduración a 2 °C por Descalzo et al. (2008). El proceso de maduración es utilizado ampliamente a nivel comercial, en particular para la exportación de carne refrigerada, y su duración es generalmente de 14 días. Sin embargo, en algunos países como Uruguay y Australia la misma puede ser prolongada legalmente hasta 4 meses. Respecto a la actividad de las enzimas antioxidantes durante la maduración, Renerre et al. (1996) encontraron una disminución en la actividad de la SOD y estabilidad en la actividad de la catalasa y de la GPx en cuatro músculos, luego de 8 días de maduración a 2 °C. Además, Daun et al. (2001) observaron que la actividad de la GPx permanecía estable en los músculos *Longissimus dorsi* y *Psoas major* de vacunos durante 14 días a 4 °C, al igual que Pradhan et al. (2000) en la actividad de la catalasa durante 6 días a 4 °C en los músculos *Semimembranosus* y *Longissimus dorsi* de vacunos.

Esta Tesis de Doctorado plantea tres escenarios diferentes con el objetivo de definir la relación que podría existir entre el sistema de producción, y en particular la alimentación de los animales en etapa de terminación, y la susceptibilidad de la carne a los procesos oxidativos, que sufre habitualmente un alimento durante su procesado y su conservación. En el primer escenario, se estudiará el impacto de los tres sistemas de producción/alimentación descritos anteriormente, sobre la estabilidad oxidativa de la carne de novillos. En el segundo escenario, se evaluará el efecto del agregado de selenio orgánico en la dieta de novillos producidos bajo el sistema feedlot, sobre la estabilidad oxidativa de la carne, siendo este sistema

descrito como capaz de generar una carne más susceptible a la oxidación. El tercer escenario, plantea comparar la estabilidad oxidativa y del color de la carne de novillos, alimentados exclusivamente a pasturas con la de animales terminados a grano (feedlot), cuando es sometida a condiciones que simulan una venta comercial con exposición en vitrina iluminada y refrigerada.

2. INFLUENCIA DE LOS DISTINTOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN UTILIZADOS EN EL URUGUAY, SOBRE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE DE NOVILLOS ABERDEEN ANGUS

2.1. INTRODUCCIÓN

Como ya se mencionó en el capítulo 1, la producción de carne bovina en el Uruguay se realiza en tres sistemas productivos principales. En uno de ellos, los animales son producidos en altas extensiones de espacio y alimentados en base a pasturas. En otro, los animales reciben además de pasturas, una suplementación de granos o de raciones balanceadas. El tercero es de reciente desarrollo en el país (feedlot) y consiste en alimentar los animales exclusivamente con granos y raciones comerciales durante los últimos 90-120 días previos a la faena, en condiciones de encierro.

La estabilidad oxidativa de la carne depende del balance entre elementos pro y anti-oxidantes, y la composición en sustratos oxidables, incluidos los PUFA, colesterol, proteínas y pigmentos (Gatellier et al., 2004). La carne producida a pasturas o granos difiere en sus elementos prooxidantes y antioxidantes, y en su composición en ácidos grasos (Descalzo et al., 2008). La alimentación a pasturas aumenta el contenido de PUFA en la carne comparado con la alimentación a grano, y los lípidos que contienen PUFA son particularmente susceptibles al ataque de los radicales libres. A pesar de esto, el pasto es particularmente rico en antioxidantes naturales como las vitaminas de los grupos A, C y especialmente E, o fitoquímicos como los carotenoides y flavonoides, por lo que ofrece una gran protección contra la oxidación lipídica. Los granos son menos ricos en vitaminas, que son muy inestables y disminuyen durante la deshidratación y el almacenamiento de los mismos, pero también poseen componentes antioxidantes como polifenoles y ácido fólico. Todos estos antioxidantes naturales actúan interrumpiendo la reacción en cadena de radicales libres, y son considerados como una segunda línea de protección contra el ataque de radicales libres (Gatellier et al., 2004). Las enzimas antioxidantes SOD,

catalasa y glutatión peroxidasa (GPx) constituyen el principal mecanismo de protección celular frente al daño oxidativo in vivo. La SOD barre el anión superóxido mediante la formación de peróxido de hidrógeno y la catalasa descompone el peróxido de hidrógeno a agua y oxígeno. La GPx puede descomponer el peróxido de hidrógeno y los lipoperóxidos formados durante la oxidación lipídica. Estas enzimas antioxidantes son relativamente estables en la carne durante el almacenamiento refrigerado (Gatellier et al., 2004). La oxidación induce modificaciones en los lípidos y proteínas del músculo, afectando las propiedades organolépticas y nutricionales de la carne y los productos derivados de la carne (Insani et al., 2008). Los factores de stress que provienen de fuentes tanto internas como externas inician la oxidación lipídica en alimentos cárnicos. Los factores más importantes son las especies reactivas al oxígeno (ROS) que incluyen radicales libres y peróxidos. Durante el manejo, procesamiento y almacenamiento de la carne fresca, el hierro endógeno liberado es parcialmente responsable de la catálisis de la oxidación lipídica (Descalzo et al., 2005). También, la oxidación proteica es responsable de muchas modificaciones biológicas como la fragmentación o agregación de proteínas, y la disminución en la solubilidad proteica afecta la calidad de la carne y sus productos (Mercier et al., 2004).

También teniendo en cuenta la diferencia de composición en lípidos y en menor grado en proteínas de los músculos, es posible pensar que la estabilidad oxidativa sea variable según el músculo (Daun et al., 2001, Renner et al., 1996).

Por lo tanto, se trabajó con tres cortes bovinos de distinto valor comercial, el bife angosto (de alto valor comercial) que es un corte del cuarto trasero, la nalga de afuera (de mediano valor comercial) que también es un corte del cuarto trasero, y la paleta (de bajo valor comercial) que es un corte del cuarto delantero del animal, para poder comparar el efecto de los sistemas de producción sobre la estabilidad oxidativa de la carne proveniente de estos cortes.

2.2. OBJETIVO GENERAL

El objetivo fue determinar si los sistemas de producción a pasturas, pasturas más suplementación de granos y feedlot, generan diferencias en cuanto a los parámetros oxidativos y antioxidativos de la carne, fresca y madurada, de novillos de la raza Aberdeen Angus.

2.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el perfil de ácidos grasos, de la carne producida en cada uno de los tres sistemas de producción, para poder relacionarlo con los niveles de oxidación lipídica.
- Medir los niveles de oxidación lipídica y proteica en la carne, fresca y madurada, producida en cada uno de los tres sistemas productivos.
- Determinar la actividad de las enzimas antioxidantes: catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa, en la carne fresca y madurada, producida en cada uno de los tres sistemas de producción.
- Determinar para el corte bife angosto, la capacidad antioxidativa de la carne fresca y madurada, producida en cada uno de los tres sistemas productivos.

2.4. HIPÓTESIS

Habría una mayor estabilidad oxidativa en la carne proveniente de un sistema de producción a pasturas que en la carne proveniente de los sistemas a pasturas más suplementación de granos y feedlot. Se espera, que dicha diferencia también se observe en las mismas carnes después de su maduración, y hallar diferencias entre los cortes estudiados.

2.5. MATERIALES Y MÉTODOS

2.5.1. Cortes y animales

Se trabajó con tres cortes de carne bovina: el bife angosto (músculo principal *Longissimus dorsi*) de alto valor comercial, la nalga de afuera (músculo principal

Biceps femoris) de mediano valor comercial y la paleta (músculo principal *Triceps brachii*) de bajo valor comercial (fig. 2), de 58 animales de la raza Aberdeen Angus con entre 24-30 meses de edad y pertenecientes a la categoría novillo. Los animales del grupo 1 (pasturas, n=17) fueron alimentados con una mezcla de pasturas naturales 63 % y pasturas mejoradas 37 % en el departamento de Rocha alcanzando un peso promedio de 479,8 kg. Los animales del grupo 2 (pastura más suplemento de granos, n=20) fueron alimentados con avena más ryegrass y el último mes con granos (maíz) *ad libitum*, en el departamento de Canelones alcanzando un peso promedio de 502,4 kg. Los del grupo 3 (feedlot, n=21) fueron alimentados con silo sorgo planta entera, silo sorgo grano húmedo, cascarilla de soja y salvado de trigo durante los últimos 90 días en el departamento de Flores, alcanzando un peso promedio de 497,4 kg. Todos los pesos indicados son pesos vivos al momento de la faena. Todos los animales fueron faenados el mismo día en un frigorífico oficial regulado por el Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP) (Frigorífico Solís, Departamento de Lavalleja). Una vez obtenidos los cortes, que se mantuvieron a 1-2 °C hasta llegar al laboratorio, se dividieron en dos porciones (de 500 g aproximadamente), donde una se congeló en fresco a -20 °C y la otra se maduró a 1-2 °C con envasado al vacío durante 14 días y luego se congeló a -20 °C hasta realizar los análisis correspondientes.

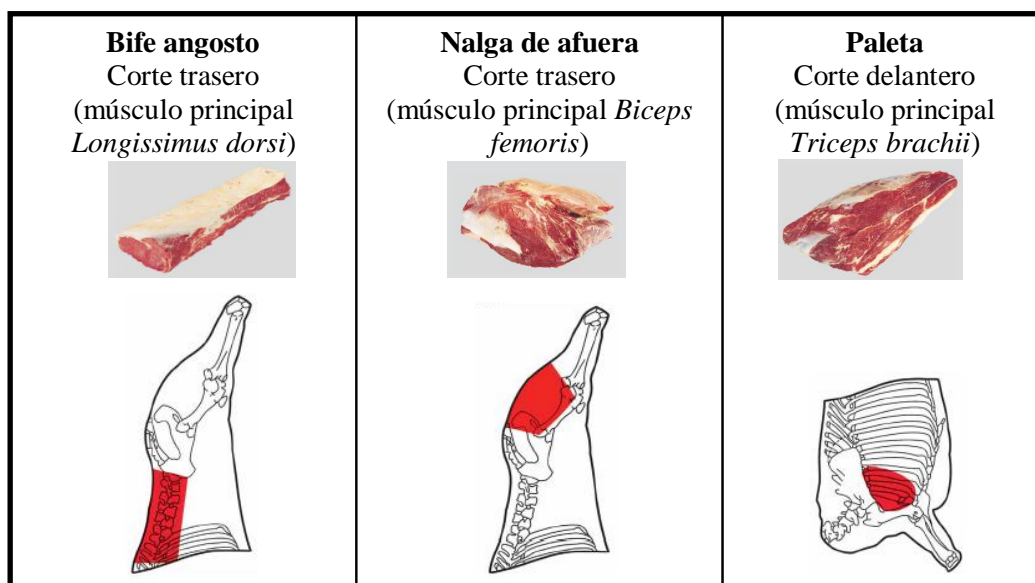


Fig. 2. Cortes utilizados y su correspondiente ubicación anatómica. Extraído del Manual de Carnes Bovina y Ovina (INAC, 2004).

2.5.2. Contenido total de lípidos y composición de ácidos grasos

Se determinó el contenido total de lípidos y la composición de ácidos grasos de los tres cortes, solo en estado fresco, de novillos producidos en los tres sistemas. Se extrajeron los lípidos intramusculares por el método de Folch et al. (1957). Se pesaron aproximadamente 4 g de cada muestra de carne, que se homogeneizaron en un Virtis 45 durante 1 min en 80 ml de una mezcla de cloroformo: metanol (2:1). Se filtró el homogeneizado a un kitasato y se volcó su contenido en una ampolla de decantación. Se agregaron 25 ml de una solución de 9 g/l de NaCl y se agitó la ampolla durante 1 min. Se dejaron reposar una noche para que se separen las fases y se recogió la fase inferior (conteniendo los lípidos en cloroformo) en un balón de vidrio previamente pesado. Luego se evaporó el cloroformo en un rotavapor, se colocaron los balones en estufa a 35 °C durante 30 min y luego una noche en un desecador al vacío. A continuación se pesaron los balones con los lípidos y se calculó el porcentaje de lípidos que contenía cada muestra. Para la metilación de los ácidos grasos, se disolvieron los lípidos contenidos en el balón con cloroformo y se extrajeron (en triplicados) aproximadamente 40 mg. Para la metilación se siguió el método descrito por Ichihara et al. (1996). Se evaporó el cloroformo y se colocaron 2 ml de hexano. Se agregaron 4 ml de una solución de KOH 2 M en metanol, se agitó con un vortex durante 2 min y se centrifugó a 1000 g durante 10 min a 12 °C aproximadamente. Se extrajo la fase superior y se colocó en un tubo para luego medir la composición en ácidos grasos en un cromatógrafo de gases Clarus 500 (Perkin Elmer Instruments) con un detector de llama (FID) alimentado por 40 ml de hidrógeno por generador por electrólisis y 400 ml de aire. Se utilizó un Split fijo de 55 ml/min abierto 30 segundos después de la inyección automática de la muestra de 1 microlitro en hexano. Se utilizó una columna CPSIL-88 de 100 m y una temperatura inicial de 90 °C durante 1 minuto. Luego se aumentó la temperatura hasta 180 °C y se mantuvo durante 10 minutos. Una última rampa se utilizó con una temperatura de 225 °C que se mantuvo durante 15 minutos. La fase móvil fue el hidrógeno de pureza 99.9995 a 41 psi. La temperatura del inyector y del detector se mantuvo fija a 250 °C.

Se calculó la cantidad de ácidos grasos saturados (SAT), monoinsaturados (MUFA), poliinsaturados (PUFA), n-6, n-3, relación n-6/n-3, relación PUFA/SAT, y los índices aterogénico (IA) y trombogénico (IT) que son índices lipídicos relacionados con la salud. El IA indica la relación entre la suma de los principales ácidos grasos saturados, y la suma de los principales ácidos grasos insaturados, donde los primeros son considerados proaterogénicos (favorecen la adhesión de los lípidos a las células de los sistemas inmunológico y circulatorio) y los últimos como antiaterogénicos (inhiben la agregación de la placa de ateroma y disminuyen los niveles de ácidos grasos esterificados, colesterol y fosfolípidos, previniendo la aparición de micro y macro enfermedades coronarias). El IA se calculó como: $[C12:0+4*(C14:0)+C16:0+C18:0]/[(\Sigma PUFA)+(\Sigma MUFA)]$. El IT se define como la relación entre los ácidos grasos protrombogénicos (saturados) y antitrombogénicos (MUFAS, PUFAS), y se calculó como: $[C14:0+C16:0+C18:0]/[(0.5*\Sigma MUFA)+(0.5*n-6)+(3*n-3)+(n-3/n-6)]$ (Ulbricht y Southgate, 1991).

2.5.3. Oxidación de lípidos

Para determinar los niveles de oxidación lipídica en los tres cortes, en estado fresco y madurado, de novillos producidos en los tres sistemas, se midieron los TBARS (especies reactivas al ácido tiobarbitúrico) descrito por Lynch y Frei (1993). Se homogeneizaron 10 g aproximadamente de cada corte con 200 ml de un buffer de extracción (KCl 0,15 M, EDTA 0,02 M, BHT 0,30 M) durante 1 min a 12.000 rpm en un Waring-Blender. Se extrajo una fracción del homogeneizado para congelar a -20 °C, para la determinación del nivel de oxidación proteica al día siguiente y para determinar la concentración de proteínas por el método de Stoscheck (1990). Para el test de TBARS se extrajeron 30 ml de cada homogeneizado, se centrifugaron a 2000 g durante 10 min a 4 °C 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 solo 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 minutos, luego en hielo durante 5 minutos para frenar la reacción y a temperatura ambiente durante 45 min. Se agregaron 2 ml de n-butanol, se centrifugaron a 3000 g durante 10 min y se midió la absorbancia del sobrenadante en un espectrofotómetro (Genesys-6) a 535 nm de longitud de onda. 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 músculo.

2.5.4. Oxidación de proteínas

Para determinar los niveles de oxidación proteica en los tres cortes, en estado fresco y madurado, de novillos producidos en los tres sistemas, se siguió el método de carbonilos proteicos descrito por Mercier et al. (2004). Primero se descongelaron las muestras homogeneizadas el día anterior y se extrajeron 2 ml para el blanco y 2 ml para cada muestra. Se centrifugaron a 2000 g por 10 minutos a 4 °C, se agregaron 2 ml de HCl 2 M al blanco y 2 ml de DNPH 20 mM disuelto en HCl 2 M a las muestras. Se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora vortexeando cada 10 minutos. Se agregaron 2 ml de TCA 20 %, y se dejaron reposar durante 15 minutos vortexeando cada 5 minutos. Luego se centrifugaron a 2000 g por 10 minutos 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 DNPH. Luego se disolvió el pellet con 6 ml de guanidina en KH_2PO_4 20 mM y se incubaron a temperatura ambiente durante 15 minutos vortexeando cada 5 minutos. Luego se centrifugaron a 2400 g por 10 minutos y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (Genesys-6) a 370 nm de longitud de onda. La concentración de 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 nmoles de DNPH/mg proteína.

2.5.5. Capacidad antioxidativa

Para medir la capacidad antioxidativa en el corte bife angosto, en estado fresco y madurado, se siguió el método descrito por Mercier et al. (2004). Se homogeneizaron 2 g de cada muestra de carne con 20 ml de KCl 0.15 M (pH 7,2) en un Ultra-Turrax (IKA T18 basic) a 12.000 rpm durante 1 min sobre un recipiente enfriado con hielo y se centrifugaron a 2000 g por 10 min a 4 °C. Para el tiempo 0 de incubación se extrajeron 0,5 ml del sobrenadante en un tubo, al cual se agregaron 0,5 ml de KCl 0,15 M y 30 µl de BHT 3 mM. Luego, en el mismo tubo, se agregó 1 ml de la mezcla TBA-TCA (TBA 35 mM, TCA 10% en 125 mM HCl) y se prosiguió con el test de TBARS descrito anteriormente. Paralelamente se incubaron otros 5 ml del mismo sobrenadante inicial con 5 ml de una mezcla de FeSO₄ (0,5 mM) y H₂O₂ (1 mM) a 37 °C en un baño maría con agitación suave (45 rpm). A los 30, 120 y 300 minutos se extrajo una alícuota de 1 ml y se agregaron 30 µl de BHT 3 mM para bloquear la reacción. Se siguieron los pasos para el test de TBARS descritos anteriormente. Los resultados se expresaron como diferencias en los niveles de oxidación lipídica inducida, entre los 30, 120 y 300 minutos de incubación con respecto al tiempo 0 (sin hierro ni peróxido de hidrógeno).

2.5.6. Actividad de la catalasa

Para medir la actividad de la enzima catalasa en los tres cortes, en estado fresco y madurado, de novillos producidos en los tres sistemas, se siguió el método de Aebi (1984). Se pesaron aproximadamente 18 g de cada muestra de carne (en duplicado) y se homogeneizaron con 200 ml de buffer (KCl 0,15 M, EDTA 0,79 M, pH 7,4) en un Waring-Blender durante 1 min. Se guardó una alícuota de 4 ml del homogeneizado en el freezer a -20 °C para determinar la concentración de proteínas por el método de Stoscheck (1990). El homogeneizado se centrifugó a 9000 g durante 10 min a 4 °C. En una cuba de cuarzo de 3 ml del espectrofotómetro se colocaron: 2820 µl del buffer de extracción, 90 µl del sobrenadante de la muestra y 90 µl de H₂O₂ 0,2 M. Se midió la descomposición del H₂O₂ a 240 nm durante 3 min, registrando el valor de absorbancia cada 30 segundos. Se realizó un blanco con

2910 μl del buffer de extracción y 90 μl del sobrenadante. Se realizó un contrablancos con 2910 μl del buffer de extracción y 90 μl de H_2O_2 . Se calculó la actividad de la catalasa utilizando el coeficiente de extinción molar del H_2O_2 ($39,4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y los resultados se expresaron en nmoles $\text{H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ proteína y μmoles $\text{H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{g}$ carne.

2.5.7. Actividad de la superóxido dismutasa

Para medir la actividad de la superóxido dismutasa en los tres cortes, en estado fresco y madurado, de novillos producidos en los tres sistemas, se utilizó otra fracción del mismo homogeneizado utilizado para medir catalasa, el mismo día, y se siguió el procedimiento de Marklund y Marklund (1974) basado en la inhibición de la autooxidación del pirogalol. La reacción se llevó a cabo en una cuba de cuarzo de 3 ml. Primero se midió el blanco, luego el contrablancos y por último la muestra con el pirogalol, para cada una de las muestras. Para medir el blanco se colocaron 2925 μl de buffer KH_2PO_4 50 mM (pH 8,2) y 75 μl del sobrenadante del homogeneizado. Para medir el contrablancos se colocaron 2925 μl del buffer KH_2PO_4 50 mM (pH 8,2) y 75 μl del pirogalol 10 mM. Para medir las muestras se colocaron 2850 μl del buffer KH_2PO_4 50 mM (pH 8,2), 75 μl del sobrenadante del homogeneizado y 75 μl del pirogalol 10 mM. En cada uno de los casos se midió el aumento en la absorbancia a 340 nm de longitud de onda en el espectrofotómetro durante 2 minutos registrando el valor cada 10 segundos. Sabiendo que una unidad de actividad enzimática de la SOD se define como la actividad necesaria para inhibir en un 50 % la autooxidación del pirogalol, se calculó la actividad en cada una de las muestras y se expresó el resultado en UI y en UI/g carne (siendo UI las unidades de inhibición).

2.5.8. Actividad de la glutatión peroxidasa

La actividad de la GPx se midió mediante una reducción del GSH acoplada a una oxidación de NADPH por la glutatión reductasa (Renerre et al., 1996). Para medir la actividad de la GPx en los tres cortes, en estado fresco y madurado, de

novillos producidos en los tres sistemas, se siguió el procedimiento descrito por De Vore y Greene (1982) y Günzler y Flohé (1985). Se pesaron 5 g de cada muestra de músculo y se homogeneizaron en un Ultra Turrax (IKA T18 basic) a 18.000 rpm durante 1 minuto con 25 ml del buffer de extracción (KH_2PO_4 50 mM, EDTA 0,5 mM, pH 7,0). Se centrifugaron a 2000 g durante 2 minutos a 4 °C y se filtraron con vacío y papel de filtro de tipo Whatman N°1 a un kitasato. Se recogió el filtrado en un tubo y se puso en hielo hasta medir la actividad de la GPx. Se guardó una alícuota de 4 ml del filtrado en el freezer a -20 °C para determinar la concentración de proteínas por el método de Stoscheck (1990). Inmediatamente antes de medir la actividad de esta enzima se preparó el medio de reacción ya que tiene una duración de tan solo 2 horas. El medio de reacción consistía en: KH_2PO_4 50 mM, EDTA 0,5 mM, glutatión reducido 1 mM (Sigma-Aldrich G4251), NADPH 0,15 mM (Sigma N1630 o Fluka 93220), H_2O_2 0,15 mM, NaN_3 1 mM (Sigma S-2002) y glutatión reductasa 1,5 U (Sigma G3664). Para medir el blanco se colocaron 1980 μl de este medio a 22 °C junto con 20 μl del buffer de extracción en una cuba de cuarzo de 3 ml y se midió la absorbancia a 340 nm de longitud de onda. Para medir la actividad de las muestras se colocaron 1980 μl del medio de reacción a 22 °C y 20 μl del filtrado, y se determinó la oxidación del NADPH midiendo el descenso en la absorbancia a 340 nm durante 3 minutos registrando los valores cada 30 segundos. Sabiendo que una unidad de GPx se define como la cantidad de extracto requerido para oxidar 1 mmol de NADPH/minuto, se calculó la concentración de NADPH utilizando su coeficiente de extinción molar a 22 °C ($6.300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y se expresó el resultado en μmoles de NADPH/min/g carne y en nmoles de NADPH/min/mg proteína.

2.5.9. Concentración de proteínas

Para expresar los resultados de oxidación proteica, actividad de catalasa y de glutatión peroxidasa en base a los mg de proteína se determinó la concentración proteica de las muestras por UV por el método de Stoscheck (1990). Se realizó una curva estándar a partir de una solución madre de 10 mg/ml de seroalbúmina bovina

(BSA) (Sigma). Cada punto de la curva se realizó por triplicado midiendo la absorbancia a una longitud de onda de 280 nm en cubas de cuarzo. Se graficó la absorbancia (densidad óptica) en función de la concentración de proteínas (en mg/ml). Las mediciones de absorbancias de las muestras se realizaron por duplicado y se extrapolaron sus concentraciones proteicas utilizando la curva estándar.

2.5.10. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo a través del programa NCSS (2007). Los resultados se expresaron como media \pm error estándar de la media (SEM) y el nivel de significancia fue establecido en $p < 0,05$. Para analizar cada una de las variables, se realizó un análisis de varianza utilizando el modelo general lineal (GLM) para evaluar los efectos principales como: el sistema de alimentación y la maduración. Además, se realizó un análisis normal de varianza (ANOVA) de una vía seguida del test de Tukey-Kramer para comparar la carne fresca y la carne madurada de los tres sistemas dentro de cada corte. Para analizar estadísticamente los resultados de la capacidad antioxidativa se realizó una ANOVA de medidas repetidas para evaluar los efectos del sistema de alimentación y del tiempo de incubación, para el bife angosto fresco y madurado. Además, se realizó una ANOVA de una vía seguida del test de Tukey-Kramer para comparar los sistemas de producción dentro de cada tiempo de incubación, para la carne fresca y para la carne madurada.

2.6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.6.1. Corte bife angosto

2.6.1.1. Contenido total de lípidos y composición en ácidos grasos

Al observar el cuadro 1, podemos ver un efecto del sistema de producción sobre el contenido total de lípidos en el corte bife angosto ($p < 0,001$), donde la carne producida en el sistema feedlot presentó un mayor contenido de lípidos comparado con la carne de los otros dos sistemas (casi el doble). En el trabajo de Realini et al.

(2004) también se obtuvo un mayor contenido de lípidos en el músculo *Longissimus dorsi* (LD, músculo principal del corte bife angosto) de novillos Hereford alimentados a granos comparado con los de pastura, lo mismo que en el de Gatellier et al. (2005), en el músculo LD de bovinos Charolais. Este es un resultado esperado ya que con una alimentación a base de granos y poco movimiento de los animales en encierro, se deposita una mayor cantidad de grasa intramuscular en el animal comparado con una dieta a base de pasturas y mayor actividad física de los animales (Daley et al., 2010). Los valores de % de lípidos encontrados en el bife angosto de animales a pastura son algo superiores a los hallados en otro trabajo de nuestro laboratorio, en el músculo *Longissimus dorsi* (corte bife angosto) de novillos Hereford y Braford (Terevinto, 2010). Una posible explicación a este hecho, es que la raza Aberdeen Angus es capaz de acumular una mayor cantidad de grasa intramuscular (Graham et al., 2006) comparado con otras razas como la Hereford.

En relación a los ácidos grasos del corte bife angosto (cuadro 1), vemos que dentro de los ácidos grasos saturados, el contenido de ácido laurico (C12:0) y mirístico (C14:0) no fue distinto entre los tres sistemas, pero el contenido de ácido palmítico (C16:0) que tiene un efecto negativo para la salud del consumidor por ser un ácido graso aterogénico, fue mayor en el bife angosto del sistema feedlot comparado con los otros dos sistemas. Con respecto al ácido esteárico (C18:0) que es otro ácido graso saturado, pero es neutro desde el punto de vista de la salud, su contenido fue menor en el bife angosto del sistema feedlot comparado con el de los otros dos sistemas. En cuanto a los contenidos de los ácidos oleico (C18:1), linoleico (C18:2n-6) y linoleico conjugado (CLA), que poseen ciertos beneficios para la salud humana, no se observaron diferencias significativas entre sistemas de producción. Si se encontraron diferencias en el contenido total de ácidos grasos n-3, donde la carne de pastura y la de pastura más suplemento presentó una mayor cantidad, lo que es un aspecto positivo para estas carnes, porque los n-3 presentan beneficios para la salud del consumidor. Particularmente, dentro de los n-3, se encontró una mayor proporción de los ácidos docosahexaenoico (DHA), eicosapentaenoico (EPA), C20:3 y linolénico (C18:3), en la carne de los sistemas a

pasturas y pastura más suplemento comparado con la de feedlot. Tanto el ácido linolénico como el EPA y el DHA tienen un efecto antitrombogénico, ya que se ha demostrado que ingestas elevadas de ácidos grasos n-3 marinos, como el EPA y el DHA, tienen beneficios clínicos en reducir desenlaces adversos relacionados con la morbilidad y mortalidad por enfermedades cardiovasculares (Deckelbaum, 2010).

Con respecto al contenido total de ácidos grasos SAT, MUFA, PUFA y n-6, no se obtuvieron diferencias significativas entre sistemas. En cuanto a la relación n-6/n-3, la carne producida sobre pasturas aun con suplemento presentó un menor valor, en comparación con la carne del sistema feedlot. Este resultado es un aspecto favorable desde el punto de vista de la salud cardiovascular para las personas que consumen este tipo de carne. Una cantidad excesiva de PUFA n-6 y una relación elevada de n-6/n-3, como la que se encuentra en las dietas occidentales actualmente, promueven la aparición de patologías que incluyen enfermedades cardiovasculares, cáncer, enfermedades inflamatorias y autoinmunes (Simopoulos, 2002). La diferencia encontrada en la relación n-6/n-3 entre los sistemas de producción, se debió principalmente, al mayor contenido de ácidos grasos de la familia n-3 en la carne de novillos producidos a pasturas (el doble) comparado con la de feedlot, ya que no hubo diferencias entre sistemas en el contenido total de n-6. Una mayor relación n-6/n-3 en la carne de vacunos alimentados con granos también fue hallada por otros investigadores, trabajando con animales de diferentes razas (Descalzo et al., 2005, Yang et al., 2002b, García et al., 1999).

Al no encontrar diferencias entre los sistemas en el contenido de PUFA y de SAT, tampoco se observó diferencia en la relación PUFA/SAT en el bife angosto. El valor de esta relación en la carne de los tres sistemas de producción, fue menor a lo recomendado (0,45) por la FAO-WHO (2010). La recomendación de que el valor de la relación PUFA/SAT esté por encima de 0,45 es para prevenir, por un lado, el exceso de ácidos grasos saturados con un efecto negativo sobre el nivel de colesterol LDL en plasma, y un exceso de PUFA, principalmente los de la familia n-3, algunos de los cuales son precursores de factores que favorecen los procesos inflamatorios, quienes están además involucrados en la etiología de algunos cánceres (Stajic et al.,

2011). La relación n-6/n-3 fue más alta de lo recomendado (4/1), por la FAO-WHO (2010) en el bife angosto del sistema feedlot. Los resultados de ácidos grasos obtenidos en nuestro trabajo, son muy similares a los hallados por Gatellier et al. (2005), en el músculo LD (músculo principal del corte bife angosto) de novillos Charolais.

En cuanto al índice aterogénico (IA) no se encontraron diferencias significativas entre sistemas, pero el índice trombogénico (IT), fue mayor en el bife angosto de novillos en feedlot comparado con el de los otros dos sistemas. El presentar un mayor IT significa que posee una mayor tendencia a formar coágulos en los vasos sanguíneos, lo cual es perjudicial para la salud del consumidor (Ulbricht y Southgate, 1991).

Cuadro 1. Contenido de lípidos (%) y composición en ácidos grasos del corte bife angosto.

	Pastura	Pastura + Suplemento	Feedlot	P
% Lípidos	3,85±0,04b	4,09±0,65b	6,94±1,59a	0,001
C12:0	0,08±0,01	0,08±0,02	0,14±0,01	NS
C14:0	2,57±0,97	2,68±0,52	4,16±0,25	NS
C15:0i	0,26±0,02	0,32±0,04	0,23±0,03	NS
C15:0ai	0,29±0,02	0,33±0,05	0,16±0,04	NS
C14:1	0,32±0,03b	0,37±0,07b	0,75±0,07a	0,01
C15:0	0,65±0,03	0,69±0,12	0,55±0,05	NS
C16:0i	0,23±0,01	0,20±0,03	0,18±0,01	NS
C16:0	25,22±1,08b	25,77±1,72b	30,81±0,56a	0,05
C16:1	3,36±0,11b	3,40±0,23b	4,43±0,09a	0,01
C17:0	1,40±0,07a	1,38±0,05a	1,09±0,03b	0,01
C17:1	0,99±0,02a	0,96±0,07a	0,71±0,01b	0,02
C18:0	18,53±0,40a	18,61±1,08a	13,53±0,34b	0,01
C18:1	37,44±0,13	37,65±1,13	37,44±0,77	NS
C18:2n6	2,83±0,16	2,49±0,29	2,36±0,05	NS
C20:0	0,14±0,01	0,13±0,04	0,05±0,00	NS
C18:3n6	0,02±0,00b	0,08±0,00a	0,02±0,00b	0,03
C20:1	0,14±0,01	0,12±0,01	0,15±0,01	NS
C18:3n3	0,57±0,01b	0,67±0,03a	0,23±0,00c	0,01
CLA	0,43±0,00	0,42±0,06	0,30±0,02	NS
C20:3n3	0,09±0,00a	0,11±0,01a	0,03±0,00b	0,01

C20:3n6	0,12±0,01a	0,14±0,02a	0,08±0,01b	0,03
C20:4n6 ARA	0,28±0,01	0,32±0,06	0,24±0,01	NS
C20:5n3 EPA	0,06±0,01a	0,08±0,01a	0,02±0,00b	0,01
C22:5n3 DPA	0,03±0,00	0,05±0,01	0,04±0,01	NS
C22:6n3 DHA	0,21±0,01a	0,26±0,04a	0,08±0,01b	0,02
Otros AG	3,76±0,81	2,70±0,16	2,23±0,18
SAT	49,37±1,38	50,19±2,43	50,91±0,90	NS
MUFA	42,25±0,01	42,50±0,96	43,48±0,63	NS
PUFA	4,63±0,17	4,62±0,50	3,39±0,09	NS
Σn-6	3,24±0,18	3,05±0,38	2,70±0,06	NS
Σn-3	0,96±0,01a	1,15±0,1a	0,40±0,02b	0,001
n-6/n-3	3,39±0,22b	2,63±0,12b	6,83±0,33a	0,001
PUFA/SAT	0,09±0,01	0,09±0,02	0,07±0,003	NS
Índice aterogénico	0,76±0,05	0,78±0,11	1,02±0,04	NS
Índice trombogénico	1,07±0,06b	1,08±0,12b	1,43±0,06a	0,05

Los resultados son medias \pm SEM (n=10). Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas entre sistemas ($p < 0,05$). P: significancia estadística; AG: ácidos grasos; NS: no significativo; ai: anteiso; i: iso.

2.6.1.2. Oxidación de lípidos

En el corte bife angosto, no se observó un efecto del sistema de producción (fig. 3), lo que puede ser explicado porque no se observaron diferencias significativas entre los sistemas en el contenido de PUFA (cuadro 1), que son los ácidos grasos más susceptibles de sufrir oxidación. Varios trabajos encontraron una mayor oxidación lipídica en el músculo *Longissimus dorsi* de bovinos alimentados con granos comparado con los alimentados a pasturas (Gatellier et al., 2005, Mercier et al., 2004, Realini et al., 2004, O'Sullivan et al., 2003), pero en ninguno de estos trabajos se utilizó la raza Aberdeen Angus, lo que puede estar marcando esa diferencia en los resultados.

En cuanto a la maduración, se encontró un efecto ($p < 0,001$) sobre la oxidación lipídica en el corte bife angosto, donde la carne madurada presentó mayores niveles de TBARS que la carne fresca. Este aumento de la oxidación con la maduración es esperable, ya que bajo condiciones de refrigeración y al vacío pueden seguir ocurriendo procesos de oxidación en los lípidos. Esta diferencia fue significativa en

la carne de animales producidos a pasturas y a pasturas más suplemento, como se puede ver en la figura 3. Este aumento de la oxidación lipídica con la maduración también se observó en el LD (músculo principal del corte bife angosto) madurado durante 15 días de búfalos alimentados a pasturas (Descalzo et al., 2008), y en el *Longissimus lumborum* (LL) madurado durante 60 días de corderos alimentados a pasturas y en feedlot (Ponnampalam et al., 2017). Sin embargo, en otro trabajo de nuestro grupo de laboratorio (Terevinto, 2010) no se observó ese aumento en el LD (músculo principal del corte bife angosto) madurado 14 días, de novillos Hereford y Braford alimentados a pasturas. Esta diferencia podría ser explicada, en parte, por la mayor cantidad de lípidos intramusculares que tiene la carne Aberdeen Angus comparado con la carne Hereford y Braford objeto de nuestro anterior estudio (Terevinto, 2010). De cualquier manera, tanto en la carne fresca como en la carne madurada los valores de TBARS obtenidos en el bife angosto (<0,6 mg MDA/kg) pueden ser considerados claramente por debajo del valor límite (2 mg MDA/kg) que determina el rechazo de la carne por parte de un panel de consumidores durante un estudio sensorial (Campo et al., 2006).

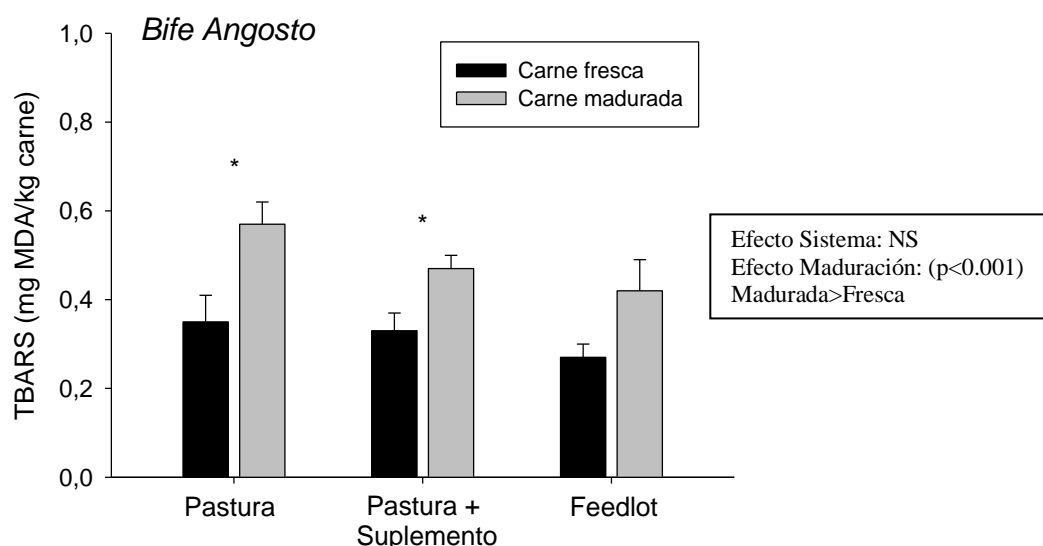


Fig. 3. Oxidación lipídica en el corte bife angosto fresco y madurado, de novillos Aberdeen Angus en los sistemas de alimentación a pastura, pastura más suplementación de grano y feedlot. Los * indican diferencias significativas entre el estado fresco y madurado ($p < 0,05$). NS: no significativo.

2.6.1.3. Oxidación de proteínas

Los resultados de la oxidación proteica en el corte bife angosto, de novillos producidos en los tres sistemas estudiados, se presentan en la figura 4. Como se puede ver, no se encontró un efecto del sistema de producción en este corte, y tampoco se obtuvieron diferencias significativas entre sistemas de producción, en la carne fresca y en la carne madurada. En este sentido, en el trabajo de Mercier et al. (2004) tampoco se observó un efecto del sistema de alimentación (pastura vs grano), sobre los niveles de oxidación proteica en el músculo LD de vacas Charolais, sometido a oxidación inducida con Fe^{+2} y H_2O_2 . En el trabajo de Insani et al. (2008) se encontró una mayor oxidación proteica en el músculo *Psoas major* de novillos (músculo que no fue estudiado en esta investigación), proveniente de animales alimentados con granos comparado con los de pastura. En la figura 4, también se puede ver que no se obtuvo un efecto principal de la maduración, y que dentro de cada sistema de producción tampoco se observaron diferencias significativas entre la carne fresca y madurada. En otro trabajo realizado por nuestro grupo de investigación en este mismo corte (bife angosto) pero de animales Hereford y Braford alimentados a pasturas (Terevinto, 2010), tampoco se encontró un efecto de la maduración sobre los niveles de oxidación proteica en la carne.

Generalmente se acepta el hecho de que existe una interacción estrecha entre el desarrollo de la oxidación lipídica y la oxidación proteica. De hecho, se postula que la presencia de la oxidación lipídica exacerba la oxidación proteica, principalmente de la mioglobina y viceversa (Faustman et al., 2010). Pero en este trabajo no se pudo ver ese efecto que relaciona oxidación lipídica con oxidación proteica.

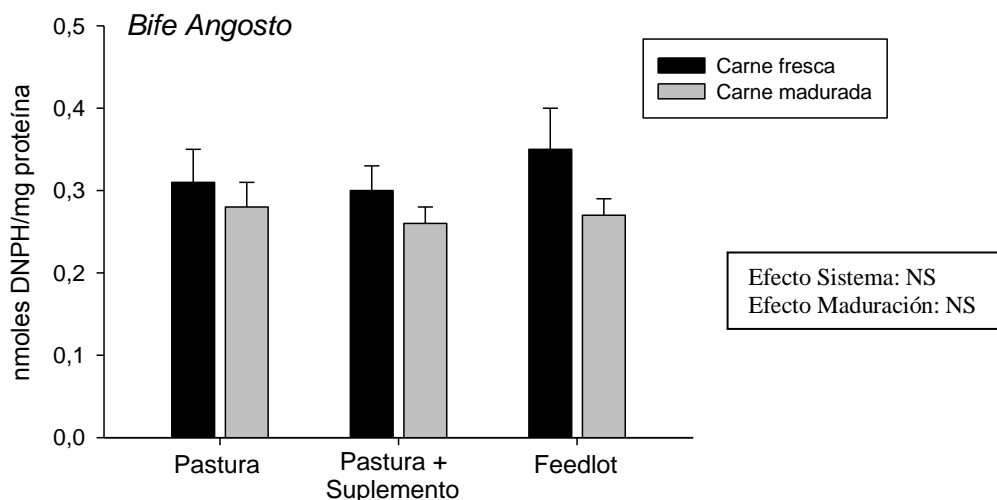


Fig. 4. Oxidación proteica en el corte bife angosto fresco y madurado, de novillos Aberdeen Angus en los sistemas de alimentación a pastura, pastura más suplementación de grano y feedlot. NS: no significativo.

2.6.1.4. Capacidad Antioxidativa

En los resultados de la capacidad antioxidante del corte bife angosto (figura 5), no se pudo observar un efecto del sistema de alimentación en la carne fresca, por lo que la carne de los tres sistemas presentaría la misma capacidad para resistir a condiciones que favorecen la oxidación lipídica. Pero en la carne madurada si se encontró un efecto del sistema de producción ($p < 0,001$) donde el bife angosto producido a pasturas presentó menores niveles de oxidación que el bife angosto de feedlot. En el caso de la carne proveniente de los animales alimentados con pastura más suplemento, se observa que la respuesta a la oxidación inducida con hierro no fue distinta al de los otros dos sistemas. Esto estaría demostrando que, globalmente el bife angosto de novillos Aberdeen Angus producidos a pasturas, presenta una mayor resistencia frente a una oxidación inducida por el hierro, lo que sugiere un mayor contenido de componentes antioxidantes. En el trabajo de Mercier et al. (2004) también encontraron que la carne de animales alimentados a pasturas era más resistente a la oxidación lipídica inducida por el hierro, que la carne de animales terminados a granos (músculo LD). La diferencia entre este trabajo y el nuestro es

que trabajaron solo en carne no madurada y usaron la raza Charolais como modelo (Mercier et al., 2004).

Cuando se estudió, en nuestro trabajo, la respuesta a la oxidación lipídica inducida con hierro, a cada tiempo de incubación, la carne fresca no presentó diferencias significativas entre sistemas de producción, al igual que la carne madurada a los 30 minutos de incubación (figura 5). Sin embargo, a los 120 minutos de incubación de la carne madurada, los niveles de oxidación lipídica fueron mayores en la carne de feedlot comparado con los otros dos sistemas ($p < 0,05$). A los 300 minutos, la oxidación fue mayor en la carne de los sistemas feedlot y pastura más suplemento comparado con el de pasturas (fig. 5). Por lo que, en el bife angosto madurado se puede observar que, frente a condiciones que favorecen la oxidación, la carne producida en un sistema feedlot empieza a oxidarse antes que la carne proveniente de los sistemas pastura más suplemento y pasturas. Por lo que se podría concluir que, la carne del bife angosto de novillos Aberdeen Angus madurada, producida a base de pasturas sería más resistente frente a condiciones que favorecen la oxidación lipídica, comparado con la carne del bife angosto producida en los sistemas pasturas más suplemento y feedlot.

Además, se encontró un efecto del tiempo de incubación con hierro y peróxido de hidrógeno en la carne fresca ($p < 0,05$) y en la carne madurada ($p < 0,001$), (efecto que se esperaba), donde se puede ver un aumento significativo de la oxidación lipídica desde el tiempo 30 minutos al tiempo 300 minutos de incubación, y a los 120 minutos el valor no fue distinto significativamente a los otros dos tiempos de incubación (30 y 300 minutos). En el trabajo de Mercier et al. (2004) también observaron un aumento en los niveles de oxidación lipídica, inducida con hierro, con el tiempo de incubación, en el músculo LD de vacas Charolais.

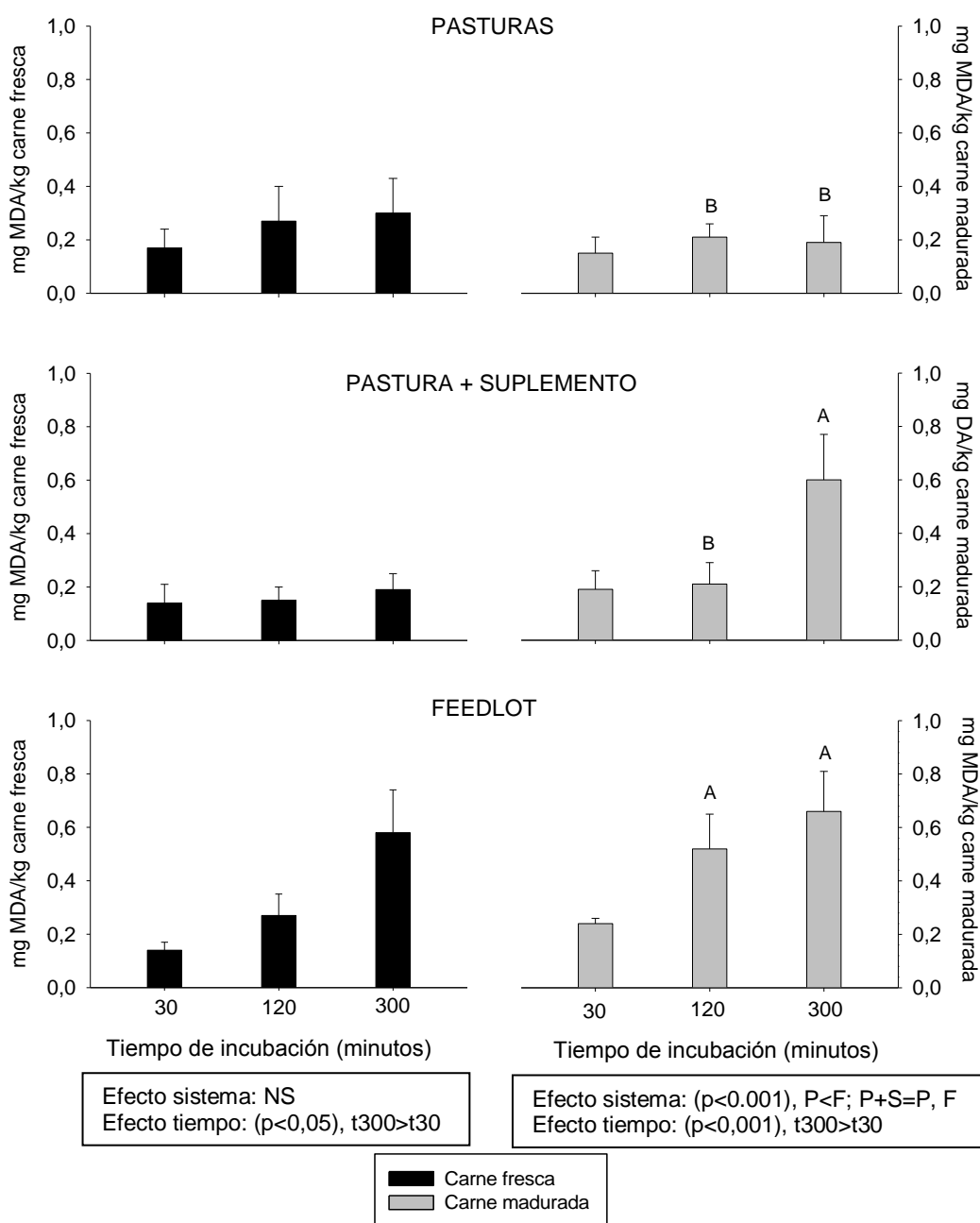


Fig. 5. Oxidación inducida en el corte bife angosto, fresco y madurado, de novillos Aberdeen Angus en los sistemas pastura, pastura más suplementación de grano y feedlot. Letras distintas en mayúscula indican diferencias significativas entre sistemas para cada tiempo de incubación ($p < 0,05$). P: pastura; P+S: pastura más suplemento de granos; F: feedlot; NS: no significativo.

2.6.1.5. Actividad de enzimas antioxidantes

En ambas formas de expresión de los resultados de la actividad de la enzima catalasa (micromoles/minuto/g de carne y nanomoles/minuto/mg de proteína) se encontró un efecto del sistema de producción ($p < 0,05$). Al expresar los resultados por g carne, la carne del sistema pasturas presentó una mayor actividad que la de pastura más suplemento, y la de feedlot no fue diferente significativamente con la carne proveniente de los sistemas pasturas y pastura más suplemento. Al expresar los resultados de la actividad de la catalasa por mg de proteína, la carne del sistema pasturas presentó una mayor actividad que la de los otros dos sistemas (figura 6). A diferencia de nuestros resultados, Gatellier et al. (2004), no encontraron diferencias significativas, para la actividad de la catalasa, entre los sistemas pasturas y feedlot, en el músculo LD de novillos Charolais.

En la figura 6, podemos ver que al comparar la carne fresca proveniente de los tres sistemas, el bife angosto del sistema pastura presenta una mayor actividad de la catalasa, luego el de feedlot y por último el de pastura más suplemento. Este resultado se observa en ambas formas de expresión. En la carne madurada no se observaron diferencias significativas entre los sistemas, en cuanto a la actividad de esta enzima.

En relación a la maduración, no se observó un efecto principal, en ninguna de las dos formas de expresión de la actividad de la catalasa (fig. 6). Pero cuando se compara la actividad de la catalasa en la carne fresca con la carne madurada, se nota que en la carne de novillos a pasturas se puede observar un descenso significativo, y en la de pastura más suplementación de granos se puede ver un aumento significativo de la actividad de catalasa con la maduración (fig. 6). Este aumento de la actividad con la maduración también fue observado en tres músculos de animales de las razas Hereford y Braford alimentados a pasturas, en otro estudio de nuestro laboratorio (Terevinto, 2010), y para lo cual no tenemos una explicación aun.

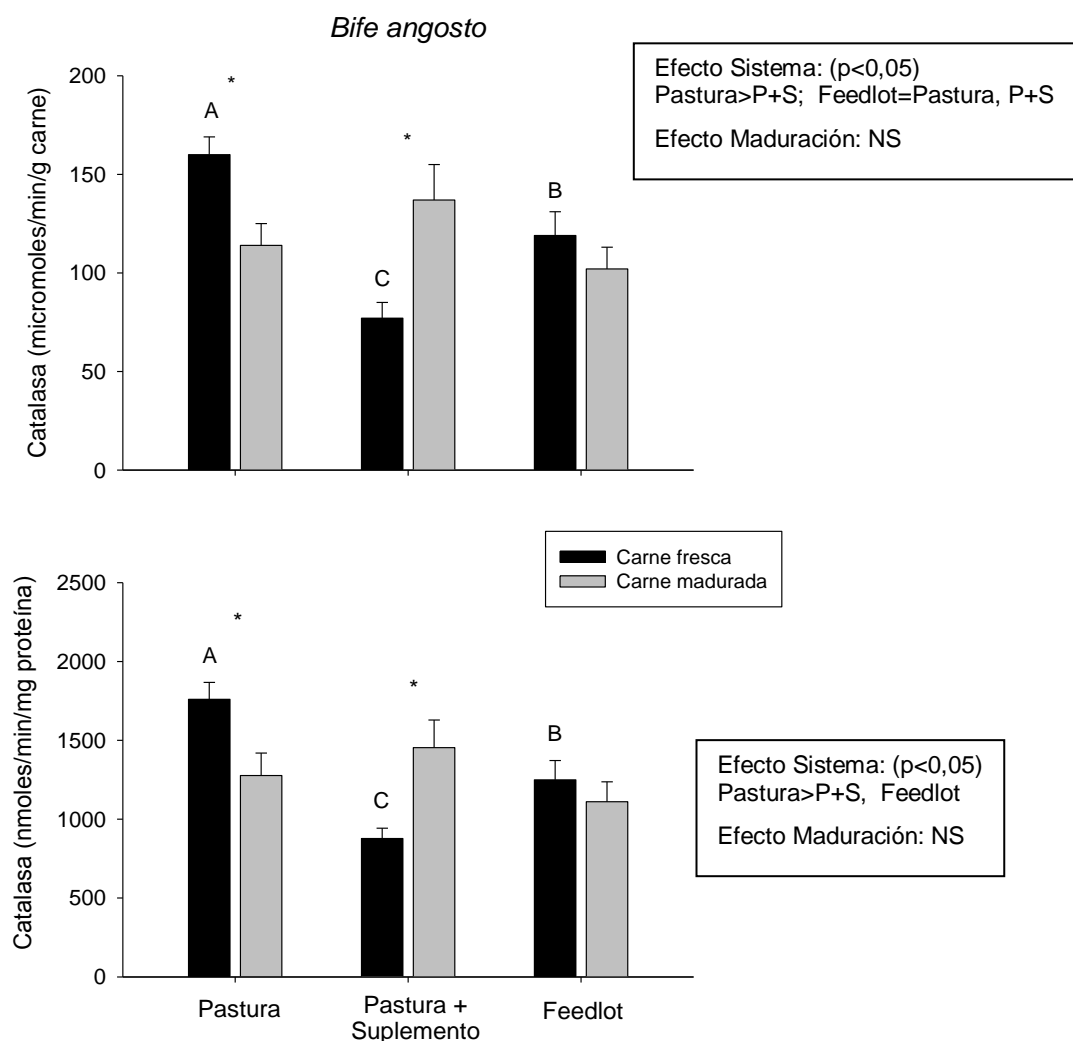


Fig. 6. Actividad de la enzima catalasa en el corte bife angosto fresco y madurado, de novillos Aberdeen Angus en los sistemas de alimentación a pastura, pastura más suplementación de grano y feedlot. Letras distintas indican diferencias significativas entre sistemas en la carne fresca ($p < 0,05$). Los * indican diferencias significativas entre la carne fresca y madurada ($p < 0,05$). NS: no significativo. P+S: pastura más suplemento.

En ambas formas de expresión (UI/g carne y UI) de los resultados de la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) se encontró un efecto del sistema de producción ($p < 0,0001$), donde la carne del sistema pastura más suplemento presentó una menor actividad de SOD comparado con la carne de los otros dos sistemas (figura 7). Sin embargo, tanto Gatellier et al. (2004) en el LD de novillos de la raza Charolais, como Mercier et al. (2004) en el LD de vacas

Charolais, encontraron una mayor actividad de la enzima SOD en la carne del sistema pastura comparado con la de granos.

En la carne fresca también se observaron diferencias entre sistemas (en ambas formas de expresión), donde el bife angosto de animales producidos en pasturas y en feedlot, presentó una mayor actividad de la enzima, comparado con el del sistema pastura más suplemento, sin presentar diferencias entre ellos. En la carne madurada del bife angosto, la del sistema feedlot presentó una mayor actividad de SOD comparado con la del sistema pastura más suplemento, siendo la del sistema pastura no distinta significativamente a ambas.

También, se encontró un efecto de la maduración en ambas formas de expresión de los resultados ($p < 0,0001$), donde la carne madurada presentó una menor actividad de SOD comparado con la carne fresca. Este descenso significativo en la actividad de SOD, se puede observar tanto en la carne del sistema pastura como del sistema feedlot, en ambas formas de expresión (fig. 7). Este descenso en la actividad de la SOD con la maduración también fue visto en el corte bife angosto de novillos Hereford producidos a pasturas, en otro trabajo de investigación de nuestro laboratorio (Terevinto, 2010), y en el trabajo de Renerre et al. (1996) en órganos bovinos. Este descenso en la actividad de la SOD con la maduración, podría explicarse por una pérdida de actividad debido a una degradación de proteínas que ocurre durante el proceso de maduración (Daun et al., 2001).

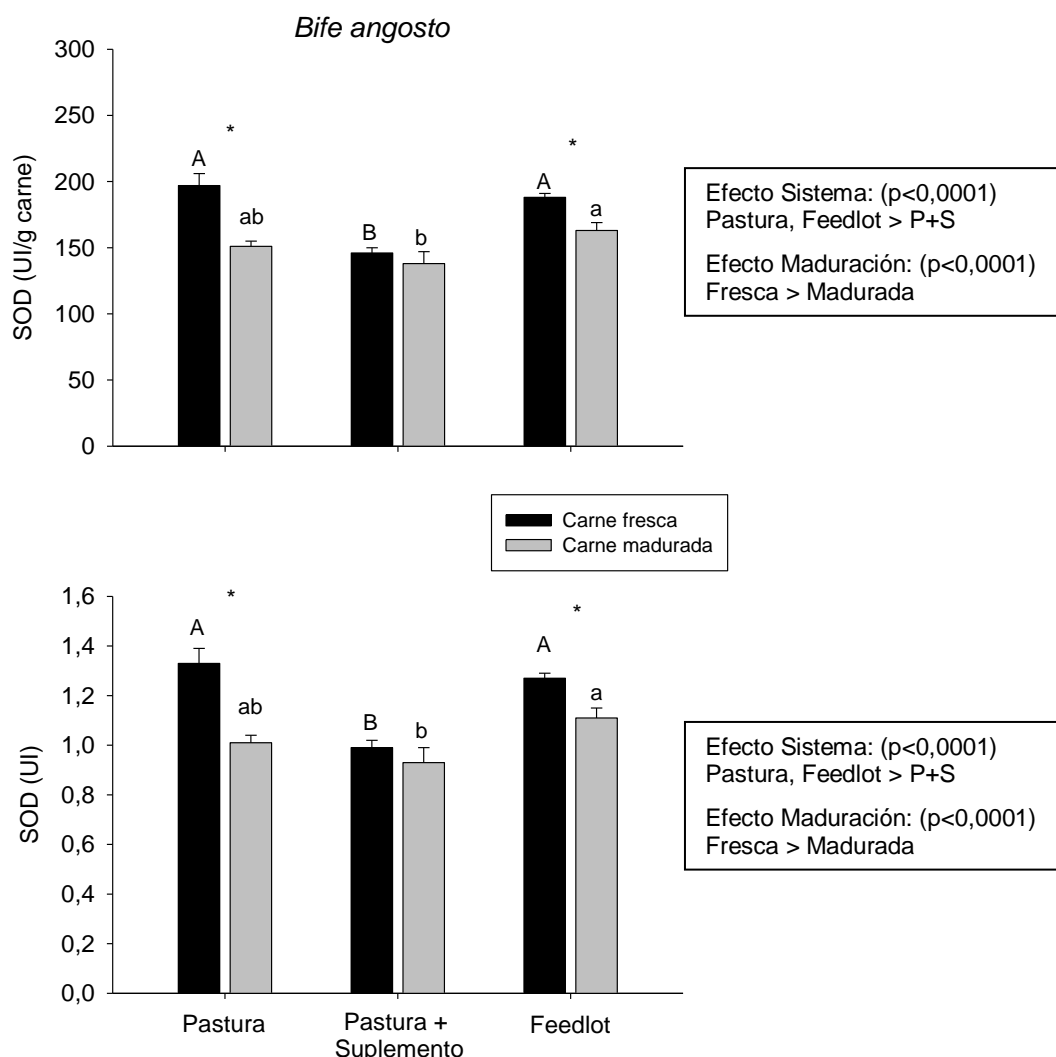


Fig. 7. Actividad de la enzima superóxido dismutasa en el corte bife angosto fresco y madurado, de novillos Aberdeen Angus en los sistemas de alimentación a pastura, pastura más suplementación de grano y feedlot. Letras distintas en mayúscula indican diferencias significativas entre sistemas en la carne fresca ($p < 0,05$), y en minúscula entre sistemas en la carne madurada ($p < 0,05$). Los * indican diferencias significativas entre la carne fresca y madurada ($p < 0,05$). NS: no significativo. P+S: pastura más suplemento. UI: unidades de inhibición.

En los resultados de la actividad de la enzima antioxidante glutatión peroxidasa (GPx) expresados por gramo de carne, no se encontró un efecto del sistema de producción, pero si se observó en los resultados expresados por mg de proteína ($p < 0,0001$), donde la carne del sistema feedlot presentó una mayor actividad que la de pastura más suplemento y ésta que la de pastura (fig. 8).

Cuando se comparan los tres sistemas, por un lado, en la carne fresca no se observaron diferencias, en ambas formas de expresión de los resultados (fig. 8). Por otro lado, en la carne madurada se obtuvieron diferencias significativas, en ambas formas de expresión. Cuando los resultados se expresaron por gramo de carne, la carne de feedlot presentó una mayor actividad de GPx que la de pastura, y esta última más que la carne proveniente del sistema pastura más suplemento. Cuando los resultados se expresaron por mg de proteína, la carne proveniente del sistema pasturas presentó una menor actividad comparado con la de los otros dos sistemas, siendo estos dos últimos no diferentes entre ellos (fig. 8). Este resultado donde la actividad de la GPx es más alta en la carne de animales producidos con granos en comparación con animales producidos en pastura, ha sido observada por otros autores (Gatellier et al., 2004, Mercier et al., 2004, Mouty et al., 2002, Descalzo et al., 2000). En este sentido, Gatellier et al. (2004) explican la mayor actividad de GPx en carne de novillos alimentados con granos, en parte por un mayor contenido de selenio hallado en este sistema comparado con el de pastura. Esto no es aplicable a nuestros resultados porque se encontró un mayor contenido de Se en el bife angosto fresco del sistema pastura comparado con el del sistema feedlot (Saadoun y Cabrera, 2013).

También se vio un efecto de la maduración ($p < 0,01$) cuando los resultados se expresaron por gramo de carne, así como cuando se expresaron por mg de proteína ($p < 0,001$). En ambos casos, la carne madurada presentó una menor actividad de GPx que la carne fresca. Este descenso en la actividad de GPx con la maduración, se puede ver en la carne de animales producidos a pastura más suplemento (por g de carne) y en la de pastura (por mg de proteína) (fig. 8), y podría explicarse por un descenso en la actividad de la GPx debido a una degradación de proteínas durante el proceso de maduración (Daun et al., 2001). Sin embargo, en el bife angosto de novillos producidos en feedlot (expresado por g de carne) se ve un aumento de la actividad de GPx con la maduración, un resultado para el cual no tenemos una explicación aun. En un estudio anterior de nuestro laboratorio, se observó un descenso en la actividad de esta enzima (expresada por gramo de carne) con la maduración, en el músculo PM novillos de las razas Hereford y Braford alimentados

con pasturas (Terevinto, 2010). Pero en este mismo trabajo, el músculo LD (corte bife angosto) no muestra un descenso en ninguna de las formas de expresión, y tampoco en el trabajo de Daun et al. (2001), en el músculo LD de bovinos.

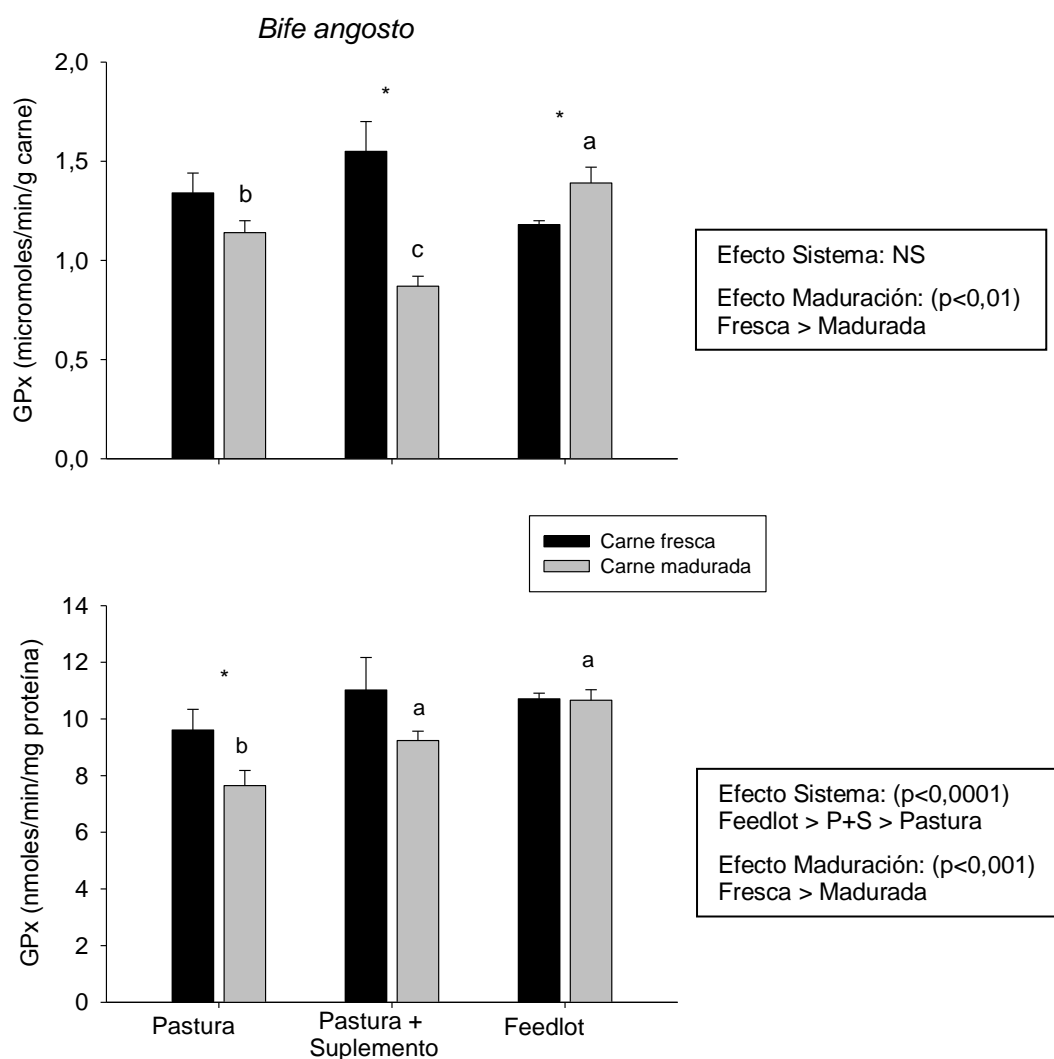


Fig. 8. Actividad de la enzima glutatión peroxidasa en el corte bife angosto fresco y madurado, de novillos Aberdeen Angus en los sistemas de alimentación a pastura, pastura más suplementación de grano y feedlot. Letras distintas indican diferencias significativas entre sistemas en la carne madurada (p<0,05). Los * indican diferencias significativas entre la carne fresca y madurada (p<0,05). NS: no significativo. P+S: pastura más suplemento.

2.6.2. Corte nalga de afuera

2.6.2.1. Contenido de total de lípidos y composición en ácidos grasos

El contenido de lípidos en el corte nalga de afuera de novillos producidos en un sistema feedlot, fue mayor comparado con el de los sistemas a pastura y pastura más suplementación de granos ($p < 0,01$). Esto coincide con los trabajos de Realini et al. (2004) en el músculo LD de novillos Hereford, con el de Gatellier et al. (2005) en el músculo LD de bovinos Charolais y con el de Descalzo et al. (2005) en el músculo PM de novillos, donde se obtuvo un mayor contenido de lípidos en la carne del sistema feedlot comparado con la del sistema pastura.

Con respecto al contenido de ácidos grasos, no se obtuvieron diferencias significativas entre los tres sistemas en cuanto a los ácidos grasos saturados C12:0, C14:0, C16:0 y C18:0, y en cuanto al ácido graso EPA. La nalga de afuera del sistema feedlot presentó un mayor contenido de ácido oleico (C18:1), y la nalga de afuera del sistema pastura más suplemento presentó un mayor contenido de ácido linoleico (C18:2 n-6), linolénico (C18:3 n-3), CLA, araquidónico (ARA) y DHA, comparado con los otros dos sistemas estudiados.

En cuanto al total de SAT no se obtuvieron diferencias entre sistemas. La nalga de afuera del sistema feedlot presentó un mayor contenido de MUFA, debido principalmente a la mayor proporción de los ácidos grasos C14:1 y C18:1, comparado con la carne de los otros dos sistemas. La nalga de afuera del sistema pastura más suplemento presentó un mayor contenido de PUFA, debido a una mayor proporción de ácidos grasos n-6 y n-3, y además presentó una mayor relación PUFA/SAT, comparado con los otros dos sistemas. La mayor proporción de n-6 se debió principalmente a la mayor cantidad de ácido linoleico, γ -linolénico y araquidónico, y una mayor proporción de n-3 debido a una mayor cantidad de ácido α -linolénico y DHA. Por lo que la nalga de afuera de novillos Aberdeen Angus producidos en un sistema de pastura más suplemento sería mejor desde el punto de vista de la salud del consumidor, en cuanto a su composición en ácidos grasos, debido a una mayor proporción de PUFA. No se observaron diferencias entre sistemas en la relación n-6/n-3, y en los índices trombogénico y aterogénico.

Cuadro 2. Contenido de lípidos (%) y composición en ácidos grasos del corte nalga de afuera

	Pasturas	Pastura + Suplemento	Feedlot	P
% Lípidos	1,51±0,5b	1,13±0,09b	1,8±0,18a	0,01
C12:0	0,07±0,02	0,05±0,01	0,06±0,00	NS
C14:0	1,96±0,47	1,35±0,26	1,99±0,14	NS
C15:0i	0,23±0,05	0,18±0,03	0,12±0,01	NS
C15:0ai	0,28±0,06	0,22±0,03	0,14±0,00	NS
C14:1	0,24±0,07ab	0,16±0,03b	0,34±0,02a	0,03
C15:0	0,73±0,16	0,59±0,07	0,42±0,01	NS
C16:0i	0,22±0,04	0,18±0,03	0,16±0,01	NS
C16:0	26,53±2,82	23,74±1,55	25,51±0,57	NS
C16:1	3,24±0,36	3,04±0,20	3,19±0,09	NS
C17:0	1,22±0,03a	1,11±0,04b	0,96±0,01c	0,001
C17:1	0,95±0,33	1,13±0,26	0,96±0,01	NS
C18:0	16,03±1,14	15,59±0,53	14,09±0,26	NS
C18:1	36,18±1,56b	36,58±0,82b	40,07±0,31a	0,02
C18:2n6	5,47±0,31b	6,74±0,11a	5,91±0,06b	0,001
C20:0	0,08±0,05	0,05±0,01	0,09±0,02	NS
C18:3n6	0,04±0,01ab	0,07±0,02a	0,02±0,01b	0,03
C20:1	0,14±0,06	0,13±0,06	0,18±0,00	NS
C18:3n3	0,90±0,31b	1,59±0,05a	0,41±0,01b	0,001
CLA	0,27±0,07b	0,53±0,02a	0,30±0,00b	0,001
C20:4n6 ARA	1,02±0,17b	1,78±0,17a	1,39±0,06ab	0,003
C20:5n3 EPA	0,12±0,04	0,38±0,26	0,05±0,00	NS
C22:5n3 DPA	0,07±0,03b	0,13±0,02ab	0,19±0,01a	0,001
C22:6n3 DHA	0,48±0,18b	1,06±0,16a	0,57±0,03b	0,014
Otros AG	3,54±0,35	3,62±0,08	2,88±0,11
SAT	47,35±2,47	43,08±1,44	43,53±0,45	NS
MUFA	40,75±1,51b	41,04±0,82b	44,75±0,20a	0,014
PUFA	8,37±1,08b	12,27±0,59a	8,84±0,15b	0,001
Σn-6	6,53±0,48b	8,59±0,27a	7,32±0,10b	0,001
Σn-3	1,57±0,54b	3,15±0,32a	1,22±0,05b	0,002
n-6/n-3	4,53±1,57	2,74±0,20	5,98±0,19	NS
PUFA/SAT	0,18±0,03b	0,29±0,02a	0,20±0,01b	0,007
Índice aterogénico	0,71±0,14	0,55±0,06	0,63±0,03	NS
Índice trombogénico	1,01±0,22	0,73±0,09	0,92±0,03	NS

Los resultados son medias ± SEM (n=10). Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas entre sistemas (p<0,05). P: significancia estadística; AG: ácidos grasos; NS: no significativo; ai: anteiso; i: iso.

2.6.2.2. Oxidación de lípidos

En los resultados de la oxidación lipídica del corte nalga de afuera, no se observó un efecto principal del sistema de producción, pero en la carne madurada se observaron diferencias significativas entre sistemas (P+S> Feedlot=Pastura). La mayor oxidación lipídica observada en la carne madurada del sistema pastura más suplemento, podría deberse al mayor contenido de PUFA encontrado en el corte nalga de afuera de este sistema, comparado con el de los otros dos sistemas (cuadro 2). En otros trabajos se ha observado una menor oxidación lipídica en la carne de bovinos producidos en pasturas comparado con la carne producida a base de granos (Insani et al., 2008, Descalzo et al., 2005, Gatellier et al., 2005).

Otro resultado interesante y que podíamos esperar es que se encontró un efecto del proceso de maduración ($p < 0,01$) donde la carne madurada presentó mayores niveles de TBARS que la carne fresca (fig. 9). Esto ocurre probablemente, porque si bien la carne está al vacío y con temperaturas de 1-2 °C, siguen ocurriendo procesos de oxidación luego de la faena del animal. Este efecto es más evidente en la nalga de afuera del sistema pastura más suplemento (fig. 9) que en los otros dos sistemas, lo que puede ser explicado, como se ha postulado, por el mayor contenido de PUFA, un grupo de ácidos grasos más susceptibles a la oxidación.

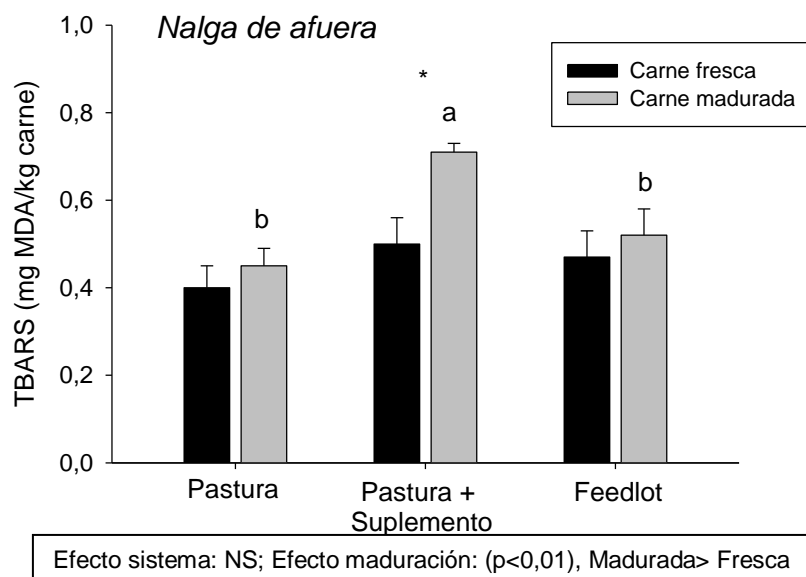


Fig. 9. Oxidación lipídica en el corte nalga de afuera fresco y madurado, de novillos Aberdeen Angus en los sistemas de alimentación a pastura, pastura más suplementación de grano y feedlot. Letras distintas indican diferencias significativas entre sistemas en la carne madurada ($p < 0,05$). Los * indican diferencias significativas entre la carne fresca y madurada ($p < 0,05$). NS: no significativo.

2.6.2.3. Oxidación de proteínas

En este corte se encontró un efecto del sistema de producción ($p < 0,01$), donde la carne del sistema pastura presentó una mayor oxidación proteica que la de los otros dos sistemas (figura 10). Este resultado no lo esperábamos ya que en la bibliografía, no se obtienen diferencias significativas entre la carne de animales alimentados con pasto y en feedlot (Mercier et al., 2004, en el músculo LD de vacas Charolais), o se obtiene una mayor oxidación proteica en la carne de animales producidos en feedlot (Insani et al., 2008, en el músculo PM de novillos cruce de razas Británica e Indica). Hay que tener en cuenta que no se trata del mismo corte, ni de la misma raza analizada, lo que puede estar generando resultados diferentes.

Sin embargo, cuando se comparan los tres sistemas entre ellos, por un lado en la carne fresca, se encontraron diferencias significativas entre sistemas, donde el sistema pastura presentó una mayor oxidación proteica comparado con el de feedlot, y el de pastura más suplemento no fue significativamente distinto. Por otro lado, en

la carne madurada, no se observaron diferencias entre los sistemas estudiados. En nuestro conocimiento, no hay trabajos publicados en el corte nalga de afuera, en relación a la oxidación proteica y sistemas de producción en carne bovina.

También se observó un efecto de la maduración ($p < 0,01$), donde la nalga de afuera madurada presentó una mayor oxidación proteica que la fresca, resultado esperable y más evidente en la carne de feedlot (fig. 10). La información sobre oxidación proteica en carne bovina es escasa, y no hay muchos trabajos que evalúen el efecto del sistema de alimentación de los animales, con respecto al proceso de maduración.

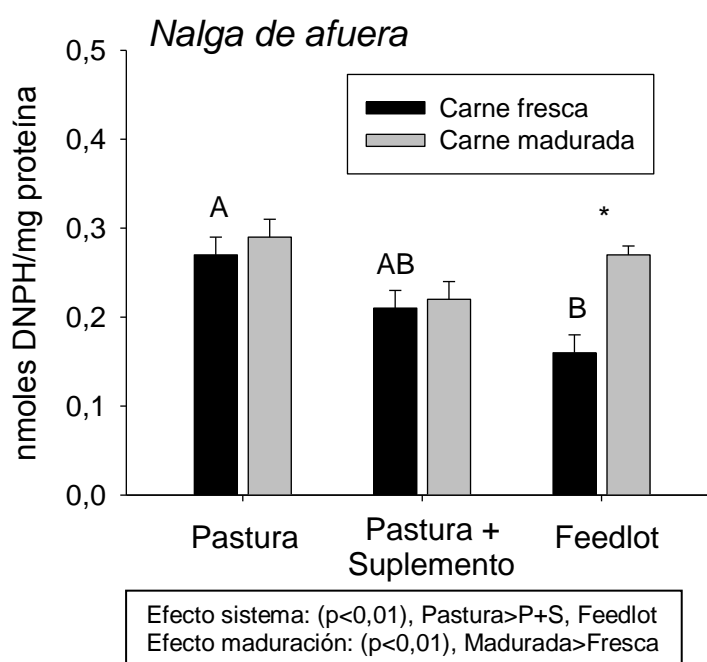


Fig. 10. Oxidación proteica en el corte nalga de afuera fresco y madurado, de novillos Aberdeen Angus en los sistemas de alimentación a pastura, pastura más suplementación de grano y feedlot. Letras distintas indican diferencias significativas entre sistemas en la carne fresca ($p < 0,05$). Los * indican diferencias significativas entre la carne fresca y madurada ($p < 0,05$). P+S: pastura más suplementación.

2.6.2.4. Actividad de enzimas antioxidantes

En relación a los resultados de la actividad de la enzima antioxidante catalasa, en el corte nalga de afuera, podemos ver en la figura 11, que no hubo un efecto del sistema de producción, y tampoco se obtuvieron diferencias entre sistemas para la carne fresca y para la carne madurada, en ambas formas de expresión de los resultados (micromoles/minuto/g de carne y nanomoles/minuto/mg de proteína). En varios trabajos, en carne de novillos de distintas razas, tampoco se encontró un efecto del sistema de alimentación con respecto a la actividad de esta enzima (Insani et al., 2008, Descalzo et al., 2007, Gatellier et al., 2004, Mercier et al., 2004, Renerre et al., 1996).

Con respecto a la maduración, tampoco se observó un efecto del tipo de sistema productivo, sobre la actividad de la catalasa, en ninguna de las dos formas de expresión de los resultados.

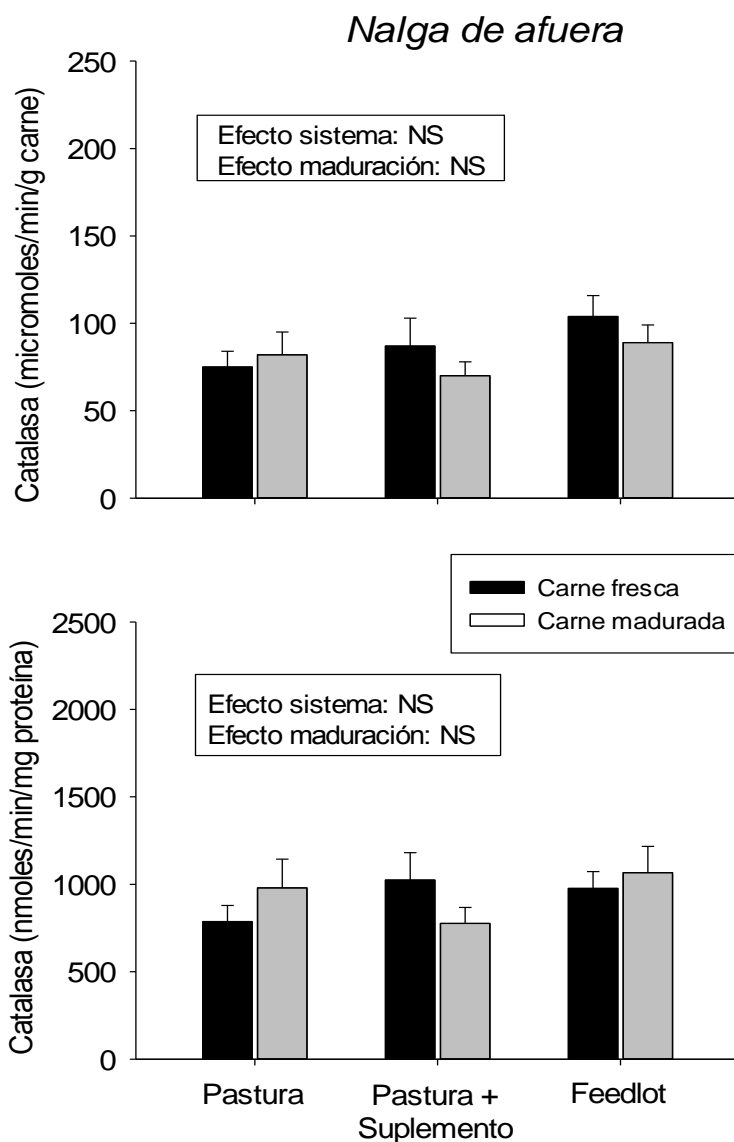


Fig. 11. Actividad de la enzima catalasa en el corte nalga de afuera fresco y madurado, de novillos Aberdeen Angus en los sistemas de alimentación a pastura, pastura más suplementación de grano y feedlot. NS: no significativo.

En cuanto a los resultados de la actividad de la enzima SOD, se obtuvieron los mismos efectos principales en ambas formas de expresión (UI/g de carne y UI). No se observó un efecto del sistema de alimentación sobre la actividad de la SOD (figura 12), lo que concuerda con el trabajo de Insani et al. (2008) en el músculo PM de novillos cruce de razas Británica e Indica. Pero hay dos trabajos, donde la actividad de la enzima SOD fue mayor en la carne de novillos alimentados a pasturas comparado con la de los alimentados a granos (Gatellier, et al., 2004, en el músculo

LD, y Descalzo et al., 2007, en el músculo PM). Estos investigadores hallaron una correlación positiva entre la actividad de esta enzima y el contenido de vitamina E en el músculo, lo que explicaría la mayor actividad de SOD hallada en la carne de pasturas, debido a que, en general, ésta posee una mayor cantidad de vitamina E proveniente de las pasturas, comparado con los granos. Pero en nuestro trabajo no hallamos diferencias significativas entre los sistemas de producción, tal vez por tratarse de otro músculo (*Biceps femoris*). En relación a esto, Renerre et al. (1996) hallaron una mayor actividad de SOD en músculos oxidativos y oxidativos-glicolíticos (*Diafragma* y *Psoas major*) y menor en los músculos glicolíticos *Tensor fasciae latae* y *Longissimus lumborum*, postulando que hay una protección natural que disminuye los efectos deletéreos de los radicales en estos músculos. Se produciría una respuesta adaptativa al stress oxidativo en los músculos oxidativos. También el contenido de minerales como Cu y Zn puede modular la actividad de la SOD en la carne (Gatellier et al., 2004).

Con respecto a la maduración, la carne madurada presentó una mayor actividad de SOD que la carne fresca ($p < 0,05$) en ambas formas de expresión de los resultados. Esto se puede observar en la carne de animales alimentados a pasturas, en ambas formas de expresión, y en la carne de pastura más suplemento, al expresar los resultados por g de carne (figura 12). Aun no hemos encontrado una explicación para este aumento de la actividad de SOD con la maduración. Relacionado a esto, en otro trabajo de nuestro grupo de investigación (Terevinto, 2010) encontramos una disminución en la actividad de esta enzima con la maduración, en la carne de novillos alimentados a pasturas, lo que se opone a los resultados hallados en el presente trabajo.

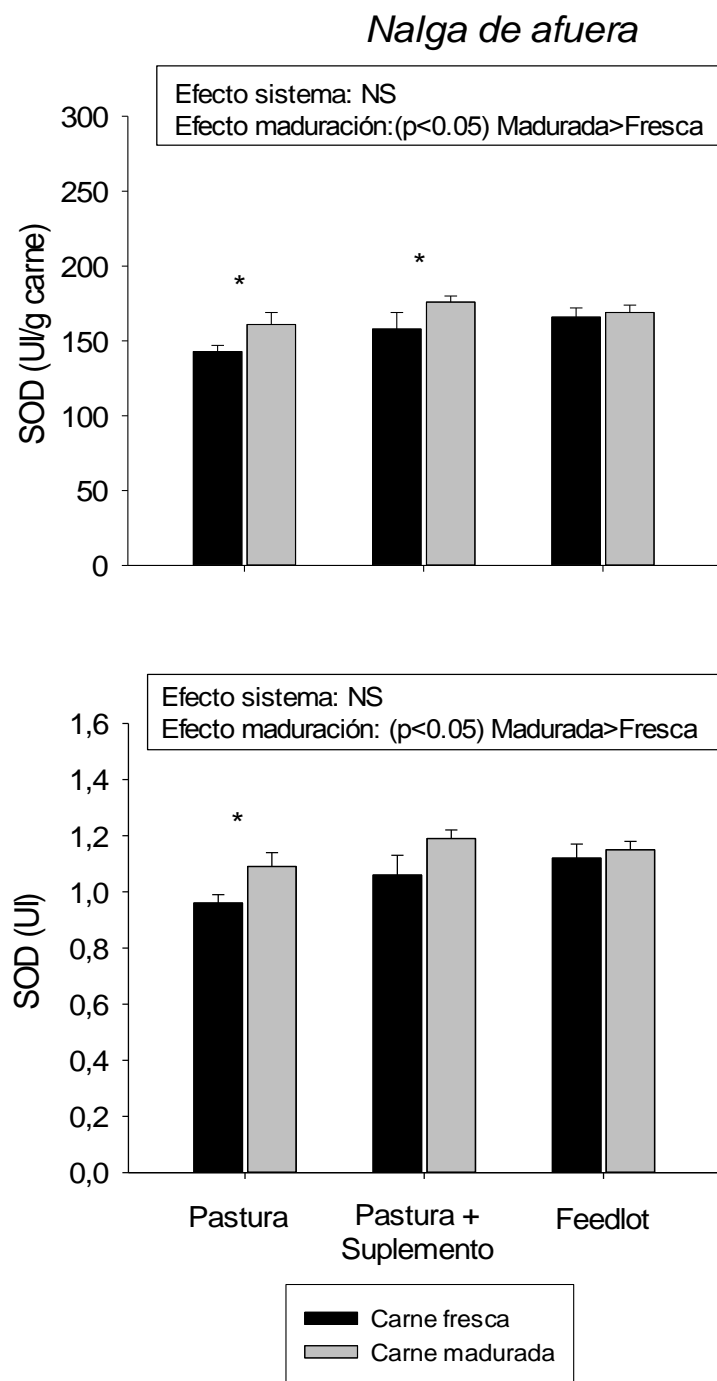


Fig. 12. Actividad de la enzima SOD en el corte nalga de afuera fresco y madurado, de novillos Aberdeen Angus en los sistemas de alimentación a pastura, pastura más suplementación de grano y feedlot. Los * indican diferencias significativas entre la carne fresca y madurada (p<0,05). NS: no significativo; UI: unidades de inhibición.

En el corte nalga de afuera se encontró un efecto del sistema de alimentación sobre la actividad de la enzima GPx ($p < 0,0001$, en ambas formas de expresión). Al expresar los resultados por g de carne, la carne del sistema pastura presentó una menor actividad de GPx que la carne de los otros dos sistemas, y al expresarlos por mg de proteína, la carne del sistema pastura presentó una menor actividad que la de pastura más suplemento y ésta que la de feedlot. La mayor actividad de la GPx encontrada en la carne de feedlot concuerda con otros trabajos (Insani et al., 2008, Descalzo et al., 2007, Gatellier et al., 2004, Mercier et al., 2004), donde en los primeros dos trabajos, que son europeos, concluyen que los granos son más ricos en selenio comparado con las pasturas, lo que explicaría una mayor actividad de la GPx. Pero en Sudamérica, las pasturas son más ricas en selenio (Cabrera et al., 2015) y en un trabajo de nuestro equipo de investigación, con estas mismas muestras de carne, se encontró un menor contenido de Se en la nalga de afuera fresca de novillos producidos en feedlot, comparado con la nalga de afuera de los otros dos sistemas (Saadoun y Cabrera, 2013). Por lo que, en este estudio no estaríamos hallando una asociación positiva entre la actividad de la GPx y el contenido de selenio en el corte nalga de afuera.

Cuando se comparan los tres sistemas entre ellos, en el caso de la carne fresca, se observa una mayor actividad de la GPx en el sistema pastura más suplemento, comparado con los otros dos sistemas (por g de carne), y en el sistema feedlot comparado con los otros dos sistemas (por mg de proteína). En la carne madurada, se observó una mayor actividad en la carne del sistema feedlot, comparado con los otros dos sistemas (por g de carne), y en la de los sistemas feedlot y pastura más suplemento comparado con la de pastura (por mg de proteína).

También se encontró un efecto de la maduración sobre la actividad de GPx, en el corte nalga de afuera, en ambas formas de expresión ($p < 0,01$ por g carne y $p < 0,001$ por mg de proteína). La carne madurada presentó una menor actividad de GPx que la carne fresca, por lo que se observa un descenso en su actividad con el proceso de maduración. En otro trabajo de nuestro grupo de investigación, no se encontró un efecto principal de la maduración sobre la actividad de la GPx, pero se pudo observar un descenso en algunos de los músculos estudiados, de novillos

Hereford y Braford alimentados a pasturas (Terevinto, 2010). Este descenso en la actividad de la enzima con la maduración, podría explicarse, como se postuló mas arriba con el corte bife angosto, por una pérdida de actividad debido a una degradación de proteínas que ocurre durante el proceso de maduración (Daun et al., 2001).

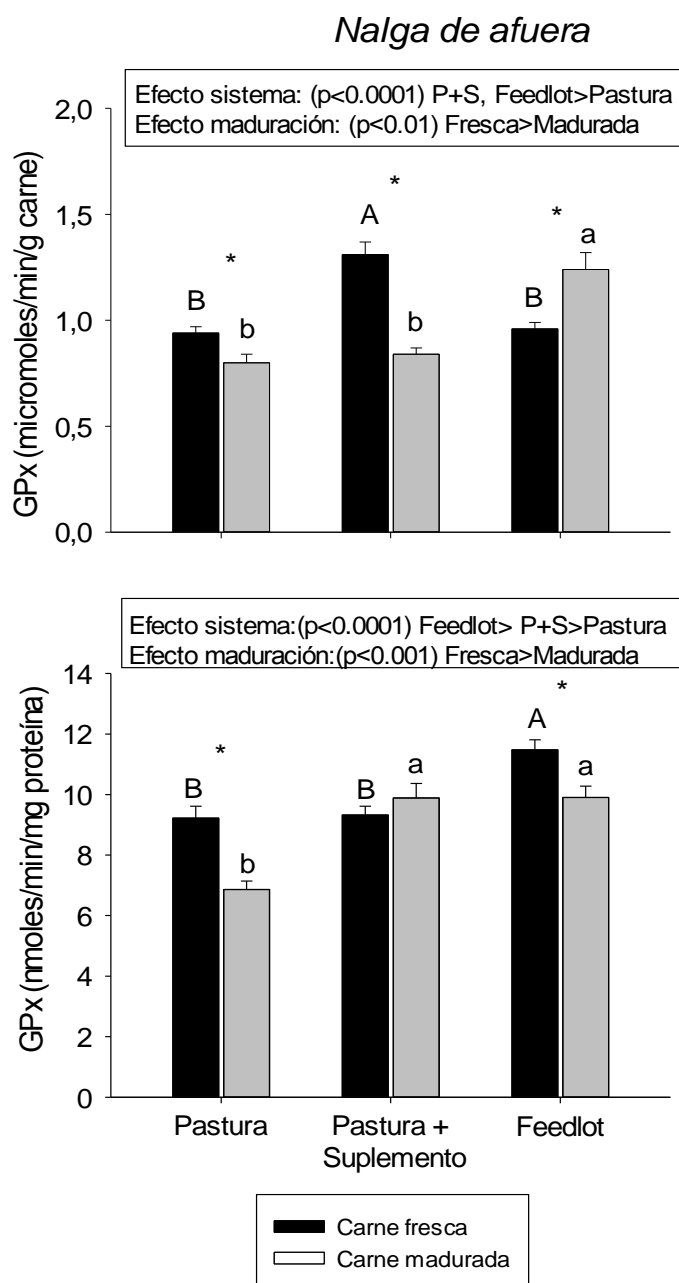


Fig. 13. Actividad de la enzima GPx en el corte nalga de afuera fresco y madurado, de novillos Aberdeen Angus en los sistemas de alimentación a pastura, pastura más suplementación de grano y feedlot. Letras distintas en mayúscula indican diferencias significativas entre sistemas en la carne fresca

($p < 0,05$). Letras distintas en minúscula indican diferencias significativas entre sistemas en la carne madurada ($p < 0,05$). Los * indican diferencias significativas entre la carne fresca y madurada ($p < 0,05$). P+S: pastura más suplementación.

2.6.3. Corte paleta

2.6.3.1. Contenido total de lípidos y composición en ácidos grasos

El contenido de lípidos en el corte paleta de novillos producidos en un sistema feedlot (cuadro 3) fue mayor (casi el doble) comparado con el de los sistemas a pasturas y pasturas más suplementación de granos ($p < 0,001$). En otros trabajos, en carne bovina (Descalzo et al., 2005) y en cordero (Popova, 2007) también se encontró un mayor contenido de lípidos en la carne del sistema de producción a granos comparado con el de pasturas.

En relación a los ácidos grasos hallados en la paleta, no se observaron diferencias significativas en el contenido de los ácidos grasos saturados C12:0, C14:0, C16:0 y C18:0, y en el contenido de los ácidos grasos oleico (C18:1 n-9), linoleico (C18:2 n-6), CLA, ARA, EPA y DHA. Se observó un menor contenido de ácido linolénico (C18:3 n-3) en la carne del sistema feedlot (más de tres veces menos) comparado con la carne de los sistemas a pastura y pastura más suplemento. Esto, le estaría brindando a estos últimos tipos de carne mencionadas, cierta ventaja desde el punto de vista de la salud del consumidor, ya que este ácido graso posee un efecto antitrombogénico. No se observaron diferencias significativas entre sistemas de producción, en el contenido total de SAT, MUFA, PUFA, n-6, n-3, en la relación PUFA/SAT y en los índices aterogénico y trombogénico. La paleta del sistema feedlot presentó una mayor relación n-6/n-3 comparado con la de los otros dos sistemas, lo cual es un aspecto negativo para esta carne, en cuanto a la salud del consumidor, y que seguramente se haya producido por la menor proporción de ácido linolénico (n-3) hallado en esta carne. La mayor relación n-6/n-3 observada en la carne del sistema feedlot, también fue encontrada por Purchas et al. (2005), en este mismo músculo (*Triceps brachii*) de vaquillonas cruce con Angus. En base a los resultados obtenidos, podemos decir que el sistema de producción de los animales, no afectó en gran medida la composición en ácidos grasos del corte paleta, salvo en

el caso del ácido α -linolénico. Un ácido graso con características favorables a la salud humana (Simopoulos, 2002).

Cuadro 3. Contenido de lípidos (%) y composición en ácidos grasos del corte paleta (músculo *Triceps brachii*).

	Pastura	Pastura + Suplemento	Feedlot	P
% Lípidos	3,25±0,29b	4,13±0,58b	7,29±1,28a	0,001
C12:0	0,09±0,05	0,12±0,05	0,12±0,05	NS
C14:0	2,74±1,03	3,15±0,92	3,81±0,93	NS
C15:0i	0,26±0,09	0,36±0,08	0,21±0,04	NS
C15:0ai	0,29±0,09	0,38±0,09	0,21±0,04	NS
C14:1	0,53±0,20	0,65±0,19	0,95±0,24	NS
C15:0	0,68±0,23	0,93±0,21	0,64±0,11	NS
C16:0i	0,23±0,03	0,26±0,05	0,20±0,02	NS
C16:0	25,05±3,64	25,85±2,91	29,60±2,32	NS
C16:1	4,24±1,04	4,65±0,53	5,20±0,44	NS
C17:0	1,18±0,18	1,42±0,02	1,15±0,03	NS
C17:1	1,06±0,06a	1,21±0,03a	0,86±0,07b	0,001
C18:0	15,23±1,99	14,73±1,55	11,89±1,17	NS
C18:1	40,07±3,22	39,27±2,74	39,85±2,67	NS
C18:2n6	3,28±0,63	2,39±0,18	2,15±0,14	NS
C20:0	0,11±0,08	0,07±0,02	0,05±0,02	NS
C18:3n6	0,03±0,02	0,02±0,01	0,07±0,11	NS
C20:1	0,17±0,11	0,15±0,05	0,18±0,05	NS
C18:3n3	0,71±0,14a	0,62±0,05a	0,21±0,02b	0,001
CLA	0,59±0,13	0,60±0,06	0,35±0,04	NS
C20:4n6 ARA	0,50±0,18	0,39±0,17	0,28±0,09	NS
C20:5n3 EPA	0,07±0,04	0,07±0,02	0,01±0,01	NS
C22:5n3 DPA	0,03±0,02	0,02±0,02	0,05±0,02	NS
C22:6n3 DHA	0,26±0,16	0,22±0,12	0,10±0,04	NS
Otros AG	2,61±0,16	2,48±0,14	1,85±0,37
SAT	45,86±3,25	47,26±2,76	47,87±2,30	NS
MUFA	46,06±2,09	45,93±2,07	47,05±2,10	NS
PUFA	5,47±1,32	4,32±0,63	3,23±0,44	NS
Σ n-6	3,81±0,83	2,80±0,36	2,51±0,32	NS
Σ n-3	1,07±0,36	0,93±0,21	0,37±0,09	NS
n6/n3	3,67±0,46b	3,06±0,31b	6,88±0,88a	0,001
PUFA/SAT	0,12±0,04	0,09±0,02	0,07±0,01	NS
Índice aterogénico	0,71±0,20	0,77±0,17	0,90±0,17	NS
Índice trombogénico	0,99±0,25	1,06±0,21	1,29±0,20	NS

Los resultados son medias \pm SEM (n=10). Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas entre sistemas ($p < 0,05$). P: significancia estadística; AG: ácidos grasos; NS: no significativo; ai: anteiso; i: iso.

2.6.3.2. Oxidación de lípidos

Al observar los resultados de la oxidación lipídica en el corte paleta (figura 14), vemos que no se obtuvo un efecto del sistema de producción, lo que es respaldado por el hecho de no haber encontrado diferencias significativas entre sistemas, en el contenido de PUFA, que son susceptibles de sufrir oxidación. En otro trabajo (Pouzo et al., 2016) tampoco se observó un efecto del sistema de producción en el músculo LD de novillos Aberdeen Angus. En otros dos trabajos (Descalzo et al., 2005; Gatellier et al., 2005), los músculos PM y LD de novillos, respectivamente, presentaron una mayor oxidación lipídica en los provenientes del sistema feedlot, comparado con los del sistema pasturas.

Además se puede ver (figura 14) que la carne fresca del sistema pastura más suplemento presentó una mayor oxidación lipídica comparado con la del sistema feedlot, y la de pastura no fue distinta significativamente. En la carne madurada no se obtuvieron diferencias entre los sistemas.

Con respecto al proceso de maduración, no se vio efecto sobre los niveles de TBARS en el corte paleta, y tampoco se obtuvieron diferencias entre la carne fresca y madurada dentro de cada sistema de producción. Por lo que en este corte, la maduración no provocó un aumento en la oxidación lipídica.

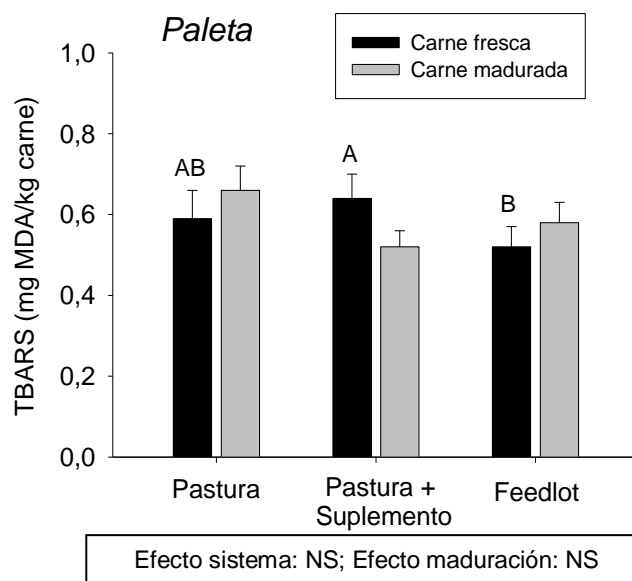


Fig. 14. Oxidación lipídica en el corte paleta fresco y madurado, de novillos Aberdeen Angus en los sistemas de alimentación a pastura, pastura más suplementación de grano y feedlot. Letras distintas indican diferencias significativas entre sistemas en la carne fresca ($p < 0,05$). NS: no significativo.

2.6.3.3. Oxidación de proteínas

El corte paleta presentó un efecto del sistema de producción ($p < 0,05$), donde la carne del sistema pastura más suplemento presentó una mayor oxidación proteica que la carne de pastura, y la de feedlot no fue significativamente distinta a ninguna de los otros dos sistemas estudiados (figura 15). Como ya habíamos mencionado previamente, no hay suficientes estudios relacionados a la oxidación proteica y al efecto de los sistemas de producción en la carne bovina, por lo que comparamos únicamente con el trabajo de Mercier et al. (2004), donde se estudió el músculo LD de vacas Charolais y no se encontró un efecto del sistema de producción (pastura vs feedlot).

Tanto en la carne fresca como en la carne madurada no se pudieron observar diferencias entre los sistemas de producción en el contenido de carbonilos proteicos (figura 15).

También se observó un efecto de la maduración ($p < 0,05$), donde la carne madurada presentó una mayor oxidación proteica que la carne fresca. Esto es de

esperarse, ya que durante el proceso de maduración ocurren numerosos cambios en las proteínas del músculo, como la agregación, desnaturalización y disminución de la solubilidad proteica, que favorecen su oxidación (Estévez, 2011). A pesar de esto, no observamos un efecto principal de la maduración en otro trabajo de nuestro grupo de investigación (Terevinto, 2010), realizado en otros cortes de las razas Hereford y Braford.

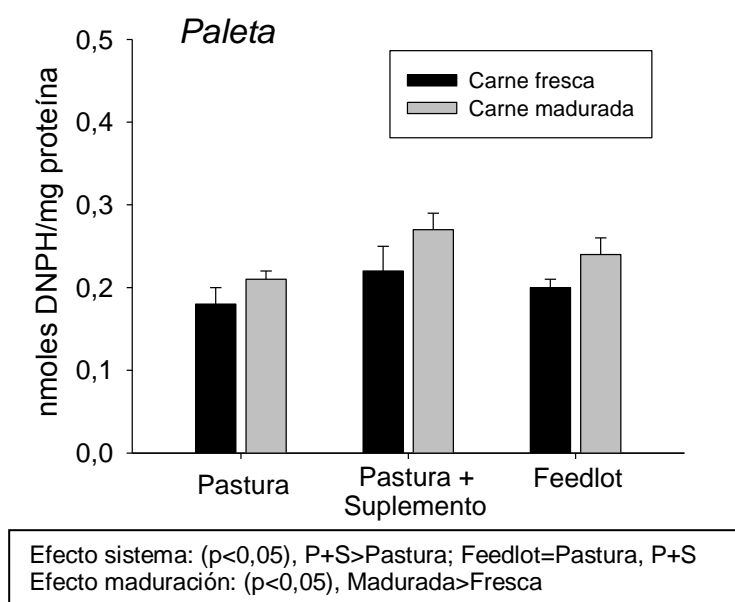


Fig. 15. Oxidación proteica en el corte paleta fresco y madurado, de novillos Aberdeen Angus en los sistemas de alimentación a pastura, pastura más suplementación de grano y feedlot. P+S: pastura más suplementación.

2.6.3.4. Actividad de enzimas antioxidantes

En relación a los resultados de la actividad de la enzima catalasa en el corte paleta (figura 16), se pudo observar un efecto del sistema de producción ($p<0,05$), al expresar los resultados por g de carne, donde la carne de pastura presentó una mayor actividad comparado con la carne de pastura más suplemento, y la de feedlot no fue distinta significativamente. Al expresar los resultados por mg de proteína, no se vio efecto del sistema de producción. Esto hace difícil concluir acerca del efecto del sistema de producción sobre la actividad de la catalasa. En algunos trabajos de otros investigadores, no se encontró diferencia entre los sistemas a pastura y feedlot, en los

músculos LD (Gatellier et al., 2004) y PM (Insani et al., 2008, Descalzo et al., 2007) de bovinos (resultados expresados por mg de proteína).

También se obtuvo un efecto de la maduración ($p < 0,05$ por g carne y $p < 0,01$ por mg de proteína) (figura 16), donde la carne madurada presentó una mayor actividad que la carne fresca. Este aumento en la actividad de catalasa con la maduración también fue observado en otro estudio, en la carne de novillos alimentados a pasturas de las razas Hereford y Braford (Terevinto, 2010), y para lo cual no tenemos una explicación posible aun.

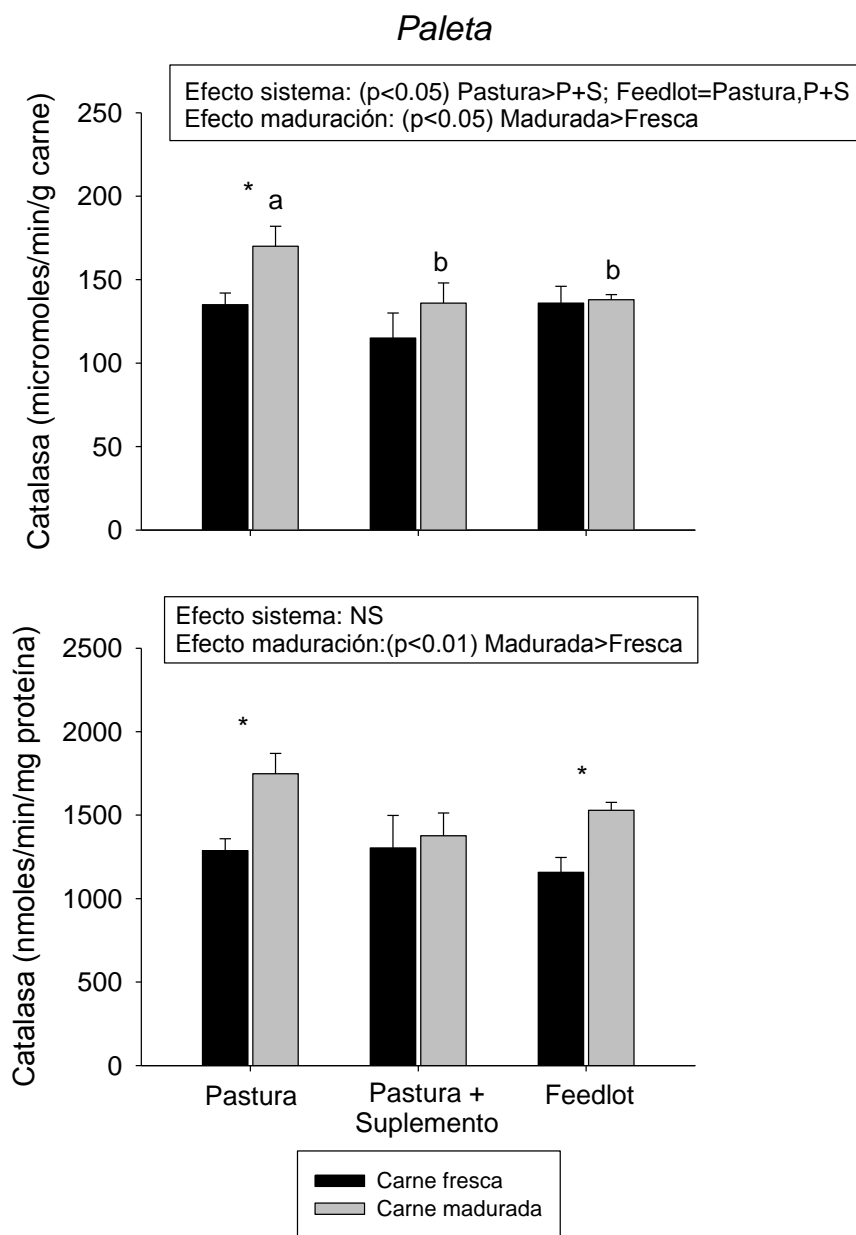


Fig. 16. Actividad de la enzima catalasa (micromoles/min/g carne y nmoles/min/mg proteína) en el corte paleta fresco y madurado, de novillos Aberdeen Angus en los sistemas de alimentación a pastura, pastura más suplementación de grano y feedlot. Letras distintas en minúscula indican diferencias significativas entre sistemas en la carne madurada ($p < 0,05$). Los * indican diferencias significativas entre la carne fresca y madurada ($p < 0,05$). P+S: pastura más suplementación; NS: no significativo.

En relación a los resultados de la actividad de la enzima SOD en el corte paleta (figura 17), se observaron los mismos efectos principales en ambas formas de expresión (UI/g carne y UI). Se obtuvo un efecto del sistema de producción ($p < 0,05$) donde la carne del sistema pastura presentó una mayor actividad de SOD que la carne del sistema feedlot, y la del sistema pastura más suplemento no fue distinta significativamente. Esto concuerda con los trabajos de Gatellier et al. (2004) en el músculo LD de novillos Charolais, de Mercier et al. (2004) en el mismo músculo pero de vacas Charolais y de Descalzo et al. (2007) en el músculo PM de novillos cruza, donde también se observó una mayor actividad de esta enzima en la carne de bovinos alimentados a pasturas comparado con la producida en feedlot.

Sin embargo cuando se comparan los tres sistemas entre ellos, por un lado en la carne fresca, no se obtuvieron diferencias entre los sistemas de producción (en UI/g carne y en UI), pero en la carne madurada, la actividad de SOD fue mayor en la del sistema pastura comparado con la del feedlot, y la de pastura más suplemento no fue distinta significativamente (en UI/g carne y en UI).

La actividad de la enzima SOD puede ser modulada por la presencia de ciertos minerales en la dieta como Cu y Zn (en la SOD citoplásmica) y Mn (en la SOD mitocondrial) que los utiliza como cofactores. En un trabajo de nuestro grupo de investigación donde se trabajó con estos mismos cortes, se encontró un mayor contenido de Zn, en la carne de novillos Aberdeen Angus alimentados con pasturas y con pasturas más suplemento, comparado con la de feedlot (Cabrera et al., 2013), lo que respalda nuestro resultado de una mayor actividad de la SOD en la carne producida en el sistema pasturas. A su vez, un mayor contenido de vitamina E en la carne puede aumentar la actividad antioxidante de esta enzima, como se observó en el trabajo de Gatellier et al. (2004), y según la bibliografía (Daly et al., 1999, Wood y Enser, 1997, Yang et al., 1992), las pasturas contienen un mayor contenido de vitamina E que los granos, por lo que estaría también explicando la mayor actividad de SOD en la carne producida a pasturas.

También se obtuvo un efecto de la maduración ($p < 0,05$) donde la carne madurada presentó una mayor actividad que la carne fresca. Las enzimas antioxidantes son relativamente estables en la carne durante el almacenamiento

refrigerado, por lo que pueden ofrecer cierta protección contra los radicales libres durante un tiempo *postmortem* (Descalzo et al., 2000; Renerre et al., 1996), pero en general, la actividad de las enzimas antioxidantes disminuye durante la maduración, debido a que ocurre una degradación de proteínas durante este proceso (Daun et al., 2001). Al parecer, hay una asociación entre las enzimas catalasa y SOD en la paleta porque ambas aumentan su actividad con el proceso de maduración de la carne. En relación a esto, en algunas investigaciones se concluye que las enzimas SOD y catalasa están acopladas, debido al hecho de que la SOD barre el anión superóxido mediante la formación de peróxido de hidrógeno, y la catalasa descompone el peróxido de hidrógeno a H_2O y O_2^- (Descalzo y Sancho, 2008).

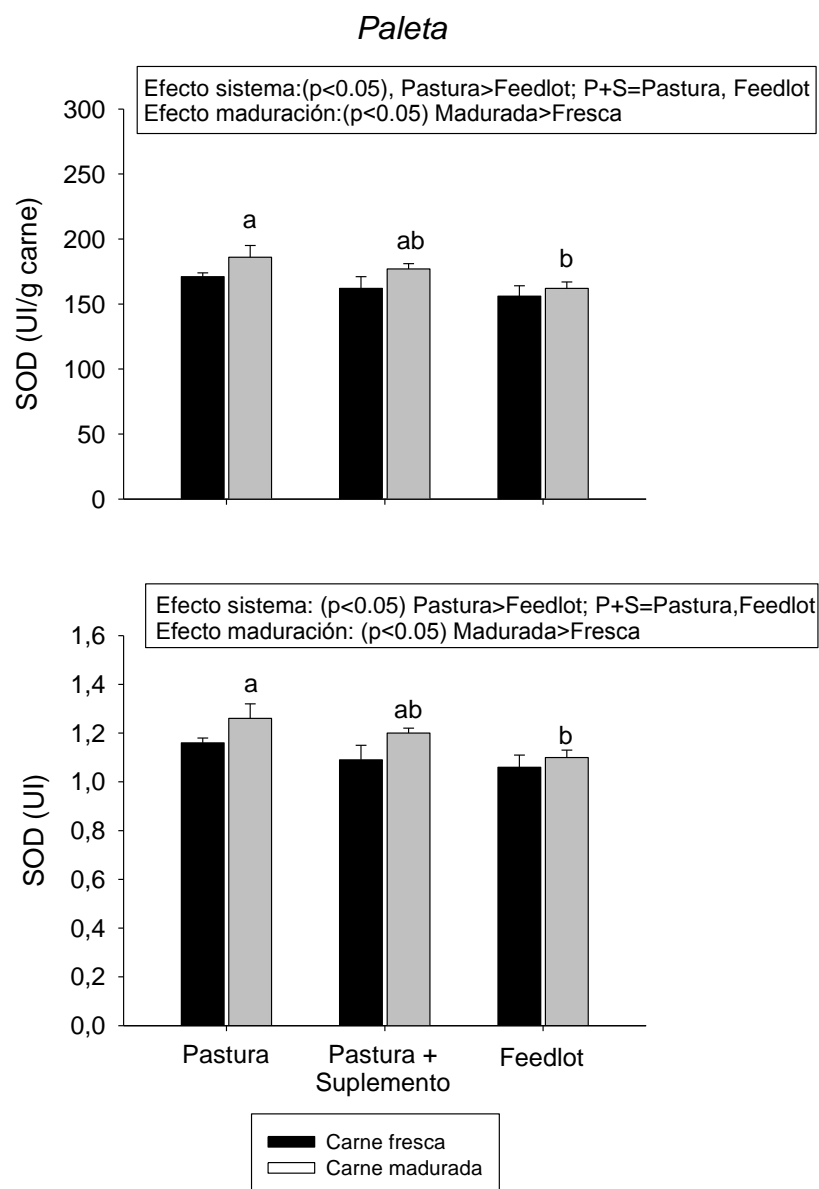


Fig. 17. Actividad de la enzima SOD en el corte paleta fresco y madurado, de novillos Aberdeen Angus en los sistemas de alimentación a pastura, pastura más suplementación de grano y feedlot. Letras distintas en minúscula indican diferencias significativas entre sistemas en la carne madurada (p<0,05). P+S: pastura más suplementación; UI: unidades de inhibición.

En ambas formas de expresión (micromoles/minuto/g de carne y nanomoles/minuto/mg de proteína) de la actividad de GPx, se observó un efecto del sistema de producción en el corte paleta (p<0,0001 por g carne, y p<0,001 por mg de proteína). La carne de los sistemas feedlot y pastura más suplemento presentó una

mayor actividad de GPx que la carne del sistema pastura (por g de carne), y la carne del sistema feedlot presentó una mayor actividad comparado con la carne de los otros dos sistemas (por mg de proteína) (figura 18). Esto concuerda con resultados de bovinos producidos en Europa (Gatellier et al., 2004, Mercier et al., 2004) para los cuales es aplicable la explicación de que la mayor actividad de GPx se encuentra en la carne producida en un sistema feedlot, debido a un mayor contenido de Se hallado en los granos, en comparación con las pasturas. Como se ha mencionado anteriormente, la principal forma de la GPx es una proteína selenio dependiente, por lo que se ha propuesto que el Se en la dieta es la mayor fuente de variación de la actividad de la GPx (Lei et al., 1998, Walsh et al., 1993). Pero esta explicación no es aplicable para Uruguay, donde los suelos son ricos en Se (Cabrera et al., 2015) y como consecuencia sus pasturas también. Según Hintze et al. (2001) el contenido de Se en los músculos de bovinos alimentados a pasturas se correlacionaba significativamente con el nivel de Se presente en el pasto, y que la mayor fuente de variación en el contenido de Se en el músculo era la región geográfica donde se criaron y alimentaron los animales.

En los resultados de la carne fresca, expresados por g de carne (figura 18), se puede observar que la del sistema feedlot y pastura más suplemento presentó una mayor actividad de la enzima GPx comparado con la del sistema pastura. En los resultados expresados por mg de proteína, la carne del sistema feedlot presentó una mayor actividad comparado con la carne de los sistemas pastura y pastura más suplemento (figura 18). En la carne madurada, la del sistema feedlot presentó una mayor actividad que la de pastura, y la de pastura más suplemento no fue distinta significativamente (en g de carne y mg de proteína).

Al expresar los resultados por g de carne, no se observó un efecto de la maduración, pero si por mg de proteína ($p < 0,01$), donde la carne madurada presentó una menor actividad que la carne fresca, por lo que se observa un descenso en la actividad de la enzima GPx con la maduración. Esto mismo puede observarse en el corte paleta de novillos producidos en los sistemas pastura y feedlot, al expresar los resultados por mg de proteína (fig. 18). Este descenso en su actividad, puede deberse a un aumento de la oxidación de proteínas, que se produjo en este corte durante la

maduración. Las proteínas, incluidas las enzimas, son dañadas por la acción de los radicales libres causando la pérdida de sus funciones (Descalzo et al., 2008).

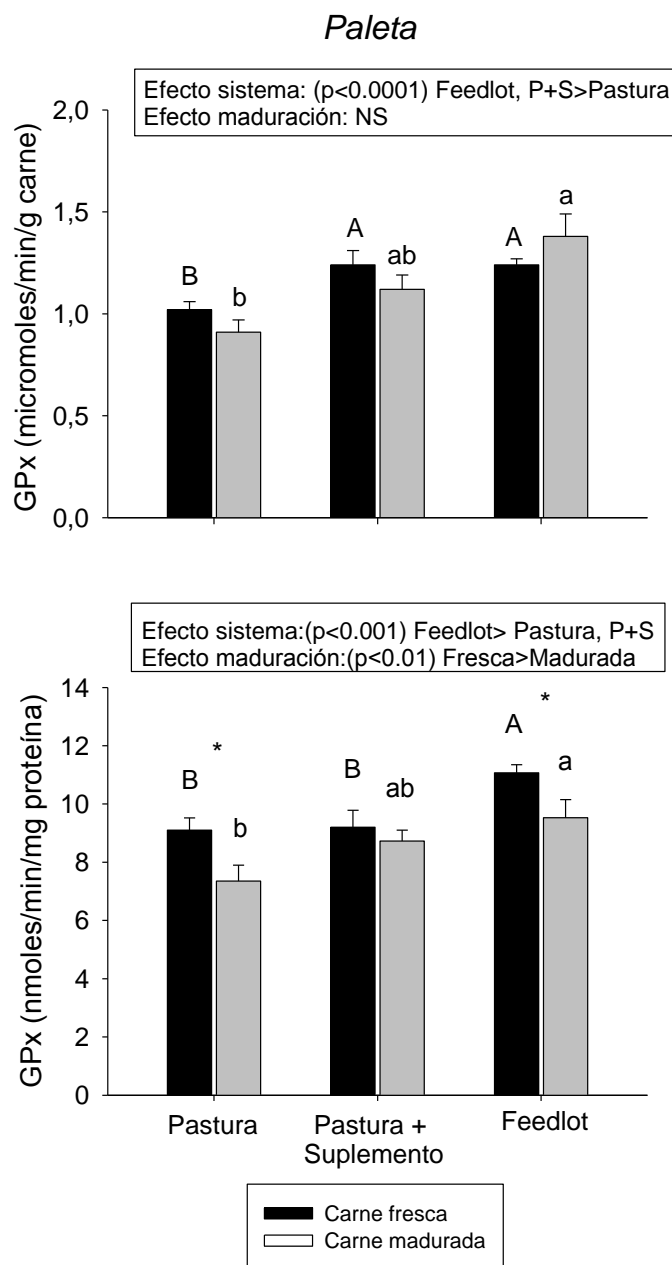


Fig. 18. Actividad de la enzima GPx (micromoles/min/g carne y nmoles/min/mg proteína) en el corte paleta fresco y madurado, de novillos Aberdeen Angus en los sistemas de alimentación a pastura, pastura más suplementación de grano y feedlot. Letras distintas en mayúscula indican diferencias significativas entre sistemas en la carne fresca (p<0,05). Letras distintas en minúscula indican diferencias significativas entre sistemas en la carne madurada (p<0,05). Los * indican diferencias significativas entre la carne fresca y madurada (p<0,05). NS: no significativo; P+S: pastura más suplementación.

2.7. DISCUSIÓN GENERAL

Si tomamos en cuenta el aspecto valor salud de la carne, en relación con su perfil lipídico, la carne del sistema feedlot presentó un mayor porcentaje de lípidos comparado con la carne de los otros dos sistemas, en los tres cortes estudiados (bife angosto, nalga de afuera y paleta). Este es un resultado que esperábamos y que se ha visto en otros trabajos en carne bovina (Descalzo et al., 2005, Realini et al., 2004), ya que, un sistema de alimentación a base de granos permite una mayor acumulación de grasa intramuscular comparado con una alimentación a base de pasturas (Daley et al., 2010). Además, la carne del sistema feedlot presentó valores mayores a 5 en la relación n-6/n-3, que son considerados altos, y una mayor relación n-6/n-3 comparado con los otros dos sistemas. Esto último, se debió a una menor cantidad de n-3 hallado en la carne de feedlot, lo que es un aspecto negativo para este tipo de carne, por promover el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. El contenido alto de n-3 es característico de la carne de animales producidos en sistemas pastoriles. A pesar de estas diferencias en el contenido de n-3 entre sistemas, no se encontraron casi diferencias en los índices aterogénico y trombogénico, salvo un mayor índice trombogénico en el bife angosto de animales en feedlot. Por lo que se deduce que la carne de novillos Aberdeen Angus producidos en feedlot presentaría globalmente ciertas desventajas comparado con la carne producida en un sistema pastoril, desde el punto de vista de la salud del consumidor.

Cuando comparamos la estabilidad oxidativa de los tres cortes evaluados en estado fresco, el bife angosto, que contiene al músculo *Longissimus dorsi*, fue el corte que presentó una menor oxidación lipídica, lo cual también se obtuvo en otro trabajo de nuestro laboratorio (Terevinto, 2010) al compararlo con los músculos *Psoas major* y *Gluteus medius* de novillos Hereford y Braford alimentados a pasturas. Posiblemente esto se deba al menor contenido de PUFA y a una mayor actividad de la enzima GPx en el corte bife angosto. La nalga de afuera fue uno de los cortes, junto con la paleta, que presentó mayores niveles de oxidación lipídica, lo que puede deberse a un mayor contenido de PUFA (el doble), y una menor actividad de catalasa y de GPx, encontrada en estos cortes. Sin embargo, el bife angosto presentó una mayor oxidación proteica comparado con la nalga de afuera y la paleta.

A raíz de los resultados de la oxidación lipídica y proteica, podemos concluir que el sistema de pastura más suplemento de granos, estaría generando una carne con mayores niveles de oxidación. Esto podría explicarse, en parte, por una menor actividad de las enzimas antioxidantes catalasa y SOD hallada en la carne proveniente de este sistema. También se puede concluir que la carne proveniente de los sistemas pastoriles tiene mayor resistencia a los procesos oxidativos, al menos es lo que se puede concluir después del estudio de oxidación inducida por hierro en el bife angosto.

Otro aspecto que evaluamos en esta primera parte de la tesis, es qué sucede con los niveles de oxidación, tanto lipídica como proteica, y con las actividades de las enzimas antioxidantes, durante el proceso de maduración de la carne a 1-2 °C y envasada al vacío. Con este proceso, se produjo un aumento de la oxidación lipídica y proteica, lo que puede explicarse en parte, por un descenso en la actividad de la enzima antioxidante GPx, o por un descenso en la actividad de otros componentes antioxidantes, no medidos en este estudio (Descalzo et al., 2008). Esto provocaría una disminución, durante la maduración, de la protección de la carne frente a los procesos oxidativos. De cualquier manera, los niveles de oxidación observados, están muy por debajo del umbral que se considera como límite de aceptación de una carne, por parte de los consumidores (Campo et al., 2006).

En cuanto a la actividad de las otras dos enzimas antioxidantes (catalasa y SOD), se hallaron respuestas diferentes según el corte.

3. EFEECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON SELENIO, EN LA DIETA DE NOVILLOS ABERDEEN ANGUS PRODUCIDOS EN FEEDLOT, SOBRE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE EN EL TIEMPO

3.1. INTRODUCCIÓN

Algunos trabajos publicados, proponen que la carne bovina producida bajo un sistema feedlot es más susceptible de sufrir oxidación, principalmente lipídica, que la carne producida en un sistema pastoril (Insani et al., 2008, Gatellier et al., 2005, Nuernberg et al., 2005, Mercier et al., 2004, Descalzo et al., 2005). Sin embargo, en el capítulo 2 de esta tesis, no hemos confirmado esta mayor susceptibilidad a la oxidación lipídica de la carne proveniente de un sistema feedlot. De cualquier manera, se decidió averiguar si se podían reforzar las defensas contra la oxidación de la carne proveniente de un sistema feedlot. Para ello, se eligió el agregado de selenio en la dieta de los animales, porque podría ser capaz de disminuir la oxidación en la carne, ya que el selenio cumple una función antioxidante al ser cofactor de la enzima GPx. A pesar de que el selenio no forma parte de la catalasa ni de la SOD, la habilidad para sintetizar varias enzimas antioxidantes disminuye en condiciones de deficiencia de Se en los animales (Zhang et al., 2011). El selenio (Se) es un nutriente esencial para humanos y animales, y a la vez es tóxico cuando está en exceso en los alimentos (Cattaneo et al., 2008). El contenido de selenio en los alimentos está influenciado por la localización geográfica, cambios estacionales, el contenido de proteínas y el procesado de los alimentos (Navarro-Alarcón y Cabrera-Vique, 2008, Hintze et al., 2001).

El Se es estudiado por sus propiedades antioxidantes y su habilidad de prevenir enfermedades, mediante la barrida de radicales libres y la descomposición enzimática de metabolitos del oxígeno (Battin y Brumaghim, 2009). Tiene efectos demostrados de disminuir la incidencia del cáncer de próstata, colorrectal y de pulmón, y tiene efectos protectores en modelos animales para enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (Battin y Brumaghim, 2009). La suplementación con selenio en la dieta del ganado y de las aves es una práctica común (Cattaneo et al., 2008), como consecuencia, los animales suplementados

producen alimentos, como leche, carne y huevos, con mayores concentraciones de selenio. Los suplementos están en dos formas: sales minerales inorgánicas, como selenito de sodio o selenito, y formas orgánicas como Se enriquecido de levadura donde predomina la selenometionina (Juniper et al., 2009). Por lo general, las fuentes orgánicas son más biodisponibles que las fuentes inorgánicas (Cattaneo et al., 2008). En las regiones donde las concentraciones de Se en el suelo son bajas, la adición de Se a la alimentación de los animales es necesaria (Liao et al., 2011). Aunque se sabe que el Se en el pasto y en las plantaciones está principalmente en formas orgánicas (L-selenometionina, L-selenocisteína, L-selenocistatoína), la alimentación con Se orgánico produce niveles más elevados de Se en sangre y tejidos que las sales inorgánicas, y el metabolismo de ambas es diferente (Liao et al., 2011). La distribución y acumulación de Se y especies de Se en tejidos animales depende de la fuente de suplemento (Juniper et al., 2009). La principal forma química del Se en los tejidos animales es la de selenocisteína, incorporada en selenoproteínas/selenoenzimas, al contrario de las plantas donde predomina la selenometionina (Cattaneo et al., 2008). Se ha visto en varios trabajos que la suplementación con Se aumenta los valores de Se en sangre y en algunos tejidos y también influye sobre la actividad de la GPx y sobre la estabilidad oxidativa de la carne (De Vore y Greene, 1982; Juniper et al., 2009; Liu et al., 2011). En algunos trabajos se ha encontrado que el agregado de Se mejora la estabilidad oxidativa de la carne (Skrivan et al., 2012, Juniper et al., 2009), por lo que, como se ha dicho anteriormente, en esta parte de la investigación se planificó determinar si el agregado de selenio podría contrarrestar la oxidación de la carne producida bajo el sistema feedlot. Además, la carne se va a someter a diferentes tiempos de maduración, hasta un máximo de 60 días (a 1-2 °C con envasado al vacío). Un mayor tiempo de maduración puede causar un aumento en los niveles de oxidación lipídica en la carne (Descalzo et al., 2008, Braghieri et al., 2005, Cifuni et al., 2004). Este proceso de maduración más largo en el tiempo es de interés para la industria y consiste en ver como una maduración de hasta 60 días podría afectar la conservación, desde el punto de vista de la oxidación, de las carnes producidas en sistemas feedlot.

3.2. OBJETIVO GENERAL

Determinar si la suplementación con selenio en la dieta de novillos Aberdeen Angus, producidos en un sistema feedlot, puede aumentar la estabilidad oxidativa de la carne, inclusive cuando se madura por un tiempo de hasta dos meses después de la faena.

3.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar los niveles de oxidación lipídica y proteica de la carne producida en un sistema feedlot, con y sin el agregado de selenio orgánico en la dieta.
- Determinar si el selenio agregado puede mantener baja dicha oxidación lipídica y proteica en la carne, aun con tiempos de maduración de hasta dos meses.
- Medir la actividad de las enzimas antioxidantes catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa, en la carne producida en un sistema feedlot, con y sin el agregado de selenio orgánico en la dieta, y cuantificar sus actividades durante todo el período de maduración.

3.4. HIPÓTESIS

La suplementación con selenio induciría una mayor estabilidad oxidativa, de la carne producida en un sistema de producción de tipo feedlot, tal vez debido a un aumento en la actividad de la GPx, una enzima antioxidante dependiente del selenio.

3.5. MATERIALES Y MÉTODOS

3.5.1. Cortes y animales

Se utilizaron dos cortes de carne bovina de alto valor comercial, pertenecientes al cuarto trasero del animal: el bife angosto (músculo principal *Longissimus dorsi*) y el lomo (músculo principal *Psoas major*) (figura 19). Estos cortes provinieron de 40 novillos de la raza Aberdeen Angus, de 24-26 meses de edad, terminados durante 90 días en un sistema feedlot. Los animales se dividieron en 2 grupos (control y

experimental) de 20 animales cada uno, que recibieron una dieta de concentrado a base de sorgo silo planta entera, sorgo grano húmedo, afrechillo de trigo, y núcleo compuesto por afrechillo de trigo, urea, sales de calcio y fósforo, y monensina. El grupo experimental recibió un suplemento de Se-metionina suministrada como extracto de levaduras enriquecidas con selenio (Sel-Plex, 0,0015 kg/día/novillo), que fue mezclado con el núcleo mineral y vitamínico, y que habitualmente es utilizado en la producción de carne por el sistema feedlot (Cuadro 4). Sel-Plex es el nombre comercial de un producto registrado por la empresa Alltech. Luego de 90 días, los animales fueron seleccionados por peso y se faenaron en el Frigorífico Solís (Departamento de Lavalleja, Uruguay), donde se extrajeron los cortes lomo y bife angosto, que se mantuvieron a 1-2 °C hasta llegar a nuestro laboratorio. Cada corte se dividió en 5 trozos donde uno se congeló en fresco a -20 °C y los otros se envasaron al vacío y maduraron a 1-2 °C durante 14, 21, 28 y 60 días, para luego ser congelados a -20 °C hasta realizar las determinaciones en el laboratorio.

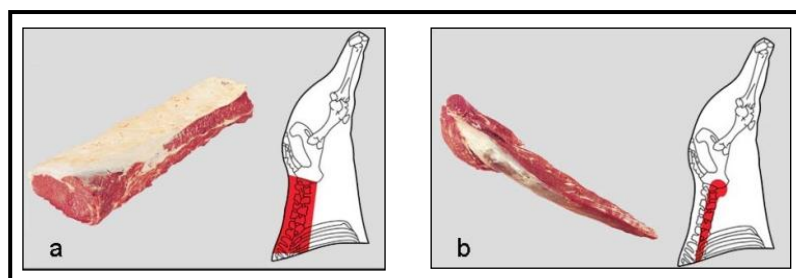


Fig 19. Cortes utilizados y su ubicación anatómica (a) Bife angosto, ubicado en la región dorso lumbar; (b) Lomo, ubicado en la región sublumbar. Extraído de Manual de Carnes Bovina y Ovina (INAC, 2004).

Cuadro 4. Composición de la dieta suministrada a los novillos del grupo control (sin Se agregado) y del grupo experimental (con Se agregado) durante los días de encierro. Se detallan los kilogramos de cada ingrediente (húmedo), suministrados por día para cada novillo.

	Grupo Control	Grupo Experimental
Ingredientes	kg/día/novillo	kg/día/novillo
Sorgo silo planta entera	16	16
Sorgo grano húmedo	5	5
Afrechillo de trigo	1,5	1,5
	Composicion del Núcleo g/kg	
Afrechillo de trigo		484
Carbonato de calcio		193
Urea		181
NaCl y fosfato bicalcico		97
RUMENSIN		3,5
Vitaminas y minerales (Zoodry)		6
	Consumo kg/día/novillo	
SelPlex (Se-levadura)	0	0,0015
Contenido total de Se en la dieta mg/kg materia seca	Medido por espectofotometria de absorción atómica 0,10	0,30

3.5.2. Oxidación de lípidos y proteínas

Se compararon los niveles de oxidación lipídica y oxidación proteica hallados en los cortes bife angosto y lomo, frescos y madurados, de novillos suplementados y no suplementados con selenio en la dieta. Los métodos utilizados para medir la oxidación lipídica y proteica fueron descritos en el capítulo 2.

3.5.3. Actividad de enzimas antioxidantes

Se midieron las actividades de las enzimas antioxidantes catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa, en los cortes bife angosto y lomo, frescos y madurados, de novillos suplementados y no suplementados con selenio en la dieta, según metodologías descritas en el capítulo 2.

3.5.4. Concentración de proteínas

Para expresar los resultados de la oxidación proteica y de las actividades de las enzimas catalasa y glutatión peroxidasa en base a los mg de proteína, se determinó la concentración proteica de las muestras frescas y maduras, según metodología descrita en el capítulo 2.

3.5.5. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo a través del programa NCSS (2007). Los resultados se expresaron como media \pm error estándar de la media (SEM) y el nivel de significancia fue establecido en $p < 0,05$. Para analizar cada una de las variables, se realizó un análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM para evaluar los efectos principales como: la suplementación con Se, el corte y el tiempo de maduración. Además, se realizó una ANOVA de una vía seguida del test de Tukey-Kramer para comparar los grupos control (sin Se agregado) y experimental (con Se agregado) en cada tiempo de maduración dentro de cada corte, y para comparar los tiempos de maduración, dentro de cada grupo, en cada corte.

3.6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.6.1. Oxidación de lípidos

Al analizar los resultados de la oxidación lipídica, en la carne de novillos Aberdeen Angus, alimentados en feedlot, con y sin el agregado de Se en la dieta (figura 20), no se encontró un efecto principal de la suplementación con selenio. Al estudiar cada corte por separado (bife angosto y lomo) tampoco se pudo observar un efecto del agregado de Se sobre la oxidación lipídica, a pesar de esto, en otros trabajos (Skrivan et al., 2012, Juniper et al., 2009) se pudo observar una disminución de los niveles de TBARS con el agregado de Se en la dieta de los animales. Nuestro resultado puede deberse a que los niveles de selenio en la dieta basal (0,1 mg Se/kg MS, Cuadro 4) sean suficientes para cubrir los requerimientos de los novillos según Nutrient Requirements of Beef Cattle (NRC, 2000) y sean suficientes para alcanzar

el límite potencial de actividad antioxidante. Esto último fue demostrado en un trabajo de nuestro grupo de investigación (Alberro et al., 2014) en aves, donde se vio que cuando la dieta inicial era deficiente en Se, ocurría un aumento en la actividad de GPx con la suplementación de Se dosis dependiente, y no se observó este aumento cuando la dieta inicial contenía cantidades suficientes de selenio.

Se pudo observar un efecto principal del corte, donde el bife angosto presentó menores niveles de TBARS comparado con el lomo ($p < 0,0001$). Esto también quedó evidenciado en otro trabajo de nuestro grupo de investigación (Terevinto 2010). Como ya se mencionó en el capítulo 2, el bife angosto es un corte que presenta bajos niveles de TBARS, y en esta parte de la tesis se compara con el lomo (músculo principal *Psoas major*) que es presentado por la bibliografía como susceptible de sufrir oxidación (Descalzo et al., 2007).

También se pudo observar un efecto principal de la maduración sobre la oxidación lipídica, mostrando un efecto lineal ($p < 0,0001$), aumentando hacia el día 60 de maduración. Este resultado es esperado debido a que es normal que ocurran procesos de oxidación en la carne refrigerada (Watts, 1962). Igualmente, hay que destacar que, aunque el tiempo de maduración fue prolongado (60 días), todos los valores de TBARS obtenidos, fueron netamente menores a 2 mg MDA/kg carne, que es el límite sugerido de aceptabilidad, en el cual la rancidez puede ser detectada por los consumidores (Campo et al., 2006).

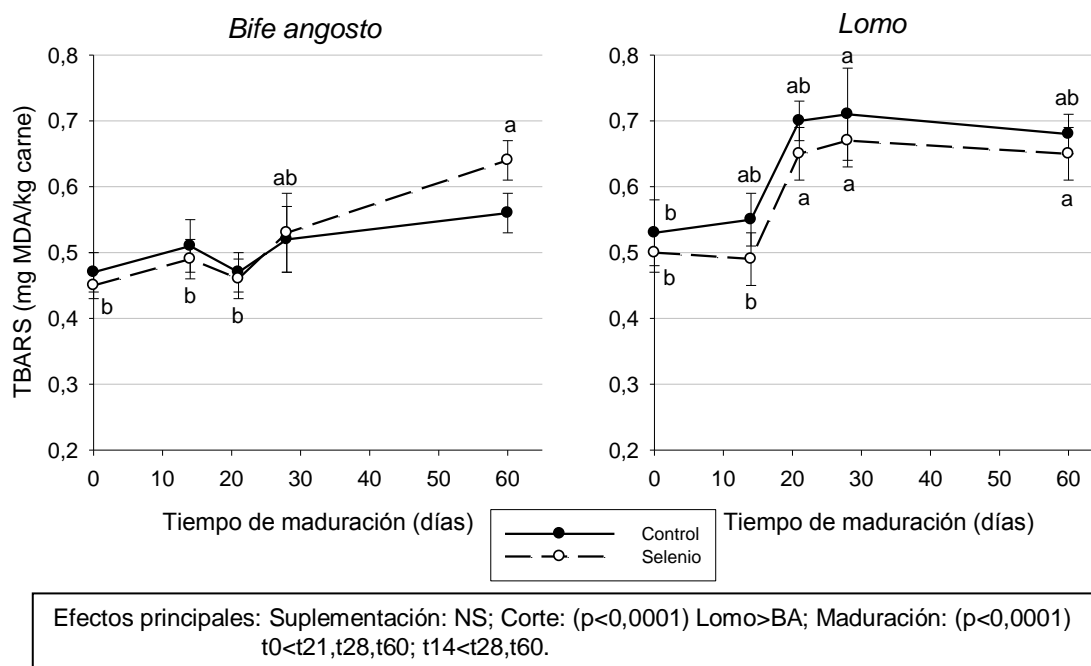


Figura 20. Oxidación lipídica en los cortes bife angosto y lomo, frescos y madurados, de novillos Aberdeen Angus en feedlot. Letras distintas en minúscula indican diferencias significativas entre tiempos de maduración dentro de un mismo grupo ($p < 0,05$). BA: bife angosto; NS: no significativo.

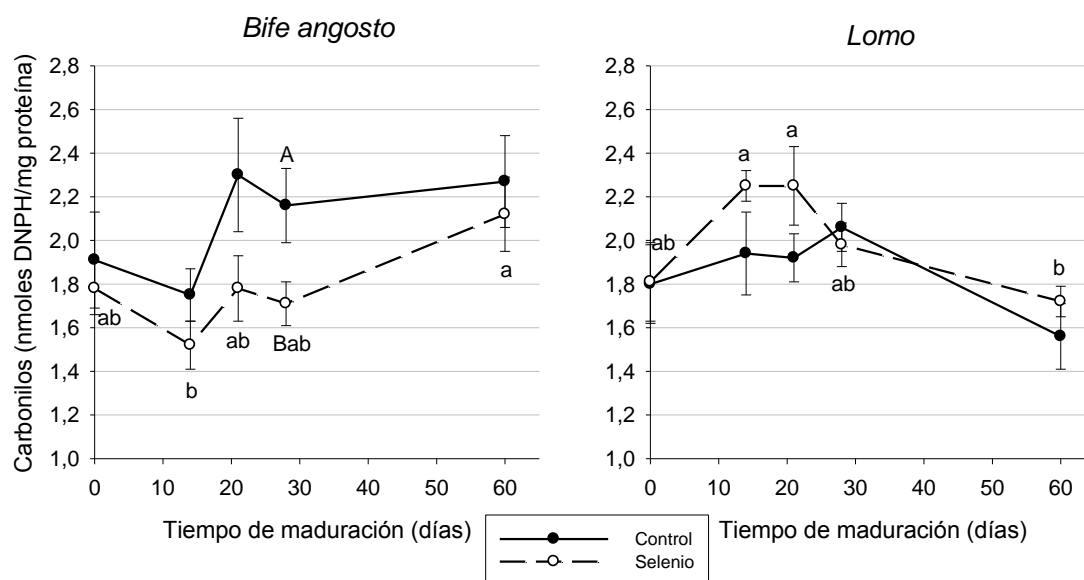
3.6.2. Oxidación de proteínas

En los resultados de la oxidación proteica en la carne de novillos Aberdeen Angus producidos en feedlot, no se pudo observar un efecto principal de la suplementación con selenio (fig. 21). Sin embargo, al analizar cada corte por separado, se obtuvo un menor contenido de carbonilos proteicos en el corte bife angosto de animales suplementados con selenio comparado con los no suplementados ($p < 0,01$). En el lomo, no se observaron diferencias significativas entre la carne de novillos suplementados y no suplementados. Por lo tanto, la suplementación con 0,30 mg Se/kg MS disminuyó la oxidación proteica en el corte bife angosto con respecto al control, y no tuvo efecto significativo sobre el lomo, tanto en estado fresco como madurado hasta los 60 días.

Todos los valores promedio hallados de carbonilos proteicos, tanto en la carne fresca como madurada hasta 60 días, se encuentran dentro de los valores que cita Estévez (2011) para la carne fresca, entre 1 y 3 nmoles DNPH/mg proteína (fig. 21).

No se pudo observar un efecto del corte, por lo que no habría diferencia en el contenido de carbonilos proteicos, entre los cortes bife angosto y lomo. Esto también fue observado en el trabajo de Terevinto (2010) en novillos alimentados a pasturas.

Tampoco se obtuvo un efecto del tiempo de maduración sobre la oxidación proteica de la carne (fig. 21), aunque esperaríamos obtener un aumento en el contenido de carbonilos proteicos durante los 60 días de maduración, porque es un tiempo relativamente largo, donde los procesos de oxidación siguen ocurriendo. Además, algunos autores (Popova et al., 2009, en bovinos, Santé-Lhoutellier et al., 2008, en corderos) han observado un aumento de la oxidación proteica en las miofibrillas del músculo LD, con el tiempo de almacenamiento refrigerado, pero envasadas con film permeable al aire, y no al vacío, como en el presente trabajo.



Efectos principales: Suplementación: NS; Corte: NS; Maduración: NS

Figura 21. Oxidación proteica en los cortes bife angosto y lomo, frescos y madurados, de novillos Aberdeen Angus en feedlot. Letras distintas en mayúscula indican diferencias significativas entre el grupo control y selenio en un mismo tiempo de maduración. Letras distintas en minúscula indican diferencias significativas entre tiempos de maduración dentro de un mismo grupo ($p < 0,05$). NS: no significativo.

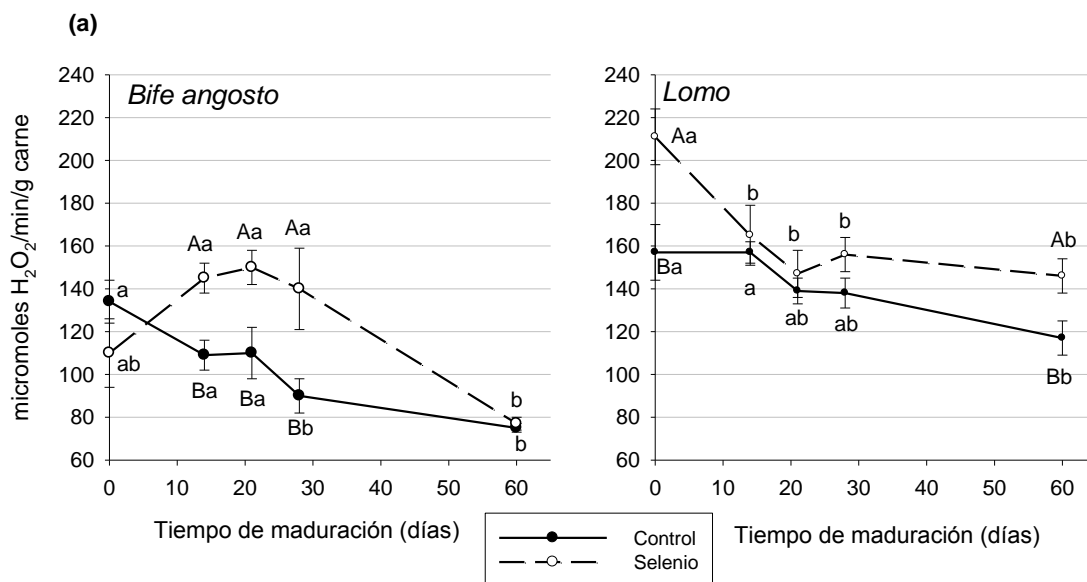
3.6.3. Actividad de catalasa

Al observar los resultados de la actividad de catalasa en la carne de novillos con y sin suplementación de Se en la dieta (figura 22), vemos un efecto principal significativo del agregado de Se ($p < 0,0001$ por g de carne y $p < 0,05$ por mg de proteína), donde la carne de animales suplementados presentó una mayor actividad de la enzima catalasa que la de la dieta control. Al analizar el efecto de la suplementación en cada corte, también se obtuvo este mismo resultado, al expresarlos por g de carne, ($p < 0,05$ en el bife angosto y $p < 0,01$ en el lomo), pero no al expresarlos por mg de proteína. No encontramos trabajos publicados que reporten investigaciones similares a las realizadas en la Tesis, por lo que resulta difícil comparar nuestros resultados con datos de otros autores. Sin embargo, existe información en otras especies que citaremos a título de ejemplo. En el trabajo de Zhang et al. (2011) en conejos para la producción de carne, se obtuvo un efecto lineal entre los niveles de Se dietario y la actividad de la catalasa en el hígado. Aunque estos trabajos nos alejan del modelo bovino, en líneas celulares humanas (modelo *in vitro* de hepatocitos humanos), se ha observado un aumento en la actividad de la enzima catalasa con la suplementación de Se en el medio de cultivo (Helmy et al., 2000).

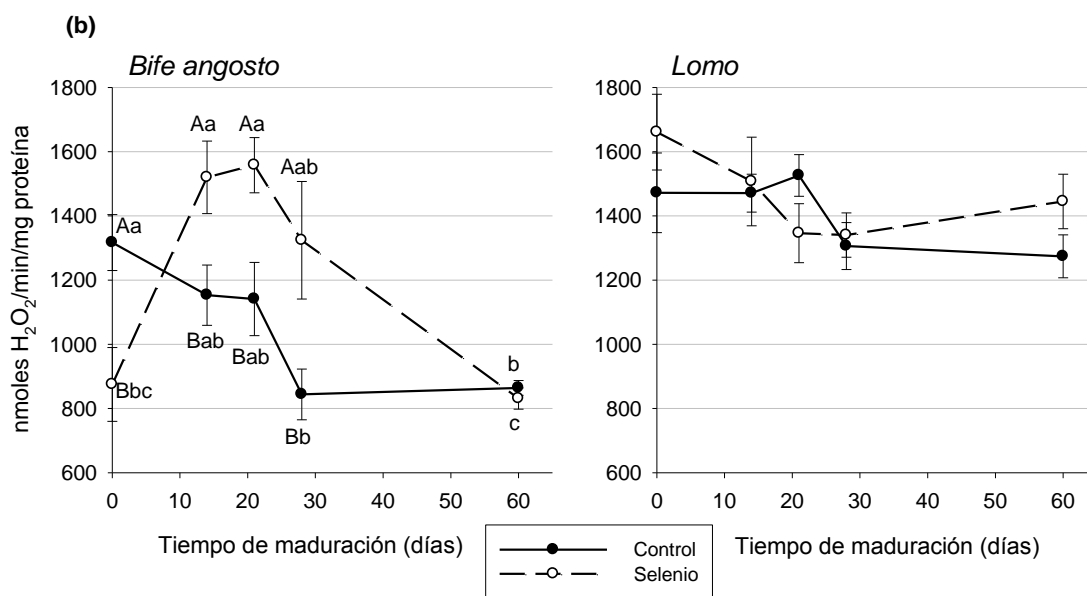
Por otra parte, al analizar el efecto del corte pudimos encontrar un efecto principal, donde el corte lomo presentó una mayor actividad de catalasa ($p < 0,0001$), en ambas formas de expresión (micromoles/minuto/g de carne y nanomoles/minuto/mg de proteína) comparado con el bife angosto. En un trabajo previo (Terevinto, 2010) en novillos a pasturas, no se hallaron diferencias entre estos dos cortes.

También se pudo observar un efecto del tiempo de maduración ($p < 0,0001$, en ambas formas de expresión), donde se obtuvo un descenso en la actividad de esta enzima con los días (fig. 22). Durante este tiempo de maduración, las enzimas pueden perder actividad o ser redistribuidas entre compartimentos celulares (Spanier et al., 1990). En otro trabajo de nuestro grupo de investigación (Terevinto, 2010), se halló un aumento en la actividad de esta enzima a los 14 días de maduración, en carne de novillos Hereford y Braford producidos a pasturas. En el trabajo de Renerre

et al. (1996) la actividad de la catalasa no varió durante 8 días de maduración a 2 °C pero con film permeable al oxígeno, y no al vacío como en el presente trabajo.



Efectos principales: Suplementación: ($p < 0,05$) Se>Control; Corte: ($p < 0,0001$) Lomo>BA; Maduración: ($p < 0,0001$) t14 > t28; t60 < t0, t14, t21



Efectos principales: Suplementación: ($p < 0,0001$) Se>Control; Corte: ($p < 0,0001$) Lomo>BA; Maduración: ($p < 0,0001$) t0, t14, t21, t28 > t60; t0>t28.

Fig. 22. Actividad de la catalasa en micromoles H_2O_2 /min/g carne (a) y nmoles H_2O_2 /min/mg proteína (b) en los cortes bife angosto y lomo, frescos y madurados de novillos Aberdeen Angus en feedlot. Letras distintas en mayúscula indican diferencias significativas entre el grupo control y selenio en un mismo tiempo de maduración. Letras distintas en

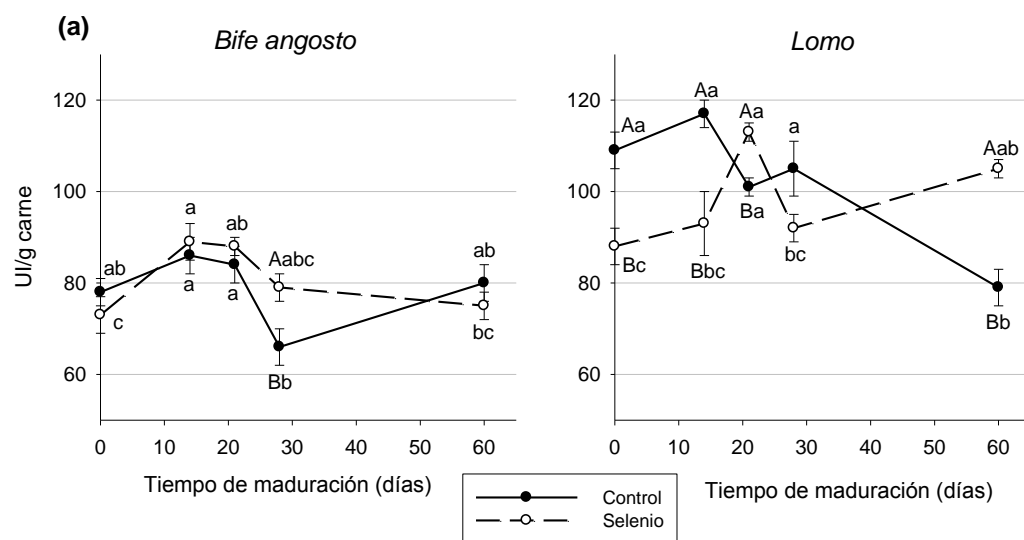
minúscula indican diferencias significativas entre tiempos de maduración para un mismo grupo ($p < 0,05$). NS: no significativo; BA: bife angosto.

3.6.4. Actividad de la superóxido dismutasa

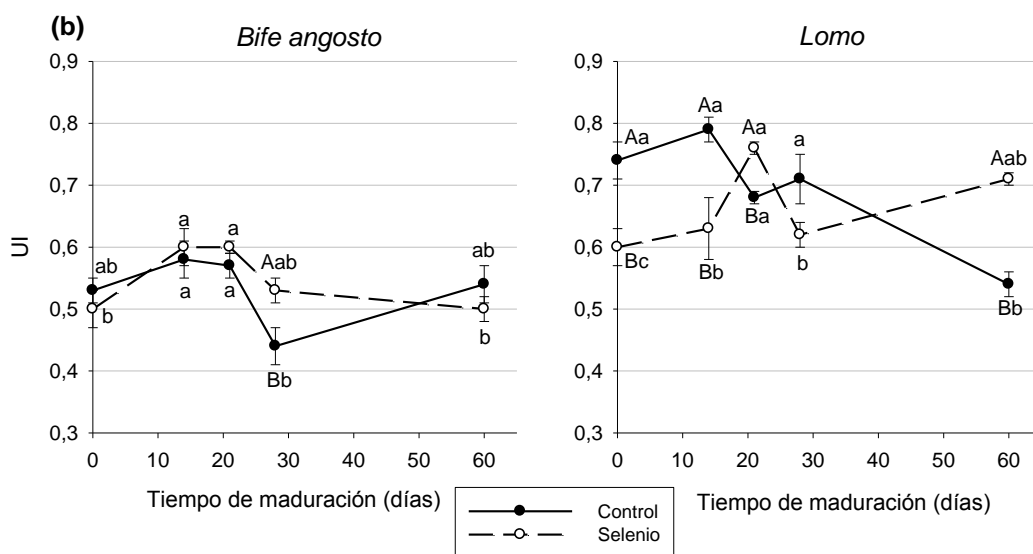
En relación a los resultados de la actividad de la SOD en la carne de novillos Aberdeen Angus producidos en feedlot (figura 23), no se observó un efecto de la suplementación con Se. Al analizar cada corte por separado (bife angosto y lomo), tampoco se observó un efecto de la suplementación con Se sobre la actividad de la SOD en la carne.

Se observó un efecto del corte ($p < 0,000$) en ambas formas de expresión (UI y UI/g de carne) donde el lomo presentó una mayor actividad de la SOD que el bife angosto. Esto también se halló en el trabajo de Terevinto (2010) en novillos Hereford y Braford alimentados a pasturas.

Además, se obtuvo un efecto del tiempo de maduración ($p < 0,0001$, en ambas formas de expresión), donde se puede ver un aumento hacia los días 14 y 21, para luego descender su actividad hacia el final del período de maduración (60 días). En otro trabajo de nuestro grupo de investigación (Terevinto, 2010) se halló un descenso en la actividad de la SOD a los 14 días de maduración en la carne de novillos Hereford y Braford producidos a pasturas. En el trabajo de Renerre et al. (1996) la actividad de la SOD disminuyó significativamente a los 8 días de maduración a 2 °C pero con film permeable al oxígeno, y no al vacío como en el presente trabajo.



Efectos principales: Suplementación: NS; Corte: ($p < 0,0001$) Lomo > BA; Maduración: ($p < 0,0001$) t14 > t60, t28, t0; t21 > t60, t28, t0



Efectos principales: Suplementación: NS; Corte: ($p < 0,0001$) Lomo > BA; Maduración: ($p < 0,0001$) t14 > t60, t28, t0; t21 > t60, t28, t0.

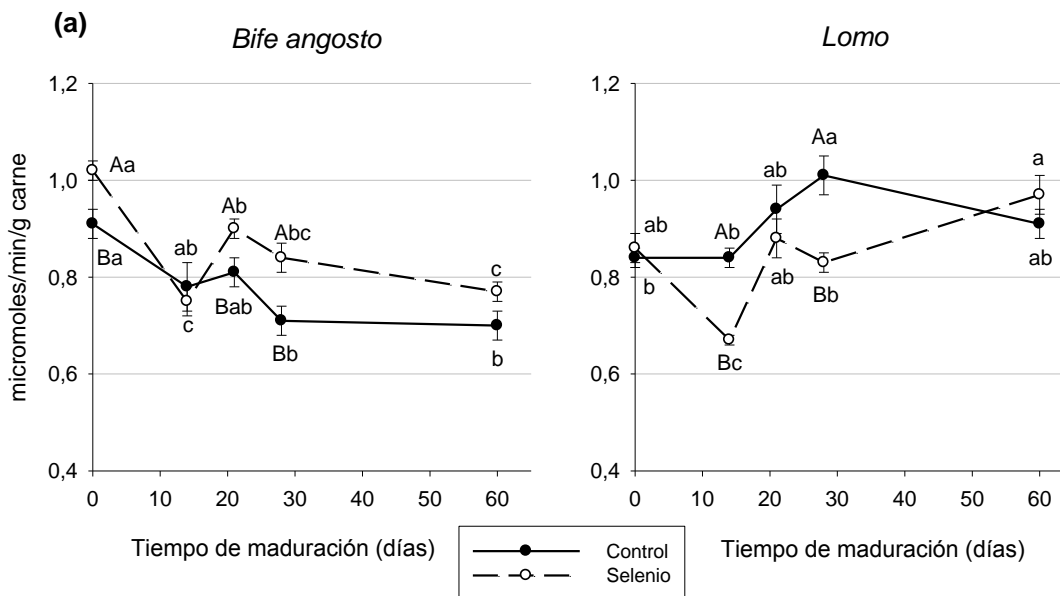
Fig. 23. Actividad de la SOD en UI/g carne (a) y en UI (b) en los cortes bife angosto y lomo, frescos y madurados, de novillos Aberdeen Angus en feedlot. Letras distintas en mayúscula indican diferencias significativas entre el grupo control y selenio en un mismo tiempo de maduración ($p < 0,05$). Letras distintas en minúscula indican diferencias significativas entre tiempos de maduración para un mismo grupo ($p < 0,05$). BA: bife angosto; NS: no significativo. UI: unidades de inhibición.

3.6.5. Actividad de la glutatión peroxidasa

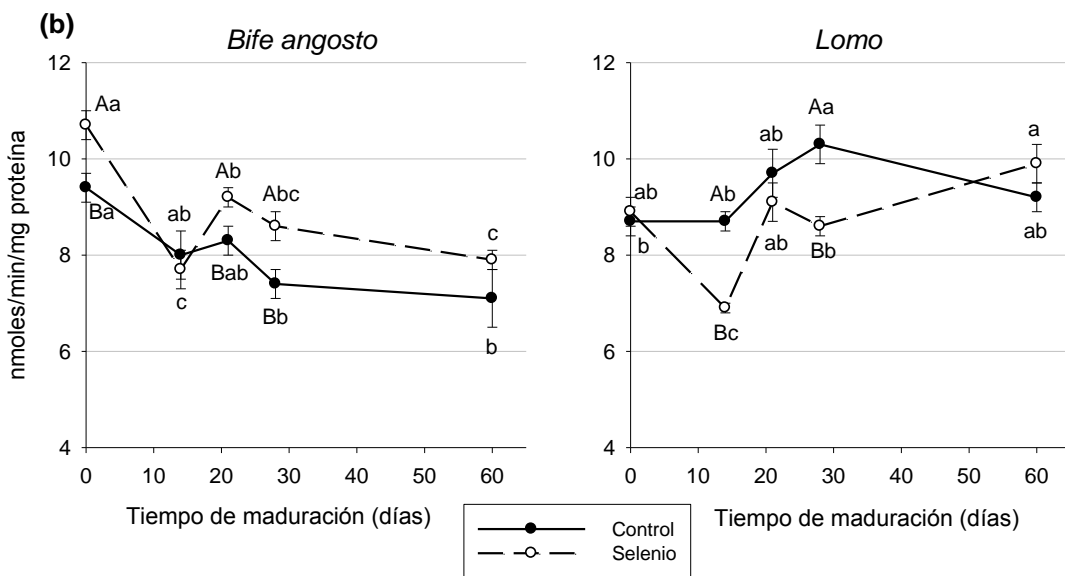
En ninguna de las dos formas de expresión de los resultados (micromoles/minuto/g de carne y nanomoles/minuto/mg de proteína), se pudo observar un efecto de la suplementación con selenio dietario sobre la actividad de la enzima GPx (fig. 24), lo que concuerda con el trabajo de O'Grady et al. (2001) en el músculo LD de novillos. Pero, al analizar cada corte por separado, la suplementación con 0,30 mg Se/kg MS en la dieta de los novillos, aumentó la actividad de la GPx en el bife angosto ($p < 0,01$ en ambas formas de expresión) lo que coincide con una menor oxidación proteica en el bife angosto de novillos suplementados. Esto podría estar indicando una relación entre la oxidación proteica y la actividad de la enzima GPx. Sin embargo, en el lomo la suplementación con Se disminuyó la actividad de la GPx respecto al control ($p < 0,05$, en ambas formas de expresión), contrario a lo que esperábamos, pero no se vio reflejada en un aumento de la oxidación lipídica o proteica en este corte.

Se obtuvo un efecto del corte ($p < 0,0001$ en g de carne y $p < 0,001$ en mg proteína) donde el lomo presentó una mayor actividad de GPx que el bife angosto. En el trabajo de Daun et al. (2001) se obtuvo este mismo resultado en las muestras del primer día (frescas) pero se obtuvo el resultado opuesto para los demás días de maduración (LD > PM). En el trabajo de Terevinto (2010) no se hallaron diferencias entre estos dos cortes.

También se obtuvo un efecto del tiempo de maduración ($p < 0,0001$, en ambas formas de expresión) (fig. 24), donde se puede observar una disminución de la actividad hacia el día 14, luego un aumento y por último un descenso luego de los 28 días de maduración. Renner et al. (1996) encontraron una disminución en la actividad de GPx de entre el 10–30 % en cuatro músculos bovinos durante 8 días de maduración a 2 °C envasados con film permeable al oxígeno, pero Daun et al. (2001) y Terevinto (2010) no observaron un cambio en la actividad de GPx después de 14 días de maduración en los músculos LD y PM de bovinos refrigerados a 2 °C y al vacío.



Efectos principales: Suplementación: NS; Corte: ($p < 0,0001$) Lomo > BA; Maduración: ($p < 0,0001$) t14 < t0, t21, t28, t60; t28, t60 < t0.



Efectos principales: Suplementación: NS; Corte: ($p < 0,0001$) Lomo > BA; Tiempo: ($p < 0,0001$) t14 < t0, t21, t28, t60; t28, t60 < t0.

Fig. 24. Actividad de la GPx en micromoles/min/g carne (a) y nmoles/min/mg proteína (b) en los cortes bife angosto y lomo, frescos y madurados, de novillos Aberdeen Angus en feedlot. Letras distintas en mayúscula indican diferencias significativas entre el grupo control y selenio en un mismo tiempo de maduración ($p < 0,05$). Letras distintas en minúscula indican diferencias significativas entre tiempos de maduración para un mismo grupo ($p < 0,05$). BA: bife angosto; NS: no significativo.

3.7. DISCUSIÓN GENERAL

La suplementación con selenio orgánico en la dieta de novillos Aberdeen Angus producidos en un sistema feedlot en Uruguay, mejoró la estabilidad oxidativa del corte bife angosto, disminuyendo los niveles de oxidación proteica y aumentando las actividades de las enzimas antioxidantes catalasa y glutatión peroxidasa. En el corte lomo, la suplementación con selenio solamente logró aumentar la actividad de la enzima antioxidante catalasa. Al no contar con investigaciones que relacionen la actividad de la catalasa con la suplementación de selenio en la dieta de vacunos, se nos hace difícil comparar nuestros resultados con otros trabajos publicados. Sin embargo, se han encontrado en algunos estudios con otros tejidos o líneas celulares, resultados dispares. En algunos casos se ha observado un aumento de la actividad de la catalasa con la suplementación de selenio (Zhang et al., 2011, Helmy et al., 2000) y en otros casos una disminución (Lin et al., 1993, Geiger et al., 1991). Con respecto a la enzima SOD, los trabajos publicados son también pocos para poder comparar nuestros resultados con otros. En el trabajo de Gatellier et al. (2004), el músculo LD de bovinos alimentados a pasturas presentó una mayor actividad de la enzima SOD, pero un menor contenido de Se, comparado con los animales producidos en el sistema feedlot. En relación a la GPx se ha profundizado más en el tema, ya que el Se es un cofactor conocido de esta enzima. En este sentido, hay varias investigaciones que encuentran una correlación positiva entre la actividad de la GPx y el contenido de Se en el músculo de los animales (Gatellier et al., 2004, Daun et al., 2001, De Vore y Greene, 1982), por lo que se supone que tendría que ocurrir un aumento en su actividad con la suplementación de selenio. En nuestro trabajo pudimos ver este efecto solamente en el corte bife angosto, ya que en el lomo se observó el resultado contrario, la actividad de la GPx disminuyó con la suplementación de Se. En este último corte se observó una mayor actividad de las tres enzimas antioxidantes (catalasa, SOD y GPx) comparado con el corte bife angosto.

A pesar de esto, el lomo presentó una mayor oxidación lipídica. Esto podría explicarse por el hecho de que el lomo precisa estar más preparado frente a los procesos oxidativos, aumentando sus enzimas antioxidantes, porque en la bibliografía se presenta al *Psoas major* (músculo principal del corte lomo) como un

músculo susceptible de sufrir deterioro oxidativo durante el almacenamiento (Descalzo et al., 2005).

Otro aspecto importante que queríamos evaluar en este capítulo, era si el agregado de selenio en la dieta de los animales lograba mantener bajos los niveles de oxidación, tanto lipídica como proteica, durante más tiempo de maduración, que los 14 días utilizados comercialmente, o sea, hasta al menos 60 días. Con respecto a esto, pudimos ver que, a pesar de que se produjo un aumento en los niveles de TBARS, tanto en la carne suplementada con Se como la que no era, durante los 60 días de maduración, los valores se mantuvieron por debajo de 1 mg MDA/kg carne, lo cual es aceptable desde el punto de vista del consumidor, ya que el límite sugerido es de 2 mg MDA/kg carne, a partir del cual la rancidez puede ser detectada (Campo et al., 2006). Los niveles de oxidación proteica se mantuvieron por debajo de los 3 nmoles DNPH/mg proteína, lo cual es aceptable según Estévez (2011).

Además, un aspecto a destacar de nuestro trabajo, es que, en nuestro conocimiento, es el primer estudio que investiga el desarrollo de las actividades de las enzimas antioxidantes, durante un largo tiempo de maduración, y en la carne de novillos Aberdeen Angus. En relación a esto, pudimos observar ciertas oscilaciones en las actividades de las enzimas antioxidantes durante este período, produciéndose un descenso en las tres enzimas antioxidantes hacia el final del período de maduración (luego de los 28 días). Esta dinámica de las enzimas antioxidantes necesita más investigación para poder entender mejor su actividad a lo largo de la maduración, y en particular si se quiere usar tiempo largo como 60 días o más tiempo aun como le interesa a la industria en Uruguay.

4. INFLUENCIA DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN, PASTURA VS GRANOS, SOBRE EL COLOR Y LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE, EN SIMULACIÓN DE EXPOSICIÓN COMERCIAL EN VITRINA REFRIGERADA

4.1. INTRODUCCIÓN

El color de la carne y su estabilidad lipídica son factores que condicionan la calidad y la aceptabilidad de la carne en puntos de venta (Arnold et al., 1992). La oxidación de la mioglobina y de los lípidos durante el almacenamiento refrigerado reduce la aceptabilidad del color y flavor de la carne fresca, por parte de los consumidores (Insani et al., 2008). Eso se debe a la formación de metmioglobina que genera un color marrón en la superficie de la carne (Subbaraj et al., 2016), que es no deseable. El color del músculo depende de la cantidad y estado de oxidación/reducción de la mioglobina y también de las características de superficie de la carne relacionadas con su pH último (Insani et al., 2008). En los alimentos cárnicos, el hierro está presente predominantemente como hierro hemo, en la mioglobina, la hemoglobina, ciertas catalasas y citocromos (Papanikolaou y Pantopoulos, 2005). El hierro hemínico ha sido descrito como un compuesto prooxidativo por su reacción con el peróxido de hidrógeno para dar radicales que son capaces de iniciar la oxidación lipídica en muchos sistemas biológicos (Gatellier et al., 2005). La concentración del pigmento hemo está muy relacionada a los niveles de hierro hemo en la mioglobina, dado que un aumento de los pigmentos hemo puede resultar en un aumento del hierro hemo, y como consecuencia de la rojeza de la carne (Dunne et al., 2006). La rojeza indicada como a^* en el sistema de medición del color de CIELAB, es un parámetro importante para evaluar la oxidación de la carne, porque el almacenamiento prolongado en contacto con el aire, induciendo la transformación de la oximioglobina (color rojo brillante) a metmioglobina (color marrón), induce un descenso de a^* y es inaceptable para el consumidor (Gatellier et al., 2005).

Las propiedades intrínsecas del músculo y la alimentación de los animales tienen un profundo efecto en el alcance de la oxidación *postmortem* de las

macromoléculas como lípidos y proteínas, en los músculos (Insani et al., 2008). La alimentación a pasturas puede afectar la oxidación de la mioglobina y de los lípidos, aumentando el contenido de α -tocoferol (vitamina E), que previene la oxidación lipídica y retarda la formación de la metmioglobina, prolongando la estabilidad del color y de los lípidos de la carne (Lynch et al., 1999). Además de α -tocoferol, la carne producida sobre pastura está asociada con más antioxidantes en la forma de carotenoides y flavonoides, que protegen a los lípidos, en particular a los ácidos grasos, de la oxidación (Descalzo et al., 2008). Se han encontrado en varios trabajos (Insani et al., 2008, Gatellier et al., 2005, Realini et al., 2004) datos de que la carne producida a pasturas es más estable que la de feedlot desde el punto de vista oxidativo, cuando es sometida a condiciones de venta con exposición en vitrina refrigerada (estudios con “display” de la carne). Por lo tanto, en esta parte de la tesis nos propusimos comparar la estabilidad oxidativa y del color, de la carne de novillos Aberdeen Angus producidos en un sistema a pasturas con los producidos en un sistema feedlot, cuando es sometida a condiciones de venta en vitrina refrigerada. Debido a que el hierro hemo puede tener una acción prooxidativa en la carne (Gatellier et al., 2005), y la actividad redox del hierro estimula indirectamente la oxidación de la mioglobina (Purohit et al., 2015), nos planteamos determinar su contenido para poder relacionarlo con los resultados de la estabilidad oxidativa y del color. También se determinó el contenido de ciertas vitaminas (E y A), para averiguar si la carne producida a pasturas posee un mayor contenido, lo que le podría estar brindando una mayor protección antioxidante, para hacer frente a la exposición a la luz, oxígeno y temperatura de refrigeración (2-8 °C) de la vitrina comercial.

4.2. OBJETIVO GENERAL

Determinar si existe una mayor estabilidad del color y oxidativa, en la carne de novillos alimentados con pasturas, comparado con la carne de novillos en un sistema feedlot, al ser sometida a condiciones de vitrina refrigerada, simulando condiciones comerciales de venta.

4.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los parámetros del color y el contenido de hierro hemo, en la carne de novillos alimentados con pasturas y en feedlot, durante su exposición en vitrina refrigerada.
- Medir los niveles de oxidación lipídica y proteica, en la carne de novillos producidos a pasturas y en feedlot, durante su exposición en vitrina refrigerada.
- Determinar el contenido de lípidos, y la composición en ácidos grasos en la carne fresca, producida en un sistema pastoril y en un sistema feedlot, para poder relacionarlos con los resultados de oxidación lipídica.
- Determinar el contenido de carotenoides y de α -tocoferol en la carne fresca, para poder explicar posibles diferencias, en los niveles de oxidación de la carne, entre los sistemas pastura y feedlot.

4.4. HIPÓTESIS

La carne producida en un sistema pastoril tendría una mayor estabilidad del color y oxidativa, que la carne producida en un sistema feedlot, al ser sometida a condiciones comerciales en exposición en vitrina refrigerada.

4.5. MATERIALES Y MÉTODOS

4.5.1. Corte y animales

Se utilizó el corte nalga de adentro (cuyo músculo principal es el *Semimembranosus*), que comúnmente se vende en estado fresco en las vitrinas refrigeradas de los supermercados, perteneciente a 20 novillos de la raza Aberdeen Angus, de 26-30 meses de edad. Los animales fueron faenados el mismo día en el mismo establecimiento de faena (Frigorífico Breeders & Packers Uruguay, en Durazno). Diez de estos animales fueron producidos en un sistema extensivo a base de pasturas naturales y terminados con pasturas mejoradas (40 % naturales y 60 % cultivadas) los últimos 130 días, para alcanzar un peso similar a los terminados a grano. La dieta consistía en festuca (*Festuca arundinacea*), trébol blanco (*Trifolium*

repens) y *Lotus subbiflorus* cv El Rincón. Estos animales alcanzaron un peso promedio prefaena de 495,8 kg. Los restantes 10 animales fueron producidos en un sistema intensivo (feedlot) que exporta carne bovina de alta calidad siguiendo las normas de la Comisión Europea de Regulación N°481/2012, alimentados los últimos 100 días con concentrado (1,4 % PV, 62 % MS, 12,26 MJ/kg MS) que consistía en sorgo silo planta entera, grano de sorgo húmedo y ensilaje de maíz, pellets de girasol, fuentes minerales, urea y ionóforo. Estos animales alcanzaron un peso promedio prefaena de 498,2 kg. Luego de 36 horas postmortem a 1-2 °C, se extrajo el corte nalga de adentro (según INAC, 2004), se envasó al vacío y se mantuvo a 1-2 °C hasta llegar a nuestro laboratorio. Se cortaron filetes de 1 cm de espesor, que se colocaron en un total de 24 bandejas de espuma de polietileno y se cubrieron cada una con film de PVC permeable al aire. La porción restante del corte se conservó en freezer a -20 °C, para las determinaciones en carne fresca (día 0). Las bandejas se colocaron en una vitrina refrigerada comercial (Marca CE, modelo SS1500, de 1,25 m de altura, 90 cm de ancho y 1,50 m de largo) idéntica a las que se utilizan en comercios y supermercados, a 2-8 °C, con iluminación artificial (tubo luz fluorescente de 3.500 grados Kelvin) durante 3, 6 y 9 días. Luego de cada tiempo, se congelaron las muestras hasta realizar las determinaciones de laboratorio.

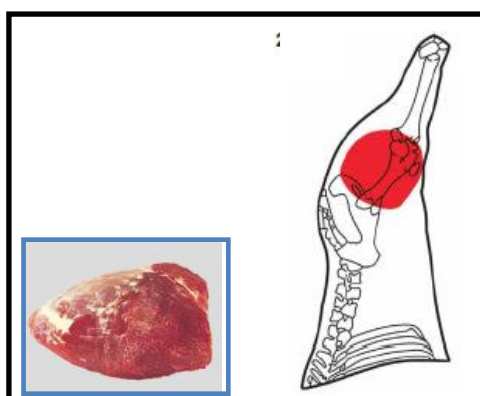


Fig. 25. Corte utilizado (nalga de adentro) ubicado en la región del muslo (cara interna). Extraído del Manual de Carnes Bovina y Ovina (INAC, 2004).

4.5.2. Medición del color

Para la medición de los parámetros del color (L^* , a^* , b^*) en la carne fresca, del mismo día que se obtuvo del frigorífico (día 0), y luego de cumplidos los 3, 6 y 9 días de exposición en vitrina refrigerada, se siguió el método de CIE Lab (CIE, 1976), utilizando un colorímetro Minolta Lab CR-10. Al tomar las medidas se trató de evitar las áreas con alto contenido de tejido conectivo o grasa intramuscular. El parámetro L^* representa la luminosidad en un rango del claro al oscuro en una escala del 100 al 0, el parámetro a^* representa la rojeza en un rango del rojo al verde en una escala del +60 al -60, y el parámetro b^* representa el amarillamiento en un rango del amarillo al azul en una escala del +60 al -60. Luego de quitarles el envase de vacío a los cortes obtenidos del frigorífico y cortar los filetes, se esperaron 10 min para medir el color, para que la mioglobina capte el oxígeno del ambiente y la carne retome el color rojo brillante característico. Se realizó lo mismo luego de quitarles el film a las muestras que habían sido colocadas en la vitrina durante 3, 6 y 9 días de exposición. A partir de los datos de L^* , a^* y b^* se calcularon los valores de ángulo de Hue ($\tan^{-1} (b^*/a^*)$), chroma $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$, ΔE^* $(\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$ y ΔH $(\Delta E^{*2} - \Delta L^{*2} - \Delta C^{*2})^{1/2}$. El ángulo de Hue es un indicador del tono del color, con valores que van del 0 al 360 representando un color en un círculo de colores, donde el 0 (=360) representa al rojo, 90 al amarillo, 180 al verde y 270 al azul. El valor de chroma es un indicador de la saturación del color, donde valores más altos representan colores más vívidos (óptimo en la carne). El valor de ΔE^* indica la diferencia de color, el de ΔH indica la diferencia del tono, y el ΔC^* la diferencia de chroma, entre los días de exposición y el día 0. El valor de ΔL^* indica diferencias de luminosidad en la carne, entre los días de exposición y el día 0.

4.5.3. Determinación del hierro hemo

Se determinó el contenido de hierro hemo en las muestras de carne fresca (del día 0), y con 3, 6 y 9 días de exposición en vitrina refrigerada, siguiendo las técnicas descritas por Hornsey (1956), Ramos et al. (2012) y Ramos et al. (2009). Se

pesaron aproximadamente 2 g de carne, previamente descongelada, que se trituraron y maceraron con 9 ml de una solución ácida de acetona al 90 %, durante 1 minuto en tubos de vidrio. Los tubos se taparon para evitar la evaporación y se colocaron en oscuridad a temperatura ambiente durante una hora. Luego se vortexearon, se filtraron con papel de filtro (Whatman GF/A) y se midió la absorbancia a 640 nm por duplicado. El contenido de hierro hemo se calculó utilizando el factor 0,0882 μg hierro/ μg hematina y los resultados se expresaron en ppm.

4.5.4. Cuantificación de carotenoides y tocoferoles

Se determinó el contenido de carotenoides y de tocoferoles en la carne fresca del corte nalga de adentro (del día 0, que fue congelada a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$). Se siguieron las técnicas de Zaccari et al. (2015) y Descalzo et al. (2008) para la cuantificación de carotenoides, y la de Koprivnjak et al. (1996) para la cuantificación de tocoferoles. Se pesaron aproximadamente 0,5 g de carne y se homogeneizaron con 11 ml de una solución de extracción metanol:THF [1:1] en un Ultra-Turrax IKA T18 basic durante 30 segundos a 12.000 rpm. El homogeneizado se centrifugó a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 1 minuto a 12.000 rpm y se guardó el sobrenadante a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Luego se evaporó 1 ml del sobrenadante con N_2 gas y se recuperó en 200 μL de la solución de extracción. La cuantificación se realizó en un HPLC (Thermo Separation Products, Spectral Series P100, Inc. USA) con columna C30 (YMCTM Carotenoide S-5, 4,6 mm, 250 mm, Waters, USA) termostaticada a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, y con un detector UV 2000 (Spectral System®, USA). Se utilizó como fase móvil una mezcla de etanol:metanol:THF [75:20:5], con flujo de 0,5 ml/min y volumen de inyección de 20 μl . La lectura se realizó a 450 nm para carotenoides y a 290 nm para tocoferoles. Todos los solventes utilizados fueron de calidad HPLC. Se construyeron las curvas de calibración con los estándares all trans β -caroteno Type I (Sigma Aldrich C9750), luteína con el estándar obtenido de pétalos de *Tageta erecta*, L. según US 2010/0121112 A1 (2010) (United States, Patent Application Publication, Chuang, Chia-Line; Li, Hsin-Ke & Chuand, Chong-Nan), y DL- α -tocopherol (Sigma Aldrich T3251). Los resultados del contenido de carotenoides y tocoferoles se expresaron en $\mu\text{g/g}$ carne.

4.5.5. Contenido total de lípidos y composición en ácidos grasos

El contenido total de lípidos y la composición en ácidos grasos de la carne fresca del corte nalga de adentro (del día 0, que fue congelada a -20 °C), se determinaron siguiendo las mismas técnicas descriptas en el capítulo 2. Se calculó la cantidad de ácidos grasos saturados (SAT), monoinsaturados (MUFA), poliinsaturados (PUFA), n-6, n-3, relación n-6/n-3, relación PUFA/SAT, índices aterogénico (IA) y trombogénico (IT). El IA se calculó como: $[C12:0+4*(C14:0)+C16:0+C18:0]/[(\Sigma PUFA)+(\Sigma MUFA)]$, y el IT se calculó como: $[C14:0+C16:0+C18:0]/[(0.5*\Sigma MUFA)+(0.5*n-6)+(3*n-3)+(n-3/n-6)]$ (Ulbricht & Southgate, 1991)

4.5.6. Oxidación de lípidos y de proteínas

Los niveles de oxidación lipídica y proteica se midieron en la carne fresca del corte nalga de adentro (del día 0, que fueron congeladas a -20 °C), y las que fueron congeladas a -20 °C después de cumplidos los 3, 6 y 9 días de exposición en vitrina refrigerada. Se siguieron las metodologías de TBARS y carbonilos proteicos descriptas en el capítulo 2, y los resultados se expresaron en mg MDA/kg carne y en nmoles DNPH/mg proteína, respectivamente.

4.5.7. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo a través del programa NCSS (2007). Los resultados se expresaron como media \pm error estándar de la media (SEM) y el nivel de significancia fue establecido en $p < 0,05$. Para analizar cada una de las variables se realizó una ANOVA de medidas repetidas para evaluar el efecto del sistema de producción y de los días de exposición. Además, se realizó una ANOVA de una vía seguida del test de Tukey-Kramer para comparar los días de exposición dentro de cada sistema, y los sistemas de producción para cada día de exposición.

4.6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.6.1. Color (L, a, b, hue, chroma, ΔL , ΔE , ΔH)

Al evaluar los parámetros del color, se obtuvo un efecto significativo del sistema de producción sobre el valor de L^* ($p < 0,01$) y de a^* ($p < 0,05$) (fig. 26), donde en ambos casos, los valores fueron superiores en la carne de novillos Aberdeen Angus en feedlot, comparado con los alimentados a base de pasturas. Esto se traduce en una carne más clara y con mayor rojeza para la de animales alimentados en feedlot. En la bibliografía, los resultados generalmente muestran que la carne de bovinos terminados a pasturas posee un color más oscuro ($<L^*$) comparado con la de granos (Insani et al., 2008, Yang et al., 2002b, Vestergaard et al., 2000, Bennet et al., 1995, Bidner et al., 1986, Schroeder et al., 1980), lo que concuerda con nuestros resultados. En el trabajo de Bidner et al. (1986) atribuían el color más oscuro de la carne, a un mayor contenido de mioglobina en animales con una alimentación a pasturas, comparado con la de granos. En nuestro caso, no puede ser explicado por un mayor contenido de hierro hemo porque no se observaron diferencias entre los sistemas (cuadro 6). Hay una hipótesis de que la carne de pasturas es más oscura, debido al mayor nivel de actividad física de los animales comparado con los que están en un sistema confinado (feedlot) (Dunne et al., 2011). La explicación para esto es, que el ejercicio físico aumenta las concentraciones de ROS in vivo, lo que puede causar daño oxidativo a los tejidos, incluido el músculo. Durante la conversión del músculo a carne, los eventos bioquímicos favorecen la oxidación, y los radicales libres intermediarios que se generan, son similares a ROS y contribuyen a la oxidación de la oximioglobina causando pérdida de color en la carne (Dunne et al., 2005). Otra hipótesis es que los animales producidos a pasturas son de más edad que los de feedlot, lo que se traduce en una carne más oscura. En el presente trabajo la diferencia de edad entre los animales de ambos sistemas es de 30 días, para poder alcanzar un peso prefaena similar entre los dos sistemas.

Una mayor rojeza observada en la carne de animales en feedlot fue contrario a lo hallado por Sapp et al. (1998) en el músculo LD de novillos durante 10 días de almacenamiento, y por Insani et al. (2008) en el músculo PM a los 7 días de

almacenamiento refrigerado. En los trabajos de Gatellier et al. (2005) y Realini et al. (2004) no se observó un efecto del sistema de alimentación (pastura vs grano) sobre el parámetro a^* en el músculo LD de novillos.

Con respecto al parámetro b^* , el sistema de alimentación no tuvo efecto (fig. 26(c)), lo que concuerda con lo hallado por Realini et al. (2004) en el músculo LD de novillos Hereford, por Razminowicz et al. (2006) en el músculo LD de bovinos, y por Insani et al. (2008) en el músculo PM de novillos.

Con el paso de los días en exposición, se produjeron variaciones en los valores promedio de los tres parámetros del color medidos en la carne. En el caso de la luminosidad (L^*), ésta presentó un valor más elevado al día 9 de exposición comparado con los otros días (efecto principal, $p < 0,0001$), o sea que la carne se va tornando más clara hacia el final de la exposición. En la carne de novillos alimentados a pastura, los valores de L^* permanecieron relativamente constantes, solamente se produjo un aumento significativo del día 3 al 6, y en la de feedlot disminuyeron del día 0 al 6 y luego aumentaron hacia el día 9 (fig. 26(a)). Por consiguiente, la luminosidad es más estable en la nalga de adentro de novillos Aberdeen Angus alimentados a pastura que en la de feedlot, durante la exposición en vitrina refrigerada. En la fig. 26(b) se puede observar un descenso de la rojeza (a^*) con el tiempo de exposición (efecto principal, $p < 0,0001$), lo que representa una pérdida de rojeza. Esto también ocurre en otros trabajos (Purohit et al., 2015, Insani et al., 2008, Dunne et al., 2005, Gatellier et al., 2005, Mitsumoto et al., 1998) en carne bovina expuesta en condiciones comerciales de venta bajo refrigeración. Los valores de b^* fueron más elevados en la carne fresca del día 0 y al final de la exposición, comparado con los días 3 y 6 (efecto principal, $p < 0,0001$). En el trabajo de Gatellier et al. (2005), los valores de b^* se mantuvieron relativamente estables durante los primeros dos días y disminuyeron luego de los 6 días de almacenamiento. En el trabajo de Insani et al. (2008), también se observa una disminución en los valores de b^* alrededor del día 6 de exposición, pero se mantienen estables hasta el día 9, tanto para la carne de pastura como de feedlot.

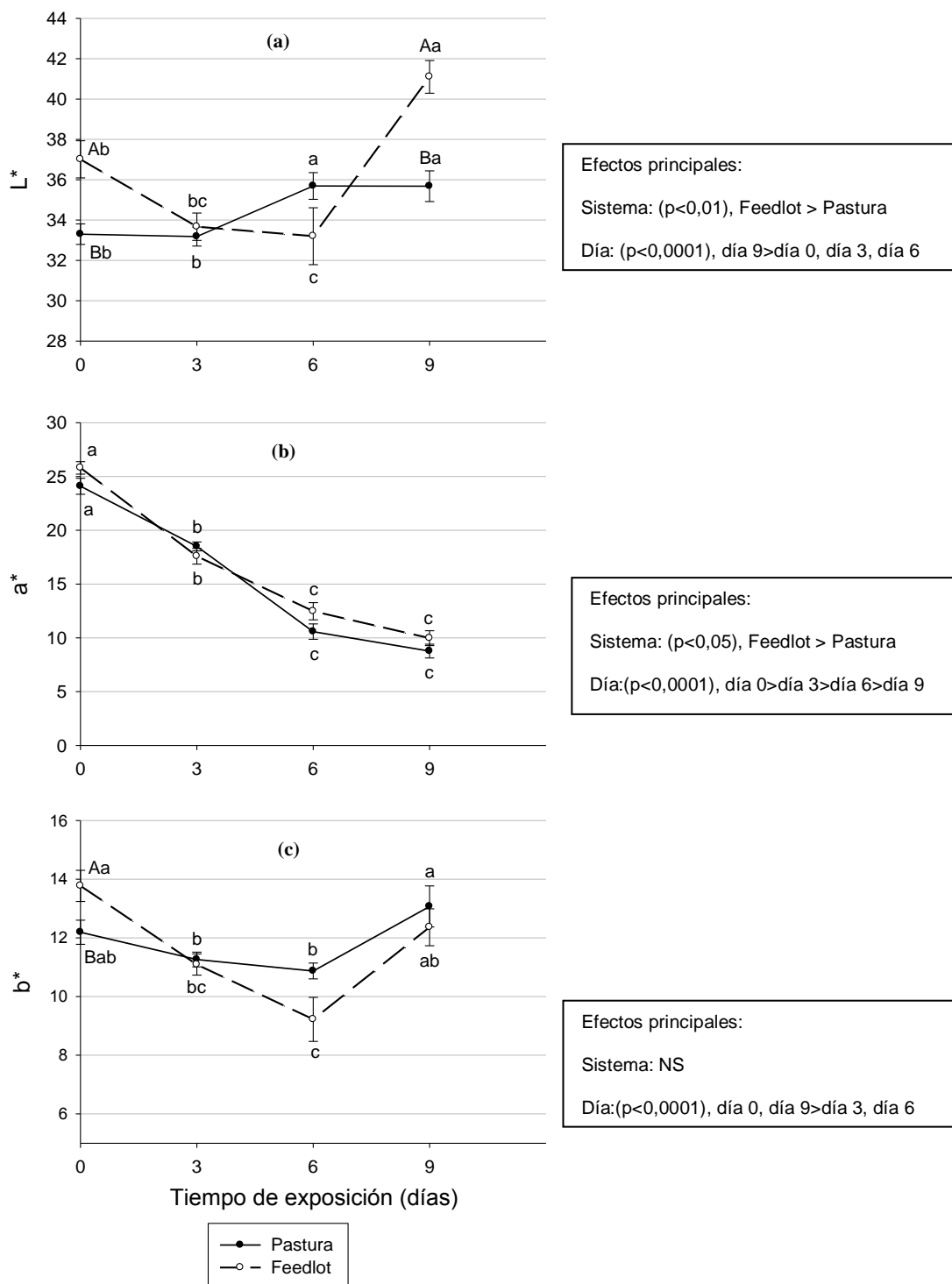


Fig. 26. Parámetros del color (L*, a*, b*) durante la exposición en vitrina refrigerada del corte nalga de adentro de novillos Aberdeen Angus, producidos en pasturas y en feedlot. Los valores son medias \pm SEM (n=10). Letras diferentes en mayúscula indican diferencias significativas entre sistemas de producción en cada día de exposición (p<0,05). Letras distintas en minúscula indican diferencias significativas entre días de exposición en cada sistema de producción (p<0,05).

Los valores del ángulo de Hue (tono del color) fueron significativamente más elevados en la carne de pasturas que en la de feedlot ($p < 0,05$) (fig. 27). El ángulo de Hue es un buen indicador de la estabilidad del color en la carne en exposición (Humada et al., 2014). Además, se pudo observar un aumento del valor de Hue con el tiempo de exposición (efecto principal, $p < 0,0001$), lo que demuestra que el tono de la carne va cambiando con los días, pasando de un tono rojo a uno más anaranjado. En la carne de pastura hubo un aumento significativo a partir del día 3, y en la de feedlot a partir del día 6 (fig. 27), por lo que ese cambio de tono se produce antes en la carne de novillos Aberdeen Angus alimentados a pastura. Esto podría explicarse por un descenso más pronunciado en los valores de a^* del día 3 al 6 en la carne de pastura (fig. 26(b)), y por un aumento de los valores de b^* del día 6 al 9 (fig. 26(c)), lo que estarían generando un cambio en el tono del color de la carne. En la carne de feedlot, el aumento del ángulo de Hue del día 6 al 9, puede ser influido por el aumento de b^* observado. De todo esto se deduce que la pérdida de rojeza con el tiempo de exposición tiene una mayor influencia sobre el tono del color.

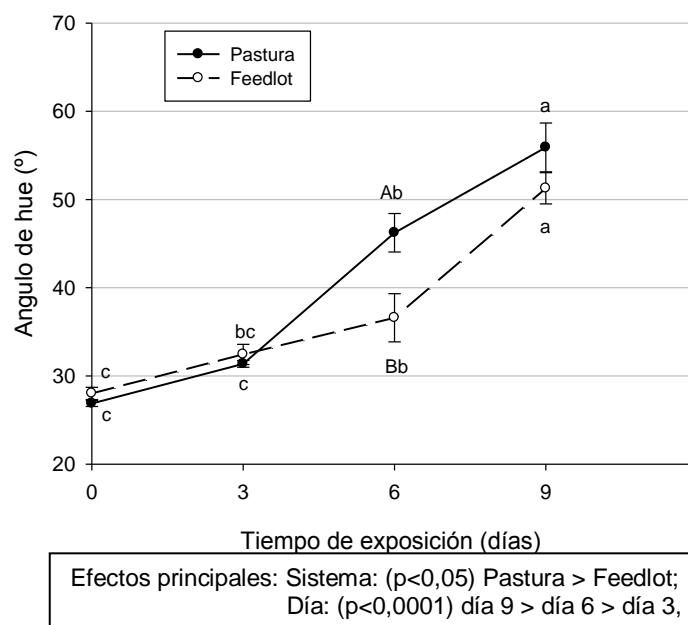
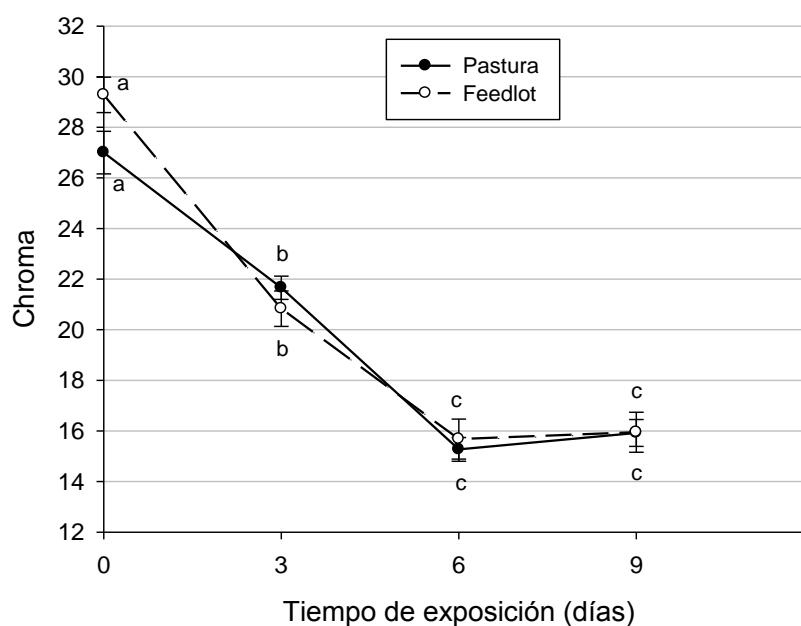


Fig. 27. Valores de ángulo de Hue (°) en el corte nalga de adentro de novillos Aberdeen Angus, producidos en pasturas y en feedlot, durante su exposición en vitrina refrigerada. Los resultados están expresados como medias \pm SEM ($n=10$). Letras distintas en mayúscula indican diferencias significativas entre sistemas en cada día de exposición ($p < 0,05$). Letras distintas en minúscula indican diferencias significativas entre días de exposición en cada sistema de producción ($p < 0,05$).

Con respecto a los resultados de chroma (saturación del color), no se encontró un efecto del sistema de alimentación pero sí del tiempo de exposición ($p < 0,0001$). Se observó una caída en la saturación del color desde la carne en estado fresco (del día 0) hasta el día 6 de exposición, para luego permanecer constante hasta el día 9 (fig. 28). El comportamiento fue muy similar en la carne de ambos sistemas. Es de esperar un descenso en la saturación del color durante la exposición de la carne y puede ser considerado como un indicador de la acumulación de metmioglobina en la superficie de la carne (Humada et al., 2014). En el trabajo de Cho et al. (2015) también se observó un descenso en los valores de chroma durante el almacenamiento refrigerado durante 12 días del músculo *Longissimus lumborum* (LL) de bovinos.



Efectos principales: Sistema: NS; Día: ($p < 0,0001$) día 0 > día 3 > día 6, día 9

Fig. 28. Valores de chroma en el corte nalga de adentro de novillos Aberdeen Angus, producidos en pasturas y en feedlot, durante su exposición en vitrina refrigerada. Los resultados están expresados como medias \pm SEM ($n=10$). Letras distintas en minúscula indican diferencias significativas entre días de exposición en cada sistema de producción ($p < 0,05$)

En la carne de novillos alimentados en feedlot, los valores de ΔL fueron mayores que en la carne de novillos alimentados a pasturas, lo que demuestra que la luminosidad es más estable en esta última (Cuadro 5). Además se puede ver que en la

carne de pastura, el ΔL no varía del día 6 al 9 de exposición, pero en la carne de feedlot es cuando se produce la mayor variación.

Con respecto a los valores de ΔE , se puede ver que ocurrió un mayor cambio desde el día 3 al 6 en la carne de pastura, y del estado fresco hasta el día 3 en la carne de animales en feedlot (cuadro 5). En la carne de ambos sistemas no se produjo casi variación en el ΔE entre los días 6 y 9.

Además, se puede ver un aumento en los valores de ΔH con el tiempo de exposición, mostrando un aumento mayor entre los días 3 y 6 en la carne de pastura, y entre los días 6 y 9 en la carne de feedlot.

La mayor diferencia en el cambio de color (ΔE) ocurre entre el día 3 y el día 6 en la carne de pastura (cuadro 5), quizás debido al aumento de la luminosidad y al descenso en la rojeza. En la carne de feedlot, este cambio ocurre entre el día 0 y el día 3, quizás debido al descenso en los valores de a^* y de b^* , y justamente es en ese momento cuando ocurre el mayor aumento de la oxidación lipídica (resultados en la figura 29). Un valor de ΔE de casi el doble en la carne de feedlot comparado con la de pastura, al día 3 de exposición, estaría marcando una diferencia de color apreciable entre la carne de los dos sistemas. Al llegar a los días 6 y 9, esas diferencias de color entre sistemas ya no serían tan apreciables, y además se mantienen los valores de ΔE entre esos días en ambas carnes. En la carne de ambos sistemas de producción, se puede ver que el ΔH aumenta con el tiempo de exposición, mostrando un mayor incremento entre los días 3 y 6 en la carne de pastura, quizás debido a un mayor cambio en la diferencia de color (ΔE) y ΔL , y entre el día 6 y el 9 en la carne de feedlot, quizás debido a un mayor cambio en el ΔL (cuadro 5). Tanto la diferencia de color entre las carnes de ambos sistemas, como el cambio de color durante los días de exposición, no fueron consecuencia del cambio en el contenido de hierro hemo, ya que no hubieron diferencias significativas en su contenido (cuadro 6).

Cuadro 5. Valores de ΔL , ΔE y ΔH en el corte nalga de adentro de novillos Aberdeen Angus producidos en pasturas y en feedlot, durante su exposición en vitrina refrigerada

	Pastura			Feedlot		
	Día 3	Día 6	Día 9	Día 3	Día 6	Día 9
ΔL	-0,12	2,39	2,38	-3,34	-3,81	4,09
ΔE	5,93	14,06	15,92	9,62	15,87	17,13
ΔH	1,89	6,72	10,28	1,86	3,46	8,61

Resultados expresados como medias \pm error estándar de la media (SEM) de n=10.

4.6.2. Hierro hemo

El contenido de hierro hemo en la carne del corte estudiado, no mostró diferencias significativas entre los sistemas de producción a pasturas y feedlot (Cuadro 6). Esto concuerda con los trabajos de Gatellier et al. (2005) y de Insani et al. (2008) en los músculos LD y PM, respectivamente, de novillos alimentados con pasturas y con granos. El contenido de hierro hemo tampoco mostró diferencias entre los días de exposición (cuadro 6), aunque se esperaría observar un descenso en el contenido de Fe hemo a lo largo de los 9 días de exposición en vitrina refrigerada, ya que la carne exuda fluidos y se pueden perder hierro hemo y mioglobina (Purohit et al., 2015).

Cuadro 6: Contenido de hierro hemo (ppm) en la nalga de adentro de novillos Aberdeen Angus producidos en pasturas y en feedlot, durante su exposición en vitrina refrigerada.

	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9	<i>P</i>
Pastura	19,3 \pm 1,0	20,5 \pm 0,9	19,5 \pm 0,7	19,2 \pm 1,5	NS
Feedlot	20,2 \pm 1,4	20,5 \pm 2,5	21,0 \pm 2,8	19,3 \pm 2,8	NS
<i>P</i>	NS	NS	NS	NS	

Los resultados están expresados como medias \pm error estándar de la media (SEM) de n=6. *P*: significancia estadística; NS: no significativo.

4.6.3. Carotenoides y α -tocoferol

El contenido de β -caroteno (medido al día 0), fue significativamente mayor ($p < 0,0001$) en la carne de novillos alimentados a pasturas (6 veces más) que en la de feedlot (cuadro 7). Otros investigadores también encontraron valores superiores en la carne de bovinos alimentados a pasturas (Insani et al., 2008, Descalzo et al., 2005, Yang et al., 2002a, Simonne et al., 1996) que a granos. Esto se debe a que las concentraciones más elevadas de β -caroteno se encuentran en el pasto, legumbres y otras plantas verdes, mientras que las semillas y ensilaje de planta entera contienen generalmente pequeñas cantidades de vitaminas (Putnam y Comben, 1987). Los valores promedio de β -caroteno hallados en la carne tanto de novillos alimentados a pastura como en feedlot, fueron más elevados a los encontrados por Insani et al. (2008), Descalzo et al. (2005) y Yang et al. (2002a), en ambos sistemas de producción. Una explicación posible a esta diferencia podría ser las distintas regiones geográficas en donde fueron criados los animales, así como el tipo botánico, la calidad nutricional de las pasturas y de los concentrados ofrecidos a los animales.

Con respecto al contenido del otro carotenoide estudiado, la luteína, también medida al día 0, no se pudo observar diferencia significativa entre ambos sistemas de producción (cuadro 7). Como se mencionó anteriormente, la luteína puede proteger contra la degeneración macular relacionada con la edad y contra la aterosclerosis, y puede disminuir la predisposición al cáncer potenciando la función inmune (Wang et al., 2010), por lo que representa un carotenoide importante desde el punto de vista de la salud del consumidor. Hay que destacar que es la primera vez, en nuestro conocimiento, que se determina el contenido de β -caroteno y de luteína en la carne bovina uruguaya.

En relación al α -tocoferol, que también fue medido al día 0, se encontró un mayor contenido ($p < 0,05$) en la carne de animales alimentados con pasturas (2 veces más) que con granos (cuadro 7). Otros investigadores también encontraron este mismo resultado (Humada et al., 2014, De la Fuente et al., 2009, Descalzo et al., 2008, Insani et al., 2008, Descalzo et al., 2005, Realini et al., 2004, Yang et al., 2002a) en carne bovina, lo que puede ser explicado, por la mayor concentración de α -tocoferol en los tejidos de hojas verdes, comparado con los granos (Mercier et al.,

2004). Los valores promedio de α -tocoferol encontrados en el corte nalga de adentro de novillos Aberdeen Angus alimentados a pasturas, fueron levemente superiores a los reportados por Insani et al. (2008), pero similares a los hallados por De la Fuente et al. (2009), Descalzo et al. (2008), Descalzo et al. (2005), Realini et al. (2004) y Yang et al. (2002a). Los valores promedio de α -tocoferol encontrados en el corte nalga de adentro de novillos Aberdeen Angus alimentados en feedlot, fueron levemente superiores a los encontrados por Insani et al. (2008) y De la Fuente et al. (2009), similares a los hallados por Descalzo et al. (2008), Descalzo et al. (2005) y Yang et al. (2002a), pero inferiores a los de Realini et al. (2004). Las diferencias entre nuestros resultados y los de otros trabajos puede ser debida a las diferencias en composición en α -tocoferol de las pasturas y granos utilizados.

Cuadro 7. Contenido de β -caroteno, luteína y α -tocoferol en el corte nalga de adentro de novillos Aberdeen Angus producidos en pasturas y en feedlot.

	Pasturas	Feedlot	<i>P</i>
β -caroteno ($\mu\text{g/g}$ carne)	1,73 \pm 0,18 a	0,27 \pm 0,04 b	<0,0001
Luteína ($\mu\text{g/g}$ carne)	0,342 \pm 0,005	0,339 \pm 0,004	NS
α -tocoferol ($\mu\text{g/g}$ carne)	3,7 \pm 0,5 a	1,9 \pm 0,3 b	<0,05

Los resultados están expresados como medias \pm error estándar de la media (SEM) de n=6. Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas entre sistemas de producción ($p < 0,05$). *P*: significancia estadística; NS: no significativo.

4.6.4. Contenido total de lípidos y composición en ácidos grasos

El contenido total de lípidos en el corte estudiado fue mayor (más del doble) en la carne de novillos producidos en feedlot ($p < 0,0001$) comparado con la de novillos producidos a pastura (cuadro 8). Este es un resultado esperado, ya que con una alimentación a base de granos, se deposita generalmente, una mayor cantidad de grasa intramuscular en el animal, comparado con una dieta a base de pasturas (Daley et al., 2010).

En relación a los ácidos grasos presentes en la nalga de adentro, no se observaron diferencias significativas en el contenido de los ácidos grasos saturados

C12:0, C14:0, C16:0 y C18:0, y en los ácidos grasos oleico (C18:1), linoleico (C18:2 n-6), CLA, ARA, EPA y DPA. Se observó un menor contenido de ácido linolénico (C18:3 n-3) y de DHA en la carne del sistema feedlot, comparado con la carne del sistema pastura, lo cual es un aspecto negativo para el primer tipo de carne, desde el punto de vista de la salud del consumidor, ya que ambos ácidos grasos tienen efectos antitrombogénicos y son capaces de prevenir enfermedades cardiovasculares (Deckelbaum, 2010). Además se hallaron diferencias en el contenido de dos ácidos grasos poliinsaturados, el ácido dihomo- γ -linolénico (20:3 n-6) y el ácido eicosatrienoico (20:3 n-3), donde la nalga de adentro del sistema pastura presentó una mayor proporción de ambos, en comparación con el sistema feedlot.

No se observaron diferencias significativas entre sistemas de producción, en el contenido total de SAT, PUFA, n-6 y en la relación PUFA/SAT. El valor de la relación PUFA/SAT, en la carne de los dos sistemas de producción, fue menor a lo recomendado (0,45) por la FAO-WHO (2010). La recomendación de que el valor de la relación PUFA/SAT esté por encima de 0,45 es para prevenir, por un lado, el exceso de ácidos grasos saturados con un efecto negativo sobre el nivel de colesterol LDL en plasma, y un exceso de PUFA, algunos de los cuales son precursores de agentes coagulantes potentes y además involucrados en la etiología de algunos cánceres (Stajic et al., 2011). La carne de novillos producidos en feedlot presentó un mayor contenido total de MUFA ($p < 0,05$), lo cual es favorable para esta carne, desde el punto de vista de la salud del consumidor, pero presentó un menor contenido total de n-3 ($p < 0,001$) y una mayor relación n-6/n-3 ($p < 0,05$), que la carne de pasturas, lo que no es deseable desde el punto de vista de la salud. Esto último puede ser explicado porque los granos de maíz y de soja presentes en la dieta de los animales en feedlot, contienen más ácidos grasos omega-6 que ácidos grasos omega-3. En general, se espera que los animales alimentados con pasturas acumulen en la carne mayores cantidades de ácidos grasos n-3 que animales alimentados con granos (Humada et al., 2012, Daley et al., 2010), lo que concuerda con el presente trabajo. En el caso de la carne de feedlot, el valor de la relación n-6/n-3 fue bastante más alto ($11,18 \pm 3,96$) de lo recomendado por la FAO-WHO (2010), de 4/1 o 5/1, y supera el valor de 10, lo cual no es recomendable para la salud de los consumidores.

Con respecto a los índices aterogénico y trombogénico (Ulbricht y Southgate, 1991), no se obtuvieron diferencias entre los sistemas de producción.

Por lo tanto, la carne de novillos Aberdeen Angus producidos a base de pasturas presentaría ciertos beneficios para la salud del consumidor, comparado con la carne producida en el sistema feedlot.

Cuadro 8. Contenido de lípidos (%) y composición de ácidos grasos en el corte nalga de adentro de novillos Aberdeen Angus producidos a pastura y en feedlot.

	Pastura	Feedlot	P
% Lípidos	1,78±0,15	4,52±0,46	<0,0001
C12:0	0,13±0,04	0,08±0,03	NS
C14:0	3,46±0,71	3,10±0,85	NS
C15:0i	0,25±0,04	0,12±0,03	0,01
C15:0ai	0,26±0,03	0,17±0,04	NS
C14:1	0,60±0,12	0,59±0,17	NS
C15:0	0,72±0,10	0,51±0,11	NS
C16:0i	0,20±0,03	0,10±0,01	<0,05
C16:0	31,85±2,71	28,75±2,45	NS
C16:1	4,16±0,38	4,22±0,35	NS
C17:0	1,10±0,04	1,27±0,05	0,01
C17:1	0,74±0,24	0,94±0,07	NS
C18:0	12,12±1,25	12,53±1,08	NS
C18:1	34,46±2,91	41,53±2,57	NS
C18:2 n-6	2,84±0,36	3,07±0,22	NS
C20:1	0,13±0,04	0,21±0,08	NS
C18:3 n-3	0,61±0,04	0,18±0,03	0,001
CLA	0,31±0,03	0,31±0,09	NS
C20:3 n-3	0,14±0,04	0,03±0,01	0,01
C20:3 n-6	0,34±0,10	0,11±0,02	0,05
C20:4 n-6	0,30±0,12	0,21±0,06	NS
EPA n-3	0,04±0,05	0,01±0,01	NS
DPA n-3	0,13±0,08	0,04±0,02	NS
DHA n-3	0,41±0,06	0,08±0,07	<0,01
Otros	4,73±1,37	1,92±0,41
SAT	50,09±2,54	46,64±2,39	NS
MUFA	40,08±2,68	47,49±2,19	<0,05
PUFA	5,13±0,62	4,02±0,49	NS
Σn-6	3,79±0,41	3,69±0,37	NS
Σn-3	1,33±0,24	0,33±0,13	<0,001

n-6/n-3	2,85±0,35	11,18±3,96	<0,05
PUFA/SAT	0,10±0,02	0,09±0,02	NS
Índice aterogénico	1,02±0,19	0,81±0,15	NS
Índice trombogénico	1,82±0,24	1,67±0,19	NS

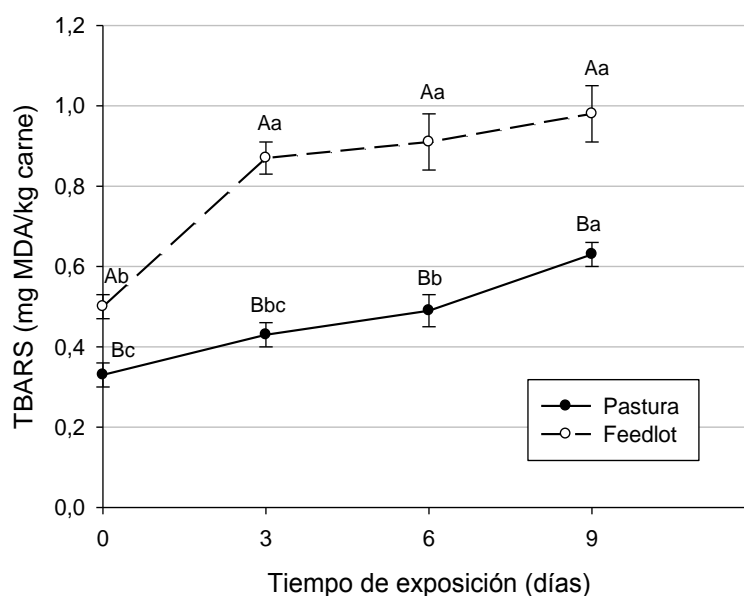
Los valores son medias \pm SEM (n=10). CLA: ácido linoleico conjugado; EPA: ácido eicosapentaenoico; DPA: ácido docosapentaenoico; DHA: ácido docosahexaenoico; SAT: ácidos grasos saturados (C12:0+C14:0+C15:0i+C15:0ai+C15:0+C16:0i+C16:0+C17:0+C18:0); MUFA: ácidos grasos monoinsaturados (C14:1+C16:1+C17:1+C18:1+C20:1); PUFA: ácidos grasos poliinsaturados (C18:2+C18:3+CLA+C20:3n3+C20:3n6+C20:4+EPA+DPA+DHA); n-6: (C18:2+CLA+C20:3+C20:4); n-3: (C18:3+C20:3+EPA+DPA+DHA); NS: no significativo; ai: anteiso; i: iso.

4.6.5. Oxidación de lípidos

En los resultados de la oxidación lipídica medida en la carne del corte nalga de adentro, expuesta en vitrina refrigerada, se encontró un efecto del sistema de producción ($p < 0,0001$), donde la carne de animales alimentados a pasturas presentó menores niveles de oxidación lipídica comparado con la carne de animales alimentados en feedlot (fig. 29). Este resultado concuerda con otros trabajos (Humada et al., 2014, Insani et al., 2008) en carne bovina expuesta en vitrina refrigerada. Este resultado podría ser explicado por una mayor resistencia a los procesos oxidativos gracias al mayor contenido de β -caroteno y de α -tocoferol encontrado en la carne de animales alimentados a pasturas, que estarían actuando como antioxidantes, favoreciendo un menor desarrollo de los procesos oxidativos en la carne de pasturas. Varios autores (Renerre, 2000, Arnold et al., 1993) han demostrado que la oxidación lipídica en la carne de rumiantes está influenciada por la composición en ácidos grasos y la concentración de α -tocoferol.

También se encontró un efecto del tiempo de exposición ($p < 0,0001$) en la carne envasada con film permeable al oxígeno, colocada en una vitrina refrigerada, donde se vio un aumento de la oxidación lipídica con los días. Este es un resultado esperable, ya que la luz artificial de la vitrina y el oxígeno presente en el aire, favorecen los procesos de oxidación en la carne (Insani et al., 2008). Este aumento de la oxidación lipídica con el tiempo de exposición también fue hallado en otros estudios en carne bovina refrigerada (Cho et al., 2015, Purohit et al., 2015, Insani et

al., 2008, Mitsumoto et al., 1998). Los valores de TBARS obtenidos en la carne producida en los sistemas pastura y feedlot siempre se mantuvieron, claramente, por debajo del límite sugerido de aceptabilidad de 2 mg MDA/kg carne, en el cual la rancidez puede ser detectada por los consumidores (Campo et al., 2006). Esta característica se observa inclusive hasta los 9 días de exposición, lo cual es un aspecto positivo, para la aceptabilidad de la carne. En la carne de animales alimentados a pasturas se vio un aumento significativo en la oxidación lipídica a partir del día 6 de exposición, y en la carne de animales alimentados en feedlot a partir del día 0 (ver fig. 29). Por lo que los procesos de oxidación lipídica aumentan antes en la carne de animales terminados a grano. Esto también fue observado en los trabajos de Humada et al. (2014) e Insani et al. (2008) en carne bovina refrigerada expuesta en vitrina.



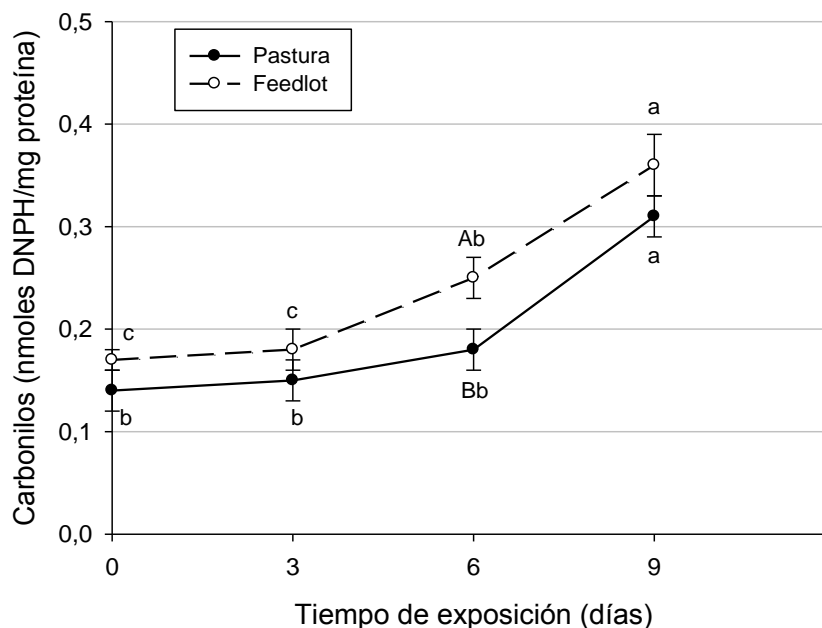
Efectos principales: Sistema: (p<0,0001) Feedlot > Pastura
 Día: (p<0,0001) día 9, día 6, día 3 > día 0; día 9 > día 3

Fig. 29. Oxidación lipídica durante la exposición en vitrina refrigerada del corte nalga de adentro de novillos Aberdeen Angus producidos en pasturas y en feedlot. Los valores son medias \pm SEM (n=10). Letras diferentes en mayúscula indican diferencias significativas entre sistemas en cada día de exposición (p<0.05). Letras distintas en minúscula indican diferencias significativas entre días de exposición en cada sistema de producción (p<0,05).

4.6.6. Oxidación de proteínas

Los niveles de oxidación proteica encontrados en el corte nalga de adentro, de novillos Aberdeen Angus en el sistema pastura, fueron menores que en el de novillos en sistema feedlot (efecto principal; $p < 0,01$) (fig. 30), durante los 9 días de exposición en vitrina refrigerada. Este mismo resultado fue encontrado en el músculo PM de novillos sometidos a exposición (Insani et al., 2008), y puede ser explicado por un mayor contenido de β -caroteno y α -tocoferol observados en la carne de novillos alimentados a pasturas, tal como se postuló para la oxidación lipídica.

También se encontró un efecto del tiempo de exposición ($p < 0,0001$), donde se vio un aumento de la oxidación proteica en la carne, con los días de exposición en vitrina refrigerada (fig. 30). En el trabajo de Insani et al. (2008) también se observó este aumento de los carbonilos proteicos desde el día 1 al día 9 de exposición en vitrina refrigerada, pero solamente en la carne de novillos producidos en feedlot y no en los de pastura. En la carne de novillos alimentados a pastura se vio un aumento significativo en los carbonilos proteicos a partir del día 6 de exposición, y en la de novillos alimentados en feedlot a partir del día 3 (fig. 30), por lo que los procesos de oxidación proteica aumentaron antes en la carne de animales terminados a grano. Esto podría deberse a la mayor protección antioxidante por parte de las vitaminas (β -caroteno y α -tocoferol) en la carne de animales alimentados a pasturas, que le estarían brindando protección por más tiempo. Si asumimos que el contenido de β -caroteno y de α -tocoferol va disminuyendo en la carne con el tiempo de exposición en vitrina refrigerada, como halló (Insani et al., 2008), los antioxidantes que interactúan con los productos de oxidación de los lípidos y proteínas son consumidos. Las diferencias en el nivel inicial y tasa de consumo del α -tocoferol y del β -caroteno, podrían explicar la diferencia en el progreso de la oxidación lipídica y proteica, observada en los dos tipos de carne (Insani et al., 2008).



Efectos principales: Sistema: ($p < 0,01$) Feedlot > Pastura
 Día: ($p < 0,0001$) día 9 > día 6, día 3, día 0; día 6 > día 0

Fig. 30. Oxidación proteica (carbonilos) durante la exposición en vitrina refrigerada del corte nalga de adentro, de novillos Aberdeen Angus, producidos en pasturas y en feedlot. Los valores son medias \pm SEM ($n=10$). Letras diferentes en mayúscula indican diferencias significativas entre sistemas en cada día de exposición ($p < 0,05$). Letras distintas en minúscula indican diferencias significativas entre días de exposición en cada sistema de producción ($p < 0,05$).

Durante la exposición de la carne en vitrina refrigerada, se pudo observar un aumento tanto de la oxidación lipídica como proteica a lo largo de los días, por lo que la luz de la vitrina y el oxígeno presente en el aire, estarían promoviendo el desarrollo de estos procesos, tal como se vio en los trabajos de investigación de Humada et al. (2014) e Insani et al. (2008). Además, al observar los gráficos de las figuras 29 y 30, se puede ver que el efecto del sistema de alimentación fue más marcado en los resultados de la oxidación lipídica que en los de la oxidación proteica en la carne. Esto puede deberse al diferente patrón de desarrollo de los procesos de oxidación lipídica y proteica. Mientras que la oxidación lipídica es un proceso irreversible y geométrico que produce la acumulación de productos oxidados, el nivel de proteínas oxidadas refleja el balance entre la tasa de oxidación proteica y la tasa de degradación de proteínas oxidadas. Este balance es un complejo

funcionamiento de numerosos factores que causan la generación de ROS o la modulación de proteasas que degradan proteínas dañadas (Berlett y Stadtman, 1997).

4.7. DISCUSIÓN GENERAL

A partir de los resultados obtenidos en esta tercera parte de la tesis, podemos concluir que, el tipo de sistema de alimentación de los novillos de la raza Aberdeen Angus, tuvo un gran efecto sobre la estabilidad oxidativa y del color en la carne del corte nalga de adentro (músculo principal *Semimembranosus*), al ser sometida a condiciones de vitrina refrigerada. El sistema de producción a base de pasturas le proporcionó a la carne una mayor estabilidad oxidativa y del color, lo que puede ser explicado por el mayor contenido de β -caroteno y de α -tocoferol hallado en esta carne, que le estaría brindando una mayor protección antioxidante, en comparación con la carne del sistema feedlot.

Como pudimos observar, cuando la carne es sometida a condiciones de venta en vitrina refrigerada, los procesos de oxidación tanto a nivel de lípidos como de proteínas, se ven incrementados antes en la que proviene de animales alimentados en feedlot. Además, los momentos en los que ocurren los mayores cambios en el color de la carne, parecen estar asociados a un aumento de los procesos oxidativos.

5. CONSIDERACIONES FINALES

Luego de la faena de los animales, los cortes seleccionados para esta investigación, tenían cierto estatus oxidativo, que fue diferencial o no, en cuanto al sistema de producción, según el corte. En el caso de la paleta, que es un corte del cuarto delantero, la carne fresca proveniente del sistema pastura más suplementación de granos presentó una mayor oxidación lipídica que la del sistema feedlot, y en cuanto a la oxidación proteica no se observaron diferencias entre los sistemas de producción. En la nalga de afuera, que es un corte del cuarto trasero, no se observaron diferencias entre sistemas, en la oxidación lipídica, pero si en la oxidación proteica donde la carne fresca del sistema pastura presentó un mayor nivel que la del sistema feedlot. En el corte bife angosto, que también pertenece al cuarto trasero, no se observaron diferencias en los niveles de oxidación lipídica y proteica entre sistemas de producción. Por lo que se nos hace difícil concluir, cual de los sistemas de producción/alimentación generaría una carne con menores niveles de oxidación, en estado fresco. Parecería ser que, en general, el sistema de producción no afecta a la oxidación proteica, en la carne fresca. Este punto es interesante de subrayar, ya que si bien los factores promotores de la oxidación afectan de forma similar a la carne, no se observa el mismo grado de alteración de los lípidos y de las proteínas. Este aspecto ha sido observado en otros trabajos (Insani et al., 2008, Mercier et al., 1995, Arnold et al., 1993). Probablemente, como ya se ha observado con los minerales en trabajos de nuestro grupo (Ramos et al., 2012), los músculos se comportan de forma distinta y es posible que frente a la oxidación pase lo mismo. Más estudios podrían mejorar nuestro conocimiento sobre los parámetros que determinan el comportamiento oxidativo de los músculos en esta raza y en otras.

De cualquier manera, los músculos parecen responder de forma diferente al ataque oxidativo de los radicales, aun cuando se considera la carne en su estado fresco. Es probable que la composición en los distintos nutrientes, y en particular los PUFA, pueda explicar tales diferencias, que se observaron en Gatellier et al. (2005). Sin embargo, una diferencia en la composición en PUFA, tendría mayores

consecuencias cuando se somete la carne a condiciones que favorecen la oxidación lipídica, como lo es la maduración (Insani et al., 2008).

Al estudiar el estatus oxidativo y antioxidativo en la carne madurada durante 14 días a 1-2 °C con envasado al vacío, obtuvimos diferencias entre los sistemas de producción, en los niveles de oxidación lipídica, solamente en el corte nalga de afuera, de los tres cortes estudiados en el capítulo 2, donde la carne del sistema pastura más suplemento presentó un mayor valor de TBARS comparado con los otros dos sistemas. Tal como se postuló en el párrafo anterior, es probable que esto responda al mayor contenido de PUFA observado en la nalga de afuera perteneciente a este sistema. En cuanto a los niveles de oxidación proteica en la carne madurada no se hallaron diferencias entre sistemas. Como se notó anteriormente, aquí también se observa una diferencia de respuesta a la oxidación de los lípidos y de las proteínas de la carne, frente a la maduración. El efecto de la maduración sobre la oxidación lipídica fue más marcado que sobre la oxidación proteica. Definitivamente, no se puede confirmar la interrelación entre la oxidación lipídica y la oxidación proteica como se postula generalmente (Faustman et al., 2010).

En relación a las enzimas antioxidantes, se observaron resultados diferentes según el corte. Se vio una mayor actividad de la enzima catalasa en la paleta del sistema pastura, comparado con los otros dos sistemas. Además se observó una mayor actividad de la SOD en el corte bife angosto del sistema feedlot que en el de pastura más suplemento, y una mayor actividad en la paleta del sistema pastura comparado con la de feedlot. En cuanto a la actividad de la GPx, se encontró un efecto del sistema de producción en los tres cortes evaluados del capítulo 2, donde la carne proveniente del sistema feedlot presentó una mayor actividad comparado con la de pastura. Con esta investigación se confirma el hecho, de que la carne de bovinos producida en feedlot presenta una mayor actividad de la enzima GPx, al igual que en otros trabajos publicados (Gatellier, et al., 2004, Mercier et al., 2004, Mouty et al., 2002, Descalzo et al., 2000).

Después de los 14 días de maduración, se pudo ver un aumento en los niveles de TBARS en los cortes bife angosto y nalga de afuera, y en el contenido de

carbonilos proteicos en los cortes nalga de afuera y paleta. Además, se pudo observar un aumento de la actividad de la enzima catalasa en el corte paleta, un aumento de la actividad de la SOD en los cortes nalga de afuera y paleta, y una disminución de la SOD en el corte bife angosto. También se observó una disminución de la actividad de la enzima GPx en los tres cortes.

En base al conjunto de resultados obtenidos en este trabajo, se puede concluir que globalmente la carne producida sobre pastura tiende a ser más resistente a la oxidación, en comparación con la carne producida en un sistema que asocia pastura y suplemento o en un sistema feedlot. Un punto suplementario en favor de esta conclusión se observó cuando evaluamos la capacidad antioxidativa de la carne de novillos Aberdeen Angus en el corte bife angosto fresco y madurado (14 días). Efectivamente, se pudo ver que la carne madurada de animales alimentados a pasturas presentó valores más bajos de oxidación durante todo el tiempo de incubación con hierro y peróxido de hidrógeno. Además se produjo un aumento significativo de los procesos oxidativos en la carne del sistema feedlot, antes que en la carne de los sistemas pastura más suplemento y pasturas durante el tiempo de incubación, en la carne madurada. Por lo que la carne de novillos alimentados a base de pasturas presenta una mayor protección antioxidante que la carne de los otros dos sistemas, para hacer frente a factores prooxidantes, como es la presencia de hierro y de peróxido de hidrógeno, y que se hace evidente cuando la carne sufre un proceso de maduración, ya que en la carne fresca no se observaron diferencias entre los sistemas.

Por otra parte, la suplementación con selenio en la dieta de bovinos (Capítulo 3), además de ser capaz de aumentar la actividad de la enzima GPx, como se vio en algunos trabajos (Daun et al., 2001, De Vore y Greene, 1982) y en el corte bife angosto del presente trabajo, también puede ser capaz de aumentar indirectamente la actividad de la enzima catalasa, como se observó en los cortes bife angosto y lomo estudiados en esta investigación. Actualmente no hay trabajos publicados que hayan estudiado una relación entre la actividad de la catalasa y la suplementación con Se en la carne.

Finalmente, el someter la carne a exposición en una vitrina refrigerada simulando condiciones comerciales, también supone una situación de agresión para la carne, debido a la incidencia de la luz artificial de la vitrina y a la presencia de oxígeno del ambiente. Se recuerda (Capítulo 4) que las carnes fueron envasadas con film permeable al oxígeno. En esta situación también se hallaron valores más bajos de oxidación en la carne de animales alimentados a pasturas. Este resultado puede ser explicado por el mayor contenido de vitaminas presentes en la carne, como la vitamina E y la vitamina A, que se detectaron en la carne de los animales producidos sobre pastura en este trabajo. Estas vitaminas provendrían de las pasturas que consumieron los animales. En este sentido, hay varios estudios realizados en otros países, donde también hallaron un mayor contenido de α -tocoferol (Humada et al., 2014, De la Fuente et al., 2009, Descalzo et al., 2008, Insani et al., 2008, Descalzo et al., 2005, Realini et al., 2004, Yang et al., 2002a) y de β -caroteno (Insani et al., 2008, Descalzo et al., 2005, Yang et al., 2002a, Simonne et al., 1996) en la carne de bovinos producidos a pasturas comparado con la de terminados a granos. Debido a esto, pudimos evidenciar que el sistema de producción a base de pasturas, en novillos de la raza Aberdeen Angus del Uruguay, podría ser ventajoso desde el punto de vista de la vida útil de la carne, comparado con el sistema de terminación a granos.

6. CONCLUSIONES

A raíz de este trabajo de Doctorado se concluye, que el sistema de producción/alimentación de novillos de la raza Aberdeen Angus en el Uruguay, tiene un efecto sobre los parámetros de oxidación y sobre la actividad de las enzimas antioxidantes presentes en la carne.

La suplementación con selenio en la dieta de novillos Aberdeen Angus producidos en feedlot, puede mejorar la estabilidad oxidativa de la carne.

Cuando la carne de novillos Aberdeen Angus es sometida a condiciones de vitrina refrigerada, la que proviene de un sistema de alimentación a pasturas, es más estable desde el punto de vista oxidativo y del color, comparado con la carne proveniente del sistema feedlot, debido a un mayor contenido de vitaminas brindado por las pasturas.

Los diferentes músculos de los animales bovinos pueden presentar respuestas diferentes, en cuanto a los parámetros oxidativos y antioxidativos, frente a distintas situaciones de manejo de la alimentación de los animales.

7. PERSPECTIVAS

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, nos proponemos seguir profundizando en el tema del efecto de los sistemas de producción del ganado bovino que se realizan en el Uruguay, sobre la calidad de la carne, evaluando y cuantificando otros parámetros oxidativos y antioxidativos, como péptidos antioxidantes y compuestos que se generan durante la oxidación lipídica y proteica.

También es de nuestro interés averiguar cual es el efecto que provoca la cocción, sobre los parámetros oxidativos, como la oxidación lipídica y proteica, y antioxidativos, como la actividad de las enzimas antioxidantes, contenido de vitaminas y péptidos antioxidantes de la carne, y si se obtienen diferencias entre los sistemas de producción una vez que la carne es cocinada y está lista para ser consumida.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aebi H. 1984. Catalase in vitro. In L. Packer (Ed), Oxygen radicals in biological systems. *Methods of Enzymology*. 105: 121-126.
- Alberro ML, Cabrera MC, Saadoun A. 2014. Meta-analysis of the effect of dietary selenium supplementation on glutathione peroxidase activity in poultry. En: International Congress of Meat Science and Technology (60th, 2014, Punta del Este, Uruguay). ICoMST Memories.
- Alessio HM, Goldfarb AH. 1988. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptive response to training. *Journal of Applied Physiology*. 64: 1333-1336.
- Armenteros M, Heinonen M, Ollilainen V, Toldrá F, Estévez M. 2009. Analysis of protein carbonyls in meat products by using the DNPH-method, fluorescence spectroscopy and liquid chromatography-electrospray ionisation-mass spectrometry (LC-ESI-MS). *Meat Science*. 83: 104-112.
- Arnold RN, Arp SC, Scheller KK, Williams SN, Schaefer DM. 1993. Tissue equilibration and subcellular distribution of vitamin E relative to myoglobin and lipid oxidation in displayed beef. *Journal of Animal Science*. 71: 105–118.
- Arnold RN, Scheller KK, Arp SC, Williams SN, Buege DR, Schaefer DM. 1992. Effect of long- or short-term feeding of α -tocopheryl acetate to Holstein and crossbred beef steers on performance, carcass characteristics, and beef colour stability. *Journal of Animal Science*. 70: 3055–3065.
- Battin EE, Brumaghim JL. 2009. Antioxidant activity of sulfur and selenium: a review of reactive oxygen species scavenging, glutathione peroxidase, and metal-binding antioxidant mechanisms. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 55: 1-23.
- Bauchart C, Rémond D, Chambon C, Patureau Mirand P, Savary-Auzeloux I, Reynés C, Morzel M. 2006. Small peptides (<5 kDa) found in ready-to-eat beef meat. *Meat Science*. 74: 658-666.

- Bennet LL, Hammon AC, Williams MJ, Kunkle WE, Johnson DD, Preston RL. 1995. Performance, carcass yield, and carcass quality characteristics of steers finished on rhizoma peanut-tropical grass pasture or concentrate. *Journal of Animal Science*. 73: 1881-1887.
- Berlett BS, Stadtman ER. 1997. Protein oxidation in aging, disease and oxidative stress. *The Journal of Biological Chemistry*. 272(33): 20313-20316.
- Bidner TD, Schupp AR, Mohamad AB, Rumore NC, Montgomery RE, Bagley CP. 1986. Acceptability of beef from Angus-Hereford or Angus-Hereford-Brahman steers finished on all-forage or a high energy diet. *Journal of Animal Science*. 63:381-387.
- Braghieri A, Cifuni GF, Girolami A, Riviezzi AM, Marsico I, Napolitano F. 2005. Chemical, physical and sensory properties of meat from pure and crossbred Podolian bulls at different ageing times. *Meat Science*. 69: 681-689.
- Buckley DJ, Morrissey PA, Gray JJ. 1995. Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. *Journal of Animal Science*. 73: 3122-3130.
- Cabrera MC, del Puerto M, Terevinto A, Saadoun A. 2015. Compuestos bioactivos de la carne. En: Congreso Uruguayo de Producción Animal (V, 2014, Montevideo, Uruguay). *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*. 23(5): 25-32.
- Cabrera MC, Ramos A, Saadoun A. 2013. Selenium, zinc, copper and manganese in fresh Angus steers meat from pastures to concentrated-based feeding systems in Uruguay. En: International Congress of Nutrition (20th, 2013, Granada, España). *Annals of Nutrition and Metabolism*. 63: 1528.
- Campo M, Nute G, Hughes S, Enser M, Wood J, Richardson R. 2006. Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Science*. 72: 303-311.
- Cattaneo D, Invernizzi G, Ferroni M, Agazzi A, Rebucci R, Baldi A, Dell'Orto V, Savoini G. 2008. Selenium and poultry products: nutritional and safety implications. *Impact of Pollution on Animal Products*. 133-141.

- 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*. 1773: 93-104.
- Chelh I, Gatellier P, Santé-Lhoutellier V. 2006. Technical note: a simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination. *Meat Science*. 74: 681-683.
- Cho S, Kang G, Seong P-N, Park B, Kang SM. 2015. Effect of slaughter age on the antioxidant enzyme activity, color, and oxidative stability of Korean Hanwoo (*Bos taurus coreanae*) cow beef. *Meat Science*. 108: 44-49.
- CIE (Commission Internationale de l'Eclairage). 1976. Recommendations on uniform color spaces-color difference equations, psychometric color terms. CIE Publication No. 15 (E-1.3.1.) 1978, 1971/ (TC-1-3). Supplement No. 2. Paris, France. Commission Internationale de l'Eclairage. 9-12.
- 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.
- Ciganda VS, Lizarralde C, Eguren G. 2015. Establecimientos de engorde de ganado bovino a corral o "feedlots". Cuantificación de su impacto sobre los recursos suelo y agua. *Revista INIA N° 41*. Uruguay. Editorial Aguila Comunicación y Marketing. 39-44.
- Daley CA, Abbott A, Doyle PS, Nader GA, Larson S. 2010. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutrition Journal*. 9: 10.
- Daly CC, Young OA, Graafhuis AE, Moorhead SM. 1999. Some effects of diet on beef and fat attributes. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 42: 338-347.
- Daun C, Åkesson B. 2004a. Comparison of glutathione peroxidase activity, and of total and soluble selenium content in two muscles from chicken, turkey, duck, ostrich and lamb. *Food Chemistry*. 85: 295-303.

- Daun C, Åkesson B. 2004b. Glutathione peroxidase activity, and content of total and soluble selenium in five bovine and porcine organs used in meat production. *Meat Science*. 66: 801-807.
- Daun C, Johansson M, Önning G, Åkesson B. 2001. Glutathione peroxidase activity, tissue and soluble selenium content in beef and pork in relation to meat ageing and pig RN phenotype. *Food Chemistry*. 73: 313-319.
- De la Fuente J, Díaz MT, Álvarez I, Oliver MA, Font i Furnols M, Sañudo C, Campo MM, Montossi F, Nute GR, Cañequé V. 2009. Fatty acid and vitamin E composition of intramuscular fat in cattle reared in different production systems. *Meat Science*. 82(3): 331-337.
- De Vore VR, Greene B. E. 1982. Glutathione peroxidase in post-rigor bovine semitendinosus muscle. *Journal of Food Science*. 47: 1406-1409.
- Deckelbaum RJ. 2010. n-6 and n-3 fatty acids and atherosclerosis. Ratios or amounts?. *Atherosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 30: 2325-2326.
- 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 produced 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.

- Descalzo AM, Insani EM, Eyherabide A, Guidi SM, Pensel NA. 2000. Antioxidant enzymes activity in *Psoas major* beef muscle from different production systems. En: International Congress of Meat Science and Technology (46th, 2000, Buenos Aires, Argentina). Proceedings of the ICoMST. 4II. 560-561.
- Dewhurst RJ, Scollan ND, Lee MRF, Ougham HJ, Humphreys MO. 2003. Forage breeding and management to increase the beneficial fatty acid content of ruminant products. Proceedings of the Nutrition Society. 62: 329-336.
- Dransfield E. 1994. Modelling post-mortem tenderization. Inactivation of calpains. Meat Science. 37:391-409.
- Dunne PG, Monahan FJ, Moloney AP. 2011. Current perspectives on the darker beef often reported from extensively-managed cattle: Does physical activity play a significant role?. Livestock Science. 142: 1-22.
- Dunne PG, O'Mara FP, Monahan FJ, Moloney AP. 2006. Changes in colour characteristics and pigmentation of subcutaneous adipose tissue and *M. longissimus dorsi* of heifers fed grass, grass silage or concentrate-based diets. Meat Science. 74: 231-241.
- Dunne PG, Monahan FJ, O'Mara FP, Moloney AP. 2005. Colour stability, under simulated retail display conditions, of *M. longissimus dorsi* and *M. semimembranosus* from steers given long-term daily exercise and supplemented with vitamin E. Meat Science. 71: 480-489.
- Estévez M. 2011. Protein carbonyls in meat systems: A review. Meat Science. 89: 259-279.
- FAO-WHO. 2010. Fats and fatty acids in human nutrition. Rome: FAO Food and nutrition paper # 91. Report of an expert consultation. Geneva, November 10-14, 2008.
- Faustman C, Sun Q, Mancini R, Suman SP. 2010. Myoglobin and lipid oxidation interactions: mechanistic bases and control. Meat Science. 86: 86-94.

- Filgueras RS, Gatellier P, Zambiasi RC, Santé-Lhoutellier V. 2011. Effect of frozen storage duration and cooking on physical and oxidative changes in *M. Gasctrocnemius* pars interna and *M. Iliofibularis* of rhea americana. *Meat Science*. 88: 645-651.
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*. 226: 497-509.
- García PT, Pensel NA, Margarí CA, Olga Rosso CM, Machado C. 1999. Intramuscular fat, cholesterol and 18:2 n-6/18:3 n-3 ratio in total lipids in two frame steers under different dietary regimen. En: *International Congress of Meat Science and Technology (45th, 1999, Yokohama, Japón)*. Proceedings of the ICoMST. 76-77.
- Gatellier P, Mercier Y, Juin H, Renerre M. 2005. Effect of finishing mode (pasture- or mixed diet) on lipid composition, colour stability and lipid oxidation in meat from Charolais cattle. *Meat Science*. 69: 175-186.
- 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.
- Geiger PG, Thomas JP, Girotti AW. 1991. Lethal damage to murine L1210 cells by exogenous lipid hydroperoxides protective role of glutathione-dependant selenoperoxidasas. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 288: 671.
- Graham JF, Bernaud E, Deland MPB. 2006. Sire and dam breed effects on fatty acid profiles in the *longissimus dorsi* muscle and subcutaneous fat of beef cattle. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 46(7): 913-919.
- Günzler A, Flohé L. 1985. Glutathione peroxidase. In R. A. Greenwald (Ed), *CRC handbook of methods for oxygen radical research*. 1: 285-290.
- Helmy MH, Ismail SS, Fayed H, El-Bassiouni EA. 2000. Effect of selenium supplementation on the activities of glutathione metabolizing enzymes in human hepatoma Hep G2 cell line. *Toxicology*. 144(1-3): 57-61.

- Hintze KJ, Lardy GP, Marchello MJ, Finley J. W. 2001. Areas with high concentrations of selenium in the soil and forage produce beef with enhanced concentrations of selenium. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 1062–1067.
- Hornsey HC. 1956. The colour of cooked cured pork. I-Estimation of the nitric oxide-haem pigments. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 7: 534-540.
- Humada MJ, Sañudo C, Serrano E. 2014. Chemical composition, vitamin E content, lipid oxidation, colour and cooking losses in meat from Tudanca bulls finished on semi-extensive or intensive systems and slaughtered at 12 or 14 months. *Meat Science*. 96: 908-915.
- Humada MJ, Serrano E, Sañudo C, Rolland DC, Dugan MER. 2012. Production system and slaughter age effects on intramuscular fatty acids from young Tudanca bulls. *Meat Science*. 90: 678–685.
- Ichihara K, Shibahara A, Yamamoto K, Nakayama T. 1996. An improved method for rapid analysis of the fatty acids of glycerolipids. *Lipids*. 31(5): 535-539.
- INAC (Instituto Nacional de Carnes). 2004. *Manual de Carnes Bovina y Ovina*. Uruguay. Empresa Gráfica Mosca. 46-61.
- 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.
- Jiang J, Xiong YL. 2016. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. *Meat Science*. 120: 107-117.
- Juniper DT, Phipps RH, Ramos-Morales E, Bertin G. 2009. Effects of dietary supplementation with selenium enriched yeast or sodium selenite on selenium tissue distribution and meat quality in lambs. *Animal Feed Science and Technology*. 149: 228-239.

- Karre L, Lopez K, Getty KJK. 2013. Natural antioxidants in meat and poultry products. *Meat Science*. 94: 220-227.
- Koprivnjak JF, Lum KR, Sisak MM, Saborowski R. 1996. Determination of α -, γ (+ β)-, and δ -tocopherols in a variety of liver tissues by reverse-phase high pressure liquid chromatography. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 113B: 143-148.
- Lamare M, Taylor RG, Farout L, Briand Y, Briand M. 2002. Changes in proteasome activity during postmortem 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.
- Laughlin MH, Simpson T, Sexton WL, Brown OR, Smith JK, Korthuis J. 1990. Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes, and exercise training. *Journal of Applied Physiology*. 68: 2337-2343.
- Lawrie RA. 1979. *Meat Science* (3rd Edition). New York, USA. Pergamon Press. 145.
- Lei XG, Dann HM, Ross DA, Cheng -H, Combs GF, Roneker KR. 1998. Dietary selenium supplementation is required to support full expression of three selenium-dependent glutathione peroxidases in various tissues of weanling pigs. *The Journal of Nutrition*. 128: 130-135.
- Leygonie C, Britz TJ, Hoffman LC. 2012. Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Science*. 91: 93-98.
- Liao SF, Brown KR, Stromberg AJ, Burris WR, Boling JA, Matthews JC. 2011. Dietary supplementation of selenium in inorganic and organic forms differentially and commonly alters blood and liver selenium concentrations and liver gene expression profiles of growing beef heifers. *Biological Trace Element Research*. 140: 151-169.

- Lin F, Thomas JP, Girotti AW. 1993. Hyperexpression of catalase in selenium-deprived murine L1210 cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 305: 176.
- 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.
- Lynch MP, Kerry JP, Buckley DJ, Faustman C, Morrissey PA. 1999. Effect of dietary vitamin E supplementation on the colour and lipid stability of fresh, frozen and vacuum-packaged beef. *Meat Science*. 52: 95-99.
- Lynch SM, Frei B. 1993. Mechanisms of copper- and iron-dependent oxidative modification of human low-density lipoprotein. *Journal of Lipid Research*. 34: 1745-1751.
- Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*. 47: 469-474.
- Matés JM, Pérez-Gómez C, Núñez de Castro I. 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*. 32: 595-603.
- Mercier Y, Gatellier P, Renerre M. 2004. Lipid and protein oxidation in vitro, and antioxidant potential in meat from Charolais cows finished on pasture or mixed diet. *Meat Science*. 66: 467-473.
- Mercier Y, Gatellier P, Renerre M. 1995. Relationships between lipid and protein oxidation in different beef muscles. En: *International Congress of Meat Science and Technology (41st, 1995, Texas, USA)*. Proceedings of the ICoMST. 562-563.
- MGAP (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca). 2015. Anuario Estadístico Agropecuario 2015. Montevideo, Uruguay. [En línea]. Consultado junio 2016. Disponible en <http://www2.mgap.gub.uy/DieaAnterior/Anuario2015/DIEA-Anuario2015-01web.pdf>

- Mitsumoto M, Ozawa S, Mitsuhashi T, Koide K. 1998. Effect of dietary vitamin E supplementation for one week before slaughter on drip, colour and lipid stability during display in Japanese Black steer beef. *Meat Science*. 49(2): 165-174.
- Monsón F, Sañudo C, Sierra I. 2005. Influence of breed and ageing time on the sensory meat quality and consumer acceptability in intensively reared beef. *Meat Science*. 71: 471–479.
- Morrisey PA, Sheehy PJA, Galvin K, Kerry JP, Buckley DJ. 1998. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science*. 49: 73-86.
- Mouty D, Durand D, Dozias D, Micol D, Ortigues-Marty I, Bauchart D. 2002. Lipoperoxidation et statut en antioxydants du plasma, du foie et des muscles de bouvillons engraisés avec un régime á base d'herbe. En: *Rencontres Recherche Ruminants* (8, 2002, Paris, Francia).
- Navarro-Alarcón M, Cabrera-Vique C. 2008. Selenium in food and the human body: A review. *Science of the total environment*. 400: 115-141.
- NCSS (Statistical Software). 2007. 329 North 1000 East, Kaysville, UT 84037, USA.
- NRC (Nutrient Requirements of Beef Cattle). 2000. USA. [En línea]. Consultado en marzo 2014. Disponible en: <http://www.nap.edu/openbook.php>
- Nuernberg K, Dannenberger D, Nuernberg G, Ender K, Voigt J, Scollan ND, Wood JD, Nute GR, Richardson RI. 2005. Effect of a grass-based and a concentrate feeding system on meat quality characteristics and fatty acid composition of *longissimus* muscle in different cattle breeds. *Livestock Production Science*. 94: 137-147.
- 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.

- O'Sullivan A, Galvin K, Moloney AP, Troy DJ, O'Sullivan K, Kerry JP. 2003. Effect of pre-slaughter rations of forage and/or concentrates on the composition and quality of retail packaged beef. *Meat Science*. 63: 279-286.
- 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.
- Papanikolaou G, Pantopoulos K. 2005. Iron metabolism and toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 202: 199–211.
- Ponnampalam, E. N., Plozza, T., Kerr, M. G., Linden, N., Mitchell, M., Bekhit, A. A., Jacobs, J. L., & Hopkins, D. L. 2017. Interaction of diet and long ageing period on lipid oxidation and colour stability of lamb meat. *Meat Science*, 129: 43-49.
- 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.
- Popova T. 2007. Effect of the rearing system on the fatty acid composition and oxidative stability of the *M. longissimus lumborum* and *M. semimembranosus* in lambs. *Small Ruminant Research*. 71: 150-157.
- Pouzo LB, Descalzo AM, Zaritzky NE, Rossetti L, Pavan E. 2016. Antioxidant status, lipid and color stability of aged beef from grazing steers supplemented with corn grain and increasing levels of flaxseed. *Meat Science*. 111: 1-8.
- Pradhan AA., Rhee KS, Hernández P. 2000. Stability of catalase and its potential role in lipid oxidation in meat. *Meat Science*. 54: 385-390.
- Purchas RW, Knight TW, Busboom JR. 2005. The effect of production system and age on concentrations of fatty acids in intramuscular fat of the *longissimus* and *triceps brachii* muscles of Angus-cross heifers. *Meat Science*. 70: 597-603.
- Purohit A, Singh R, Kerr W, Mohan A. 2015. Effects of heme and nonheme iron on meat quality characteristics during retail display and storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 9: 175:185.

- Putnam ME, Comben N. 1987. Vitamin E—review article. *Veterinary Record*. 121: 541–545.
- Ramos A, Cabrera MC, Saadoun A. 2012. Bioaccessibility of Se, Cu, Zn, Mn and Fe, and heme iron content in unaged and aged meat of Hereford and Braford steers fed pasture. *Meat Science*. 91: 116-124.
- Ramos A, Cabrera MC, del Puerto M, Saadoun A. 2009. Minerals, haem iron and non-haem iron contents of rhea meat. *Meat Science*. 81: 116-119.
- Razminowicz RH, Kreuzer M, Scheeder MRL. 2006. Quality of retail beef from two grass-based production systems in comparison with conventional beef. *Meat Science*. 73: 351–361.
- 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.
- Renerre M. 2000. Oxidative processes and myoglobin. In E. Decker, C. Faustman, & C. Lopez-Bote (Eds.). *Antioxidants in muscle foods*. New York. Wiley & Sons. 113–135.
- Renerre M, Dumont F, Gatellier P. 1996. Antioxidant enzyme activities in beef in relation to oxidation of lipid and myoglobin. *Meat Science*. 43: 111-121.
- Saadoun A, Cabrera MC. 2013. Calidad nutricional de la carne bovina producida en Uruguay. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, vol. 21(2): 119-130.
- 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.
- Sapp PH, Williams SE, McCann MA. 1998. Sensory attributes and retail display characteristics of pasture- and/or grain-fed beef aged 7, 14 or 21 days. *Journal of Food Quality*. 22: 257–274.

- SCAAU (Sociedad de Criadores de Aberdeen Angus del Uruguay). La raza. [En línea]. Consultado marzo 2016. Disponible en <http://angusuruguay.com/la-raza>
- SCAAU (Sociedad de Criadores de Aberdeen Angus del Uruguay). Programa. [En línea]. Consultado marzo 2016. Disponible en <http://angusuruguay.com/programa>
- Schroeder JW, Cramer DA, Bowling RA, Cook CW. 1980. Palatability, shelf-life and chemical differences between forage- and grain-finished beef. *Journal of Animal Science*. 50: 852–859.
- Seifried HE. 2003. The antioxidant conundrum in cancer. *Cancer Research*. 63: 4295-4298.
- Simonne AH, Green NR, Bransby DI. 1996. Consumer acceptability and β -carotene content of beef as related to cattle finishing diets. *Journal of Food Science*. 61: 1254–1280.
- Simopoulos AP. 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 56(8): 365-379.
- Skrivan M, Marounek M, Englmaierová M, Skrivanová E. 2012. Influence of dietary vitamin C and selenium, alone and in combination, on the composition and oxidative stability of meat of broilers. *Food Chemistry*. 130: 660-664.
- Spanier AM, McMillin KW, Miller JA. 1990. Enzyme activity levels in beef: Effect of postmortem ageing and end point cooking temperature. *Journal of Food Science*. 55: 318-326.
- Stajic S, Zivkovic D, Perunovic M, Sobajic S, Vranic D. 2011. Cholesterol content and atherogenicity of fermented sausages made of pork meat from various breeds. *Procedia Food Science*. 1: 568-575.
- Stoscheck CM. 1990. Quantitation of Protein. *Methods of Enzymology*. 182: 50-68.
- Subbaraj AK, Brad Kim YH, Fraser K, Farouk MM. 2016. A hydrophilic interaction liquid chromatography-mass spectrometry (HILIC-MS) based metabolomics study on colour stability of ovine meat. *Meat Science*. 117: 163-172.

- Terevinto A. 2010. Oxidación lipídica y proteica, capacidad antioxidativa 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 en Ciencias Agrarias. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía.
- Tiidus PM, Houston ME. 1994. Antioxidant and oxidative enzyme adaptations to vitamin E deprivation and training. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 26: 354-359.
- Ulbricht TL, Southgate DA. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*. 338: 985-992.
- Vestergaard M, Oksbjerg N, Henckel P. 2000. Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on muscle fibre characteristics and meat colour of *semitendinosus*, *longissimus dorsi* and *supraspinatus* muscles of young bulls. *Meat Science*. 54(2): 177-185.
- Walsh DM, Kennedy DG, Goodall EA, Kennedy S. 1993. Antioxidant enzyme activity in the muscles of calves depleted of vitamin E or selenium or both. *British Journal of Nutrition*. 70: 621-630.
- Wang Y, Illingworth DR, Connor SL, Duell B, Connor WE. 2010. Competitive inhibition of carotenoid transport and tissue concentrations by high dose supplements of lutein, zeaxanthin and beta-carotene. *European Journal of Nutrition*. 49: 327-336.
- Watts BM. 1962. Meat products. In A. Day & R. P. R. Simhulber (Eds.), *Symposium on food: lipids and their oxidation*. Westport: AVI Publ. Co. 202-219 pp.
- Wood JD, Enser M. 1997. Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. *British Journal of Nutrition*. 78: S49-S60.

- Yancey EJ, Grobbel JP, Dikeman ME, Smith JS, Hachmeister KA, Chambers IV EC, Gadgil P, Milliken GA, Dressler EA. 2006. Effects of total iron, myoglobin, hemoglobin, and lipid oxidation of uncooked muscles on livery flavor development and volatiles of cooked beef steaks. *Meat Science*. 73: 680-686.
- Yang A, Brewster MJ, Lanari MC, Tume RK. 2002a. Effect of vitamin E supplementation on α -tocopherol and β -carotene concentrations in tissue from pasture- and grain-fed cattle. *Meat Science*. 60: 35-40.
- Yang A, Lanari MC, Brewster M, Tume RK. 2002b. Lipid stability and meat colour of beef from pasture- and grain-fed cattle with or without vitamin E supplement. *Meat Science*. 60: 41-50.
- Yang A, Larsen TW, Tume RK. 1992. Carotenoid and retinol concentrations in serum, adipose tissue and liver and carotenoid transport in sheep, goats and cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*. 43: 1807–1809.
- Zaccari F, Cabrera MC, Ramos A, Saadoun A. 2015. *In vitro* bioaccessibility of β -carotene, Ca, Mg and Zn in landrace carrots (*Daucus carota*, L.). *Food Chemistry*. 166: 365-371.
- Zhang Y, Zhu S, Wang X, Wang C, Li F. 2011. The effect of dietary selenium levels on growth performance, antioxidant capacity and glutathione peroxidase 1 (GSHPx1) mRNA expression in growing meat rabbits. *Animal Feed and Technology*. 169: 259-264.

9. ANEXOS

9.1. ANEXO 1:

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Cuadro 1: Contenido de lípidos y composición en ácidos grasos del corte bife angosto	25
Cuadro 2: Contenido de lípidos y composición en ácidos grasos del corte nalga de afuera	39
Cuadro 3: Contenido de lípidos y composición en ácidos grasos del corte paleta	50
Cuadro 4: Composición de la dieta suministrada a novillos en feedlot del grupo control (sin Se) y del grupo experimental (con Se)	67
Cuadro 5: Resultados del ΔL , ΔE y ΔH en el corte nalga de adentro durante exposición en vitrina refrigerada	93
Cuadro 6: Contenido de hierro hemo en el corte nalga de adentro durante exposición en vitrina refrigerada	93
Cuadro 7: Contenido de carotenoides y α -tocoferol en el corte nalga de adentro.....	95
Cuadro 8: Contenido total de lípidos y composición en ácidos grasos del corte nalga de adentro.....	97
Figura 1: Ejemplar de la raza Aberdeen Angus	2
Figura 2: Cortes utilizados en el capítulo 2 y su correspondiente ubicación anatómica	15
Figura 3: Gráfico de oxidación lipídica en el corte bife angosto	27
Figura 4: Gráfico de oxidación proteica en el corte bife angosto	29
Figura 5: Gráfico de la oxidación inducida en el corte bife angosto	31
Figura 6: Gráfico de la actividad de catalasa en el corte bife angosto	33
Figura 7: Gráfico de la actividad de la SOD en el corte bife angosto	35
Figura 8: Gráfico de la actividad de GPx en el corte bife angosto	37
Figura 9: Gráfico de oxidación lipídica en el corte nalga de afuera	41
Figura 10: Gráfico de oxidación proteica en el corte nalga de afuera	42

Figura 11: Gráfico de la actividad de catalasa en el corte nalga de afuera	44
Figura 12: Gráfico de la actividad de SOD en el corte nalga de afuera	46
Figura 13: Gráfico de la actividad de GPx en el corte nalga de afuera	48
Figura 14: Gráfico de oxidación lipídica en el corte paleta	52
Figura 15: Gráfico de oxidación proteica en el corte paleta	53
Figura 16: Gráfico de la actividad de catalasa en el corte paleta	55
Figura 17: Gráfico de la actividad de la SOD en el corte paleta	58
Figura 18: Gráfico de la actividad de GPx en el corte paleta	60
Figura 19: Cortes utilizados en el capítulo 3 y su correspondiente ubicación anatómica	66
Figura 20: Gráfico de oxidación lipídica en los cortes bife angosto y lomo	70
Figura 21: Gráfico de oxidación proteica en los cortes bife angosto y lomo	71
Figura 22: Gráfico de la actividad de catalasa en los cortes bife angosto y lomo	73
Figura 23: Gráfico de la actividad de SOD en los cortes bife angosto y lomo ...	75
Figura 24: Gráfico de la actividad de GPx en los cortes bife angosto y lomo	77
Figura 25: Corte utilizado en el capítulo 4 y su correspondiente ubicación anatómica	83
Figura 26: Gráfico de los parámetros de color L, a, b en el corte nalga de adentro durante exposición en vitrina refrigerada	89
Figura 27: Gráfico del ángulo de hue en el corte nalga de adentro durante exposición en vitrina refrigerada	90
Figura 28: Gráfico de Chroma en el corte nalga de adentro durante exposición en vitrina refrigerada	91
Figura 29: Gráfico de oxidación lipídica en el corte nalga de adentro durante exposición en vitrina refrigerada	99
Figura 30: Gráfico de oxidación proteica en el corte nalga de adentro durante exposición en vitrina refrigerada.....	101

9.2. ANEXO 2:

ABREVIATURAS

AA – aminoácidos	µmoles – micromoles
ADP – adenosín difosfato	ml – mililitros
ANOVA – análisis normal de varianza	mM - milimolar
ATP – adenosín trifosfato	Mn – manganeso
BHT – butil hidroxitolueno	MUFA – ácidos grasos monoinsaturados
BSA – seroalbúmina bovina	NADPH – nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
Ca – calcio	nmoles – nanomoles
CLA – ácido linoleico conjugado	NS – no significativo
Cu – cobre	O ₂ – oxígeno
DHA – ácido docosahexaenoico	O ₂ ^{•-} - radical anión superóxido
DNPH – dinitrofenilhidrazina	°C – grados Celsius
DPA – ácido docosapentaenoico	OH [•] – radical hidroxilo
EDTA – ácido etilendiaminotetracético	P - pastura
EPA – ácido eicosapentaenoico	P+S – pastura más suplemento
F - feedlot	PL - fosfolípidos
FAMEs – ésteres metílicos de ácidos grasos	PM – <i>Psoas major</i>
Fe – hierro	pmoles – picomoles
g – gramo	PUFA – ácidos grasos poliinsaturados
GLM – modelo general lineal	RH – ácido graso
GM – <i>Gluteus medius</i>	R [•] - radical con carbono central
GPx – glutatión peroxidasa	RO [•] - radical alcoxilo
GSH – glutatión reducido	ROOH – hidroperóxidos
GSSG – glutatión oxidado	ROO [•] - radical peroxilo
H ₂ O – agua	ROS – especies reactivas al oxígeno
H ₂ O ₂ – peróxido de hidrogeno	rpm – revoluciones por minuto
HCl – ácido clorhídrico	SAT – ácidos grasos saturados
HPLC – high performance liquid chromatography	Se – selenio
IN – <i>Infraspinus</i>	SEM – error estándar de la media
INAC – Instituto Nacional de Carnes	SM - <i>Semimembranosus</i>
KCl – cloruro de potasio	SOD – superóxido dismutasa
kg – kilogramo	ST – <i>Semitendinosus</i>
KH ₂ PO ₄ – fosfato de potasio monobásico	TBA – ácido tiobarbitúrico
LD – <i>Longissimus dorsi</i>	TBARS – especies reactivas al ácido tiobarbitúrico
LL – <i>Longissimus lumborum</i>	TCA – ácido tricloroacético
MDA – malondialdehído	ton - toneladas
Mg – magnesio	UI – unidades de inhibición
mg – miligramos	Zn – zinc
min – minutos	µg – microgramo
	µl – microlitro

9.3. ANEXO 3:

Journal of Food and Nutrition Research, 2015, Vol. 3, No. 9, 581-586
 Available online at <http://pubs.sciepub.com/jfnr/3/9/4>
 © Science and Education Publishing
 DOI:10.12691/jfnr-3-9-4



Influence of Feeding System on Lipids and Proteins Oxidation, and Antioxidant Enzymes Activities of Meat from Aberdeen Angus Steers

A. Terevinto¹, M.C. Cabrera^{1,2}, A. Saadoun^{2,*}

¹Dpto Producción Animal & Pasturas, Laboratorio Calidad de Alimentos, Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Av. Garzón 809. Montevideo, Uruguay.

²Fisiología & Nutrición, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Calle Iguá 4225. Montevideo, Uruguay

*Corresponding author: asaadoun@fcien.edu.uy

Abstract Three feeding system were investigated to determine if any of them is more suitable to ensure a better antioxidant protection to meat. Animals were produced on pasture, pasture supplemented with corn grain, or feedlot. TBARS, protein carbonyls and antioxidant enzyme activities have been determined in fresh ad aged meat from *Biceps femoris* of Aberdeen Angus steers. No feeding system showed clear protection against lipids and protein oxidation in fresh meat. However, aged meat suffer always lipids and protein oxidation independently of the feeding system. There is not a clear pattern of the action of the catalase antioxidant enzyme (no significant main effect). However, pasture based feeding system present a lower SOD (0.96 UI) and GPx (9.22 nmoles/min/mg protein) activity, versus feedlot (1.12 UI and 11.48 nmoles/min/mg protein, respectively). Based on the results of the present investigation, it seems difficult to conclude about the best feeding system advised to minimize the lipids and protein oxidation of meat.

Keywords: *F. Aberdeen angus, meat, TBARS, protein carbonyls, catalase, SOD, GPx, pasture, feedlot*

Cite This Article: A. Terevinto, M.C. Cabrera, and A. Saadoun, "Influence of Feeding System on Lipids and Proteins Oxidation, and Antioxidant Enzymes Activities of Meat from Aberdeen Angus Steers." *Journal of Food and Nutrition Research*, vol. 3, no. 9 (2015): 581-586. doi: 10.12691/jfnr-3-9-4.

1. Introduction

Meat production implies a complex process, which consist mainly in the slaughtering of animal, the carcass cooling, cutting-up and the rapid chilling of the different meat cut for their preparation to be sold locally or exported. After that, depending of the cut and the destination market, the meat is aged during 14-60 days. The ageing process consisted in the maintaining of the different meat cuts in vacuum-packaged atmosphere and temperature between 1-2 °C in the dark. The ageing is generally done as a way to improve the tenderness and most of the sensorial parameters to ensure the acceptability of meat by consumers [1]. During all these processes meat are sensitive to environmental factor like oxygen, light and all the handling conditions. This may result to oxidative damage of the meat that reduces the oxidative stability, quality and value of the product [2]. Particularly if it is destined for a supplementary industrial transformation process

The oxidation damage is the most important non-microbial factor that affects the conservation of meat and meat product. Oxidation induces modifications of muscle lipids and proteins and, therefore, affects the organoleptic and nutritional properties of meat and meat products [3]. Stressors arising from both internal and external sources

initiate lipid oxidation in muscle foods. The most important stressors are the reactive oxygen species (ROS) including free radicals and peroxides. For example, during handling, processing and cold storage of fresh meat, released endogenous iron is partially responsible for the catalysis of lipid oxidation [4]. Protein oxidation is responsible for many biological modifications as protein fragmentation or aggregation and decrease in protein solubility affect the quality of meat and meat products that have to be forwarded to the restoration industry [5].

Fortunately, the physiology of animals presents endogenously an efficient biological system to protect tissue from the oxidative damage. The antioxidant enzymes including super oxide dismutase (SOD), catalase and glutathione peroxidase (GPX) constitute the primary mechanism for protecting cells from oxidative damage *in vivo*. SOD scavenges superoxide anion by forming hydrogen peroxide and catalase safely decomposes hydrogen peroxide to water and O₂. GPx can decompose both hydrogen peroxide and lipoperoxides formed during lipid oxidation. These antioxidant enzymes are relatively stable in meat during refrigerated storage [6]. A second line of defence consisted in the presence of nutrients obtained from the food, the main of them are vitamins, particularly E, and antioxidant peptides. All of them cooperate with the antioxidant enzymes to minimize the damaging effect of oxidation.

In consequence, is of considerable importance to explore the parameters that modulate the action of the oxidation resulting in meat during its handling and conservation. One of the possible way is through the study of the effect of the different feeding system. According to this point, in the present work, the three feeding system used worldwide to produce meat, pasture, pasture and supplementation and feedlot, were compared about their effect on the lipids and protein oxidation of *Biceps femoris* muscle as biological model. Furthermore, the activities of the antioxidant enzymes including catalase, SOD and GPx, the first line of antioxidant defence, were determined.

2. Materials and Methods

2.1. Animal Diets, Samples and Chemicals

A group of 30 Aberdeen Angus steers (mean live weight 493 ± 28 kg) was divided up into three smaller groups. One for each feeding system: 1) *Pasture* group with animals produced on natural and improved pastures, 2) *Pasture + Supplement* group with animals fed natural and improved pasture and supplemented ad libitum with corn grain the last month before slaughtering, 3) *Feedlot* with animals fed a diet with roughage to concentrate ratio of 30:60 (on dry matter basis) for 90 days. Roughage consisted of whole plant sorghum silage and silo wet grain sorghum. The concentrate consisted by soybean hulls and wheat bran. Animals were slaughtered with 24-30 months of age and the *Biceps femoris* muscle was removed from each left half carcass. Each muscle (approximately 1000 g) was divided in two pieces, one was vacuum packaged, and aged for 14 days at 1-2 °C and then frozen at -20 °C. The other piece was directly frozen at -20 °C, until further analysis. All chemicals used in the investigation are in analytical grade from Sigma chemicals Co (St Louis, USA). Ethyl acetate (Hplc grade), ethanol (Hplc grade), Butanol (Hplc grade) Trichloroacetic acid (analytical grade) and HCl (analytical grade) were from Merck Corporation (USA).

2.2. Determination of Lipid Oxidation

Samples (n=10) of 10 g frozen meat were homogenized in a Waring-Blender (Fisher Inc. USA) with 200 ml of an extraction buffer (0.15 M KCl, 0.02 M EDTA and 0.30 M BHT) at 12,000 rpm for 1 minute. Part of the homogenated was frozen (-20° C for carbonyl and protein content assays, and part was used for the TBARS (thiobarbituric acid reactive species) test. The TBARS procedure for the determination of lipid oxidation was done according to [6-7]. Briefly, the homogenated was centrifuged at 2000 g at 4 °C for 10 minutes (Thermo Scientific Inc. USA), and 1 ml of the supernatant was incubated with 1 ml of a 2-thiobarbituric acid (TBA)-trichloroacetic acid (TCA) solution (35 mM TBA and 10% TCA in 125 mM HCl) in a boiling water bath (Fisher Inc. USA) for 30 min. After cooling in ice for 5 min and kept at room temperature for 45 min, the pink chromogen was extracted with 4 ml of n-butanol and phase separation done by centrifugation at 3000 g during 10 min (Sorvall ST16-R, USA). The absorbance of the supernatant was measured at 535 nm in a Genesys-6 spectrophotometer (Thermo Scientific Inc. USA). The concentration of

malondialdehyde (MDA) was calculated using the molar extinction coefficient of the MDA (156,000 M⁻¹ cm⁻¹). Results were expressed as mg MDA/kg of fresh meat.

2.3. Determination of Protein Oxidation

The protein oxidation level was determined by the carbonyl protein assay [5]. The homogenate samples (n=10), frozen one day before, were thawed at room temperature. Two aliquots of 2 ml from each sample were put into two different tubes. These tubes were centrifuged at 2000 g for 10 min (Sorvall ST16-R, USA). One was incubated with 2 ml of 2 M HCl (blank) and the other one with 2 ml of 0.02 M dinitrophenylhydrazine (DNPH) in 2 M HCl, for one hour at room temperature with regular stirring. Then, 2 ml of 20 % TCA was added. After stirring, the mixture was left at room temperature for 15 min with regular stirring. The tubes were centrifuged at 2000 g for 10 min (Sorvall ST16-R, USA). The pellets were washed three times with 4 ml of ethanol:ethyl acetate (1:1), centrifuging each time, to eliminate traces of DNPH. The pellets were dissolved in 6 ml of 6 M guanidine HCl with 0.02 M KH₂PO₄ (pH 6.5). The tubes were incubated at room temperature for 15 min with regular stirring. Afterwards, they were centrifuged at 2400 g for 10 min. The absorbance of the supernatant was measured at 370 nm in a Genesys-6 spectrophotometer (Thermo Scientific Inc. USA) and the concentration of DNPH was calculated using the DNPH molar extinction coefficient (22,000 M⁻¹ cm⁻¹). Results were expressed as nmoles of DNPH/mg of protein. Protein content was determined at 280 nm in the extraction buffer using bovine serum albumin (BSA) as protein standard [8].

2.4. Determination of Antioxidant Enzyme Activities

A 18 g frozen sample (n=10) was homogenized in a Waring-Blender (Fisher Inc. USA) with 200 ml of an extraction buffer containing 0.15 M KCl and 0.79 M EDTA (pH 7.4) for 1 min at 12,000 rpm. The homogenate was centrifuged at 9000 g at 4 °C for 10 min (Sorvall ST16-R, USA). The supernatant was used for the determination of catalase and SOD activities.

The activity of catalase was measured recording the H₂O₂ disappearance by the decrease in absorbance at 240 nm during 3.5 min using a Genesys-6 spectrophotometer (Thermo Scientific Inc. USA). The incubation mixture contained 2820 µl of the extraction buffer, 90 µl of the supernatant and 90 µl of H₂O₂ 0.2 M. The activity was calculated using the molar extinction coefficient of H₂O₂ (39.4 M⁻¹ cm⁻¹) and results were expressed as µmoles of decomposed H₂O₂ min/g fresh meat and as nmoles of decomposed H₂O₂ min/mg protein [9].

Total SOD activity was determined by measuring the inhibition of pyrogallol autoxidation [6,7,8,9,10]. The incubation mixture contained 2850 µl of 50 mM phosphate buffer (pH 8.2), 75 µl of the supernatant and 75 µl of 10 mM pyrogallol. The increase in absorbance at 340 nm was recorded during 2 min in a Genesys-6 spectrophotometer (Thermo Scientific Inc. USA). One unit (U) was taken as the activity that inhibits the reaction by 50%, and results were expressed as U and U/g fresh meat.

For the determination of GPx activity, 5 g meat sample (n=10) were homogenized with an Ultra Turrax T18 (IKA-Werke, Germany) with 25 ml of 50 mM KH₂PO₄ buffer and 0.5 mM EDTA (pH 7.0) for 1 min at 18,000 rpm. The homogenate was centrifuged at 2000 g for 2 min at 4 °C and then the supernatant was filtered. The assay mixture contained 50 mM KH₂PO₄ buffer, 0.5 mM EDTA, 1 mM reduced glutathione (Sigma G4251), 0.15 mM NADPH (Sigma N1630), 1.5 U glutathione reductase (Sigma G3664), 0.15 mM H₂O₂ and 1 mM NaN₃ (Sigma S-2002). The incubation mixture contained 1980 µl of the assay mixture and 20 µl of the filtered sample. The activity of GPx was measured at 22 °C recording the oxidation of NADPH by the decrease in absorbance of the incubation mixture at 340 nm during 3 min using a Genesys-6 spectrophotometer (Thermo Inc.). An extinction coefficient of 6300 M⁻¹ cm⁻¹ was used to calculate NADPH concentration [11-12]. The GPx activity was expressed as µmoles of oxidized NADPH/min/g of fresh meat and as nmoles of oxidized NADPH/min/mg protein.

2.5. Statistical Analysis

The data of TBARS, lipid content, carbonyl content, catalase, SOD and GPx activities, are reported as mean ± standard error of the media for fresh and aged meat in the three feeding systems. To evaluate feeding system and ageing effects, an analysis of variance using the GLM procedure was followed and *post hoc* Tukey-Kramer test. The three systems were also compared using a one-way ANOVA followed by the Tukey-Kramer multiple comparison test, for fresh or for aged meat. Fresh and aged meat results were compared using the *t*-Student test. The level of significance was established at P < 0.05, and the software used was the NCSS, 2007 (NCSS, 329 North 1000 East, Kaysville, UT 84037).

3. Results and Discussion

3.1. Lipid Oxidation

No feeding system main effect was found for lipids oxidation when fresh meat is considered. This is not in accordance with two reports one by using the *Longissimus dorsi* muscle from Charolais steers (less than 36 months) finished exclusively with grass or fed mixed food consisting in maize silage and hay [13]. The other used *Psoas major* muscle from crossbreed animals [4] fed exclusively pasture or on feedlot system (fed grain and hay). The two reports conclude that feeding animals fed pasture have better lipids stability when compared to other ones supplemented with grain. This discrepancy between the two report and the present investigation could be due to the difference in the breed, Aberdeen Angus here versus Charolais and crossbreed in the first report and the second one, respectively. Also the observed difference could be accounted for the muscle difference, *Longissimus muscle* and *Psoas major* versus *Biceps femoris* in the present investigation. However, there is not sufficient data in the literature to conclude about this point.

However, in a recent report using the *Longissimus thoracis* muscle of Aberdeen Angus steers, fed pasture and supplemented with flaxseed, the results showed that the

level of TBARS is not different between control no supplemented and supplemented animals [14]. This last report is in accord with the observation of the present investigation. Furthermore, when the total intramuscular lipids content (the main target of the oxidation process) was considered, it is interesting to note that the Feedlot group have slightly but significantly more intramuscular lipids in comparison to the other two group (Table 1). In one report [4], the intramuscular lipids, of the feedlot group (grain and hays) showed a much more difference with the pasture group, 4.7 % and 2.7 % for feedlot and pasture, respectively. This difference in intramuscular lipids content between the two studies perhaps could explain the higher level in TBARS in the feedlot group presented in the investigation [4]. Unfortunately, no data about the intramuscular lipids are available to compare in the other two reports [13,14].

For ageing process, to the contrary, there is a significant main effect of ageing process (P<0.01) on the lipids oxidation. Indeed, aged meat suffered a significant lipids oxidation, in spite of the vacuum packaging and the chilling expected to minimize the oxidation. This is much more evident for the system feeding with pasture and supplement (P<0.05) in comparison to the other two systems (Figure 1). May be this higher lipid oxidation could be explained by the use of corn grain in the supplemented group. Corn grain is rich with polyunsaturated fatty acids, a target of oxidation. Nevertheless, the lipids content of meat from this feeding system showed a lower level (Table 1). A similar conclusion has been proposed in the investigation that which used corn grain (with and without flaxseed) to supplement the animals in their investigation [15].

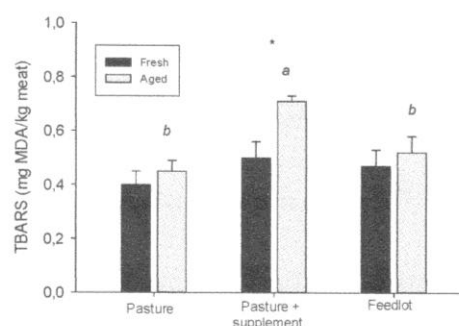


Figure 1. Lipid oxidation (TBARS, mg MDA/kg of meat) in fresh and aged *Biceps femoris* muscle in steers from pasture, pasture and supplement and feedlot based feeding systems. Data are mean ± SEM (n=10). Different lower letters means statistical significance among systems for aged meat (P<0.05). *shows statistical difference between fresh and aged meat (P<0.05). Main effects: Feeding system: No Significant Ageing: (P<0.01) Aged > Fresh

Table 1. Lipids content (%) in *Biceps femoris* muscle of Aberdeen Angus steers from pasture, pasture and supplement and feedlot based feeding systems

Feeding system	Lipids (%)
Pasture	1.51 ± 0.15 b
Pasture + supplement	1.13 ± 0.09 b
Feedlot	1.80 ± 0.18 a
Signification	P<0.01

Data are mean ±SEM. Different lower letters means significant differences among feeding systems by ANOVA and Tukey test (P<0.05).

There is limited information about the effect of ageing in meat quality in the scientific literature. Since the ageing process is a valuable process to improve meat quality, like tenderness, more investigation about this point is needed to resolve the particular effect of breed, types of muscles and the influence of the different diet.

3.2. Protein Oxidation

The effect of the different feeding system on the protein oxidation, as measured by carbonyl groups, was illustrated in Figure 2. There is a significant main effect of the feeding system. The fresh meat from pasture system showed a more protein oxidation effect when compared to the other two systems. This is particularly true when pasture system is compared to the feedlot system (Figure 2). Even though it is accepted that the protein oxidation is linked to lipid oxidation in beef meat, it does not have to be a similar pattern [5]. Is the case in the present experiment.

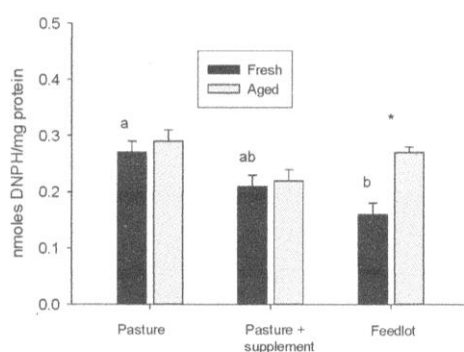


Figure 2. Carbonyls protein (nmols DNPH/mg protein) in fresh and aged *Biceps femoris* muscle in steers from pasture, pasture and supplement, and feedlot feeding systems. Data are mean ± SEM (n=10). Different lower letters means statistical significance among feeding systems for fresh meat ($P < 0.05$). *shows significant difference between fresh and aged meat ($P < 0.05$). Main effects: Feeding systems ($P < 0.01$). Pasture > Pasture + supplement, Feedlot. Ageing: ($P < 0.01$) Aged > Fresh

Furthermore, the pasture system showed a higher effect on the protein oxidation ($P < 0.05$) when compared to the feedlot system. This is an unexpected result, because generally it is observed that the animals fed pasture present no difference or a lower effect when compared with animals fed grain in a feedlot system [5]. We have to note again some differences between the investigations of Mercier [5] with the present study. The muscles are different, *Longissimus dorsi* versus *Biceps femoris*, and the breed and the sex too, Charolais cows versus Aberdeen Angus steers. The relation between protein oxidation and meat quality received little attention from meat scientist, thus more investigation is needed.

3.3. Antioxidant Enzyme Activities

3.3.1. Catalase

Catalase activity did not shows any effect of fed system nor ageing process as illustrated in Figure 3 and Figure 4. The same result is obtained when the enzyme activity is

expressed by g of fresh meat and by mg of total protein. The expression of the enzymes activity by g of fresh meat and by mg of protein contained in the extraction media, exclude any biased observation due to the extraction methods. Interestingly, the no effect of feeding system observed here is in agreement with three different studies in steers [5,6], and [16].

Apparently, the activity of catalase as antioxidant enzymes seems to be associated with older animals fed n-3 rich sources [6]. Pasture is generally considered as rich n-3 sources, then there is no easy to conclude here about the no apparent effect of catalase when the three feeding system are compared.

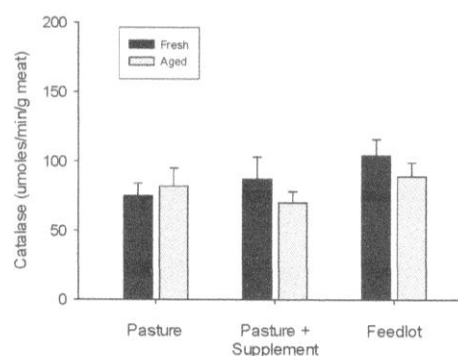


Figure 3. Catalase activity (umoles/min/g meat) in fresh and aged *Biceps femoris* muscle of steers from pasture, pasture and supplement and feedlot based feeding systems. Data are mean ± SEM (n=10). Main effects: Feeding systems: No Significant Ageing: No Significant

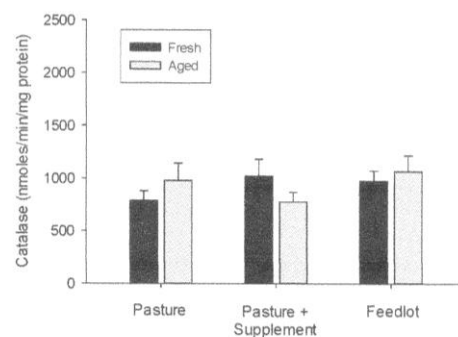


Figure 4. Catalase activity (nmols/min/mg protein) in fresh and aged *Biceps femoris* muscle of steers from pasture, pasture and supplement, and feedlot based feeding systems. Main effects: Feeding system: No Significant. Ageing: No Significant

3.3.2. Superoxide Dismutase (SOD)

SOD is an enzyme which present an activity coupled with the catalase. At least to the biochemical and functional view point. However, that association is not observed in the present investigation, since the response of SOD and catalase are very different within the same experimental design. There are a significant main effect for the feeding system for SOD in fresh meat (Figure 5 and Figure 6). Indeed, pasture feeding system seems to have a lower activity in SOD when compared to the other

two feeding systems. However, two reports, [6] and [15], showed a higher level of SOD in animals fed pasture compared to animals in feedlot system. This difference could be explained by the fact that in one report analyzed the *Psoas major* muscle [6], a much more oxidative muscle than the *Biceps femoris* used in the present experiment.

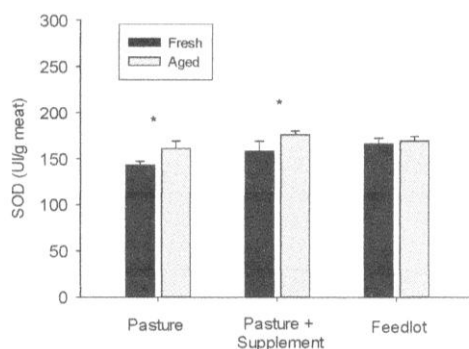


Figure 5. SOD activity (UI/g meat) in fresh and aged *Biceps femoris* muscle of steers from pasture, pasture and supplement and feedlot based feeding systems. Data are mean \pm SEM (n=8). * shows significant differences between fresh and aged meat ($P < 0.05$). Main effects: Feeding system: $P < 0.05$ Pasture < Pasture + Supplement, feedlot. Ageing: $P < 0.01$ Fresh < Aged

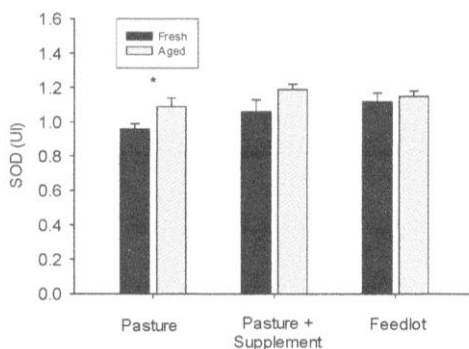


Figure 6. SOD activity (UI) in fresh and aged *Biceps femoris* muscle of steers from pasture, pasture and supplement and feedlot based feeding systems. Data are mean \pm SEM (n=8). * shows significant differences between fresh and aged meat ($P < 0.05$). Main effects: Feeding system: $P < 0.05$ Pasture < Pasture + Supplement, Feedlot Ageing: $P < 0.01$ Fresh < Aged

It has been observed that the SOD activity is higher in oxidative muscle than in glycolytic ones [6,16]. Unfortunately, this explanation have to be relativized, because the muscle used in another investigation [15], the muscle considered was *Longissimus dorsi*, similar to the *Biceps femoris* for its oxidability.

Also, it has been proposed that the minerals can modulate the SOD activity, since Cu and Zn are cofactor for SOD. More copper and zinc in food implies more SOD activity [6]. However, in a report from our investigation team using Hereford breed [17], the level of zinc is much more elevated in *Longissimus dorsi* than in *Psoas major* and results from the same investigation showed that SOD activity is similar [18]. Then, the association between

SOD, oxidative muscle and copper and zinc, is not so evident to explain the activity of SOD in meat.

When the ageing process is considered for SOD activity, there is a significant main effect of ageing (Figure 5 and Figure 6) showing that aged meat present a higher activity ($P < 0.01$) of SOD when compared to the fresh meat. For instance, there is no explanation for this observation.

3.3.3. Glutathion Peroxidase (GPx)

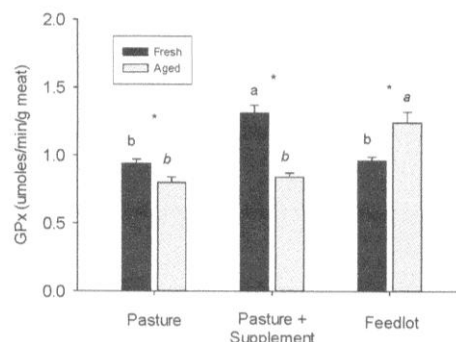


Figure 7. GPx activity (umoles/min/g meat) in fresh and aged *Biceps femoris* muscle in steers from pasture, pasture and supplement and feedlot based feeding systems. Data are mean \pm SEM (n=8). Different lower letters means significant differences among systems for fresh muscle and for aged muscles (italics) ($P < 0.05$). * shows significant differences between fresh and aged ($p > 0.05$). Main effects: Feeding systems: $P < 0.001$ Pasture < pasture + supplement, feedlot Ageing: $P < 0.01$ Fresh > Aged

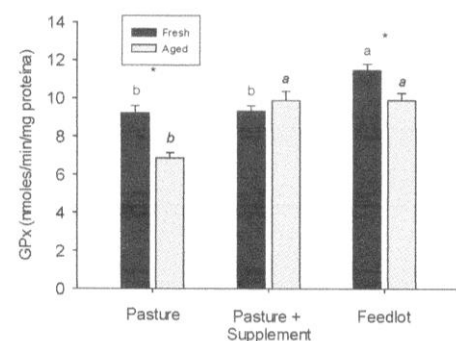


Figure 8. GPx activity (nmoles/min/mg protein) in fresh and aged *Biceps femoris* muscle of steers from pasture, pasture and supplement and feedlot based feeding systems. Data are mean \pm SEM (n=8). Lower letters means significant differences among feeding systems for fresh and aged (italics), ($P < 0.05$). * shows significant differences between fresh and aged meat ($P < 0.05$). Main effects: Feeding system: $P < 0.001$ Pasture < Pasture and supplement < Feedlot. Ageing: $P < 0.001$ Fresh > Aged

The activity of GPx showed a significant feeding system effect. The meats from animals feed pasture have showed a lower level of enzymes in comparison to the other feeding systems (Figure 7 and Figure 8). However, pasture and supplement, and feedlot, are similar when the activity is expressed by gram of fresh meat. When the activity of GPx is expressed by mg of protein, the feedlot system showed significantly more GPx than the other two feeding system. The decrease of level of GPx meat of

animals fed pasture compared to animals finished in feedlot system is in accord to the results reported in three investigations [5,6,15]. One of them concluded that the difference between pasture and feedlot system could be associated with the fact that grain and concentrate used in the feedlot system are richer in selenium in comparison with pasture [6]. This is linked to the geographical difference of the selenium content in plant. This explanation could be acceptable for animals produced in Europe, but no for those produced in South America because pasture is much more richer in selenium [19]. The relation between GPx activity and the meat oxidation and quality reported here and the scientific literature is very complex and need more future investigation.

4. Conclusion

There is no evidence which help to advice producer about a specific feeding system that protect efficiently lipids and protein from oxidation in fresh meat coming from *Biceps femoris* muscle of Aberdeen Angus steers. In addition, there is not a clear pattern of the action of the enzymes, catalase, SOD and GPx, that counteract the lipids and protein oxidation of meat studied here. It seems difficult to conclude about the best feeding system suitable to minimize lipids and protein oxidation of meat from *Biceps femoris*. More investigation is necessary using different muscles to compare and understand the biochemical relation behind the lipids and protein oxidation of meat, and the specific action of the antioxidant enzymes present in fresh and aged meat like catalase, SOD and GPx.

Acknowledgement

To Alejandro Sans (Frigorífico Solis) and Ricardo Palma (Uruguayan Society of Aberdeen Angus Breeders) for their help.

Conflict of interest

The Authors declare that there is no conflict of interest.

References

- [1] Ouali, A, Herrera-Mendez, C. H, Coulis, G, Becila, S, Boudjellal, A, Aubry, L, and Sentandreu, M. A. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms, *Meat Science*, 2006, 74, 44-58.
- [2] Falowo, A. B, Fayemi, P.O, Muchenje, V. Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat : A review, *Food Research International*, 2014, 64, 171-181.
- [3] Insani, E. M, Eyherabide, A, Grigioni, G, Sancho, A. M, Pensel, N, A, and Descalzo, A. M. Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated display of beef produced in Argentina, *Meat Science*, 2008, 79, 444-452.
- [4] Descalzo, A. M, Insani, E. M, Biolatto, A, Sancho, A. M, García, P. T, Pensel, N. A, and Josifovich, J. A. Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef, *Meat Science*, 2005, 70: 35-44.
- [5] Mercier, Y, Gatellier, P, and Renere, M. Lipid and protein oxidation in vitro, and antioxidant potential in meat from Charolais cows finished on pasture or mixed diet, *Meat Science*, 2004, 66, 467-473.
- [6] Gatellier, P, Mercier, Y, and Renere, M. Effect of diet finishing mode (pasture or mixed diet) on antioxidant status of Charolais bovine meat, *Meat Science*, 2004, 67: 385-394.
- [7] Lynch, S. M, and Frei, B. Mechanisms of copper- and iron-dependent oxidative modification of human low-density lipoprotein, *Journal of Lipid Research*, 1993, 34, 1745-1751.
- [8] Stoscheck, C. M. Quantitation of Protein, *Method of Enzymology*, 1990, 182, 50-68.
- [9] Aebi, H. Catalase in vitro. In L. Packer (Ed), *Oxygen radicals in biological systems*, *Method of Enzymology*, 1984, 105, 121-126.
- [10] Marklund, S, and Marklund, G. Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, *European Journal of Biochemistry*, 1974, 47, 469-474.
- [11] DeVore, V. R. and Greene, B. E. Glutathione peroxidase in post-rigor bovine semitendinosus muscle, *Journal of Food Science*, 1982, 47, 1406-1409.
- [12] Günzler, A. and Flohé, L. Glutathione peroxidase. In R. A. Greenwald (Ed), *CRC Handbook of methods for oxygen radical research*, 1985, 1, 285-290.
- [13] Gatellier, P, Mercier, Y, Juin, H, and Renere, M. Effect of finishing mode (pasture- or mixed diet) on lipid composition, colour stability and lipid oxidation in meat from Charolais cattle, *Meat Science*, 2005, 69, 175-186.
- [14] Pouzo, L.B, Descalzo, A.M, Zaritzky, N.E, Rossetti, N, Pavan, E. Antioxidant status, lipid and color stability of aged beef from grazing steers supplemented with corn grain and increasing levels of flaxseed, *Meat Science*, 2016, 111, 1-8.
- [15] Descalzo, A.M, Rossetti, L, Grigioni, G, Irueta, M, Sancho, A.M, Carrete, J, and Pensel, N.A. Antioxidant status and odour profile in fresh beef from pasture or grain-fed cattle, *Meat Science*, 2007, 75, 309-317.
- [16] Renere, M, Dumont, F, and Gatellier, P. Antioxidant enzyme activities in beef in relation to oxidation of lipid and myoglobin, *Meat Science*, 1996, 43, 111-121.
- [17] Ramos, A, Cabrera, M.C, and Saadoun, A. Bioaccessibility of Se, Cu, Zn, Mn and Fe, and haem iron content in unaged and aged meat of Hereford and Braford steers fed, *Meat Science*, 2012, 91, 116-124.
- [18] Terevinto, A. Oxidación lipídica y proteica, capacidad antioxidativa y actividad de las enzimas catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa eb la carne fresca y madurada de novillos Hereford y Bradford, Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias, Facultad de Agronomía, Uruguay, 2010.
- [19] Cabrera, M.C, and Saadoun, A. An overview of the nutritional value of beef and lamb meat from South America, *Meat Science*, 2014, 98, 3, 435-444.

9.4. ANEXO 4:

American Journal of Food and Nutrition, 2015, Vol. 3, No. 5, 118-124
 Available online at <http://pubs.sciepub.com/ajfn/3/5/2>
 © Science and Education Publishing
 DOI:10.12691/ajfn-3-5-2



Catalase, SOD and GPx Activities in *Triceps brachii* Muscle from Aberdeen Angus Steers Finished on Pasture, Pasture and Concentrate, or Concentrate

A. Terevinto¹, M.C. Cabrera^{1,2}, A. Saadoun^{2,*}

¹Dpto Producción Animal & Pasturas, Laboratorio Calidad de Alimentos, Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Garzón 809. Montevideo. Uruguay

²Fisiología & Nutrición, Facultad de Ciencias, Universidad de la República. Calle Igua 4225. Montevideo. Uruguay

*Corresponding author: asaadoun@fcien.edu.uy

Abstract Three feeding system were investigated to determine if any of them is more suitable to ensure a better antioxidant protection to meat from *Triceps brachii* muscle of Aberdeen Angus steers. They were finished on pasture, pasture + concentrate with corn grain, or concentrate alone. TBARS, protein carbonyls and antioxidant enzymes activities have been determined in fresh and aged meat (14 days in vacuum, 1-2°C). The level of TBARS ranged between 0.59-0.64 mg MDA/kg meat, whereas levels of protein carbonyl ranged between 0.18-0.22 mmols DNPH/mg protein. The activities of catalase and superoxide dismutase are higher in fresh meat of animals fed pasture, compared to those finished on pasture and concentrate, or on concentrate alone. Glutathione peroxidase (GPx) showed higher activities in meat of animals finished on concentrate in comparison those finished on pasture and concentrate, or pasture. However, the results of the investigation do not allow the advising, for now, for the most suitable feeding system for finishing steers that help producers to preserve meat from lipids and protein oxidation. More investigations are necessary to highlight the feeding conditions, which could influence the activities of antioxidant enzyme catalase, SOD and GPx in meat.

Keywords: pasture, concentrate, tbars, carbonyls, catalase, SOD, GPx, aberdeen angus meat

Cite This Article: A. Terevinto, M.C. Cabrera, and A. Saadoun, "Catalase, SOD and GPx Activities in *Triceps brachii* Muscle from Aberdeen Angus Steers Finished on Pasture, Pasture and Concentrate, or Concentrate." *American Journal of Food and Nutrition*, vol. 3, no. 5 (2015): 118-124. doi: 10.12691/ajfn-3-5-2.

1. Introduction

Meat is a valuable food that contains important nutrients that are necessary to maintain health and well-being in human. Meat contains high quality proteins, fatty acids, vitamins and minerals, like heme iron, zinc, selenium and copper. However, meat is perishable product that can be altered by internal and external factors like storage temperature, oxygen, and light. Oxidation induces modifications of muscle lipids and proteins and, therefore, affects the organoleptic and nutritional properties of meat and meat products [1]. Oxidation cause lower industrial and nutritional values of meat and economical lost for producers. In addition, consumers generally reject oxidized meat and meat products [1,2]. Oxidant stressors arise from both internal and external sources and initiate lipid oxidation in muscle foods. The most important stressors are the reactive oxygen species (ROS) including free radicals and peroxides [1,2]. However, there are different ways to preserve meat from oxidation. One way is the consumption by the animals of antioxidant components present naturally in food like vitamins E and C, phenolic substances, antioxidant pigments, etc. All these natural antioxidants act as chain breaking in radical production

and are considered as a line of protection against radical attack [2]. Another way is that, physiologically, the organism builds different adaptive strategies to protect its own tissues from the radical attack and oxidation. This last way are represented by an interlinked, complex and very efficient enzymatic system composed by the catalase, superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) [2]. That antioxidant enzymatic group constitutes the primary mechanism for protecting cells from oxidative damage in vivo [2]. SOD scavenges superoxide anion by forming hydrogen peroxide and catalase safely decomposes hydrogen peroxide to water and O₂. GPx can decompose both hydrogen peroxide and lipoperoxides formed during lipid oxidation. These antioxidant enzymes are relatively stable in meat during refrigerated storage [2].

Furthermore, current meat production operation implies often the ageing process as a way to improve meat quality. The ageing process consisted in the storage of meat vacuum-packaged at temperature between 1-2°C in the dark, for 14-60 days. The ageing duration depends of the market conditions, local or international. The ageing is conducted as a way to improve the tenderness of meat. In addition [3], most of the sensorial parameters also improved by ageing, help to ensure the acceptability of meat by consumers. However, ageing is another oxidant factor for meat.

The oxidative stability of meat depends upon balance between oxidant (ROS) and antioxidant from food (vitamins) and endogenous sources (enzymes). Food offered to the animals could be a good way to improve the antioxidant defense of the animal tissues that will be transferred to meat after slaughtering [4]. Then, the proposed investigation consisted in comparing the lipids and proteins oxidation and the activities of catalase, SOD and GPx in meat from animals fed one of the three feeding systems worldwide used to produce beef meat: pasture alone, pasture and supplementation with concentrate and concentrate alone.

2. Materials and Methods

2.1. Animal Diets, Samples and Chemicals

Aberdeen Angus steers with a live weight of 479 ± 28 kg ($n=30$) were fed on pasture. Ten of them were randomly assigned to remain on this diet (Pasture), other ten were assigned to remain on pasture and received *ad libitum* supplementation with concentrate (Pasture + Concentrate). The last group of ten were finished on feedlot system, without access to pasture, and fed concentrate alone. The animals received the corresponding diet (Pasture or Pasture + Concentrate or Concentrate) the last 110 days until slaughter. Pasture consisted in tall fescue (*Festuca arundinacea*), white clover (*Trifolium repens*) and birdsfoot trefoil (*Lotus subbiflorus*). Concentrate was composed by roughage of whole plant sorghum silage and wet grain sorghum, soybean hulls and wheat bran, minerals and urea. The animals were slaughtered with 24-30 months of age in an authorized abattoir following rules by Ministry of Agriculture of Uruguay (MGAP). After 36 hours of carcasses chilling, *Triceps brachii* muscle (TB) was removed from each carcass. Each muscle (approximately 1000 g) was divided in two pieces, one was vacuum packaged, aged during 14 days at $1-2^{\circ}\text{C}$ and then frozen at -20°C , and the other was directly frozen at -20°C , until further analysis. All chemicals used in the investigation are in analytical grade from Sigma chemicals Co (St Louis, USA). Ethyl acetate (HPLC grade), ethanol (HPLC grade), Butanol (HPLC grade), Trichloroacetic acid (analytical grade) and HCl (analytical grade), were from Merck Corporation (USA).

2.2. Determination of Lipid Oxidation

Samples of 10 g frozen meat were homogenized in a Waring-Blender (Fisher Inc. USA) with 200 ml of an extraction buffer (0.15 M KCl, 0.02 M EDTA and 0.30 M BHT) at 12,000 rpm for 1 minute. Part of the homogenate was frozen overnight at -20°C to be used for carbonyl and protein content assays, and part was used the same day for the TBARS (thiobarbituric acid reactive species) test. The TBARS procedure for the determination of lipid oxidation was followed according to [5 and 2]. Briefly, the homogenate was centrifuged at 2000 g at 4°C for 10 minutes (Sorvall ST16-R, USA) and 1 ml of the supernatant was incubated with 1 ml of a 2-thiobarbituric acid (TBA)-trichloroacetic acid (TCA) solution (35 mM TBA and 10% TCA in 125 mM HCl) in a boiling water bath for 30 min. After cooling in ice for 5 min and kept at room temperature for 45 min, the pink chromogen was

extracted with 4 ml of n-butanol and phase separation by centrifugation at 3000 g during 10 min. The absorbance of the supernatant was measured at 535 nm in a Genesys-6 spectrophotometer (Thermo inc.). The concentration of malondialdehyde (MDA) was calculated using the molar extinction coefficient of the MDA ($156,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Results were expressed as mg MDA/kg of fresh meat.

2.3. Determination of Protein Oxidation

The protein oxidation level was determined by the carbonyl protein assay according to [6]. The homogenate samples, frozen the day before, were thawed at room temperature. Two aliquots of 2 ml from each sample were put into two different tubes. These tubes were centrifuged at 2000 g for 10 min (Sorvall ST16-R, USA). One was incubated with 2 ml of 2 M HCl (blank) and the other one with 2 ml of 0.02 M dinitrophenylhydrazine (DNPH) in 2 M HCl, for one hour at room temperature with regular stirring. Then, 2 ml of 20 % TCA was added. After stirring, the mixture was left at room temperature for 15 min with regular stirring. The tubes were centrifuged at 2000 g for 10 min (Sorvall ST16-R, USA). The pellets were washed three times with 4 ml of ethanol:ethyl acetate (1:1), centrifuging each time, to eliminate traces of DNPH. The pellets were dissolved in 6 ml of 6 M guanidine HCl with 0.02 M KH_2PO_4 (pH 6.5). The tubes were incubated at room temperature for 15 min with regular stirring. Afterwards, they were centrifuged at 2400 g for 10 min (Sorvall ST16-R, USA). The absorbance of the supernatant was measured at 370 nm in a Genesys-6 spectrophotometer (Thermo inc.) and the concentration of DNPH was calculated using the DNPH molar extinction coefficient ($22,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Results were expressed as nmoles of DNPH/mg of protein. Protein content was determined at 280 nm in the extraction buffer using bovine serum albumin (BSA) as protein standard [7].

2.4. Determination of Antioxidant Enzyme Activities

A 18 g frozen sample was homogenized in a Waring-Blender (Fisher Inc. USA) with 200 ml of an extraction buffer containing 0.15 M KCl and 0.79 M EDTA (pH 7.4) for 1 min at 12,000 rpm. The homogenate was centrifuged at 9000g at 4°C for 10 min (Sorvall ST16-R, USA). The supernatant was used for the determination of catalase and SOD activities. The expression of the enzymes activities were presented by g of fresh meat and by mg of protein contained in the extraction media. This exclude any biased observation due to the extraction methods.

The activity of catalase was measured recording the H_2O_2 disappearance by the decrease in absorbance at 240 nm during 3.5 min using a Genesys-6 spectrophotometer (Thermo Inc.), following the method described by [8]. The incubation mixture contained 2820 μl of the extraction buffer, 90 μl of the supernatant and 90 μl of H_2O_2 0.2 M. The activity was calculated using the molar extinction coefficient of H_2O_2 ($39.4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) and results were expressed as μmoles of decomposed H_2O_2 /min/g fresh meat and as nmoles of decomposed H_2O_2 /min/mg protein.

Total SOD activity was determined as proposed by [9], with the modifications of [2], by measuring the inhibition of pyrogallol autoxidation. The incubation mixture contained 2850 μl of 50 mM phosphate buffer (pH 8.2),

75 μ l of the supernatant and 75 μ l of 10 mM pyrogallol. The increase in absorbance at 340 nm was recorded during 2 min in a Genesys-6 spectrophotometer (Thermo Inc. USA). One unit (U) was taken as the activity that inhibits the reaction by 50%, and results were expressed as U and U/g fresh meat.

For the determination of GPx activity, 5 g meat sample were homogenized with an Ultra Turrax T18 (IKA Co. Germany) with 25 ml of 50 mM KH_2PO_4 buffer and 0.5mM EDTA (pH 7.0) for 1 min at 18,000 rpm. The homogenate was centrifuged at 2000 g for 2 min at 4°C (Sorvall ST16-R, USA), and then the supernatant was filtered. The assay mixture contained 50 mM KH_2PO_4 buffer, 0.5 mM EDTA, 1 mM reduced glutathione (Sigma G4251), 0.15 mM NADPH (Sigma N1630), 1.5 U glutathione reductase (Sigma G3664), 0.15 mM H_2O_2 and 1 mM NaN_3 (Sigma S-2002). The incubation mixture contained 1980 μ l of the assay mixture and 20 μ l of the filtered sample. The activity of GPx was measured at 22°C recording the oxidation of NADPH by the decrease in absorbance of the incubation mixture at 340 nm during 3 min using a Genesys-6 spectrophotometer (Thermo Inc. USA) [10,11]. An extinction coefficient of 6300 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ was used to calculate NADPH concentration. The GPx activity was expressed as μ moles of oxidized NADPH/min/mg of fresh meat and as nmoles of oxidized NADPH/min/mg protein. As for Catalase and SOD, the expression of the GPx activity was presented by g of fresh meat and by mg of protein contained in the extraction media. This exclude any biased observation due to the extraction methods.

2.5. Statistical Analysis

The effect of feeding system and ageing on TBARS and carbonyl content on catalase, SOD and GPx activities were analyzed by ANOVA using the General Linear Model (GLM) procedure (NCSS software release 2006, 329 North 1000 East, Kaysville, UT 84037) for a fixed effect model with three feeding systems and two processes. Only when significant feeding system \times process interaction was noted for each parameter studied, ANOVA one- way or T-test were used to determine differences between feeding systems within the same processing and between processing (fresh and aged meat) for each feeding system. When treatment effects were significant ($P < 0.05$) means were compared with Tukey-Kramer test (NCSS software release 2006, 329 North 1000 East, Kaysville, UT 84037).

3. Results and Discussion

3.1. Lipid Oxidation

There is no a main effect of feeding system ($P > 0.05$) on lipids oxidation (TBARS) of fresh meat from TB (Figure 1). However, when only fresh meat is considered, feeding pasture and concentrate seems to cause more lipids oxidation ($P < 0.05$) than feeding concentrate (Figure 1). This observation is in accord with a previous observation from our laboratory, using the *Biceps femoris* muscle from steers of the same breed (unpublished data). Both results are, however, not in accord to other two investigations. In a first study, using *Longissimus dorsi* muscle from Charolais breed steers, the trial showed that feeding with

concentrate caused more lipids oxidation in fresh meat [12]. The same conclusion was reached in the second investigation, using *Psoas major* muscle, from crossbreed animals fed exclusively pasture or concentrate [13]. However, this same last group, reported recently [14], using *Longissimus dorsi* muscle, that they do not detected different lipids oxidation in meat from Aberdeen Angus steers, the same breed used in the present investigation.

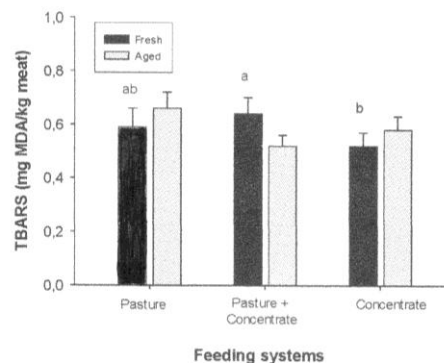


Figure 1. Lipid oxidation (TBARS, mg MDA/kg meat) in fresh and aged *Triceps brachii* muscle of steers from pasture, pasture + concentrate and concentrate based feeding systems. Data are mean \pm SEM (n=10). Different lowercase letters means significant differences among feeding systems in fresh meat ($P < 0.05$). Main effects: Feeding systems No significant. Ageing No significant

The breed of animals and the type of muscles used in each investigation could explain the different results reported between the described investigations and our own work. For example, muscles are not identical, and show individual characteristics in their biochemical parameters, like their different oxidative and glycolytic metabolism [15]. As well as in their nutritional composition [16,17]. More comparative studies should be conducted to highlight the importance of the feeding system on the oxidative stability of meat and meat products.

When ageing process is considered, there is no a main effect of the feeding system on the lipids oxidation when meat is submitted to 14 days of ageing that include vacuum packaging and chilling at 1-2°C (Figure 1). However, in a previous work from our laboratory using *Biceps femoris* muscle (unpublished data), the ageing caused more lipids oxidation, in spite of the vacuum packaging and the chilling. This difference between our experiments with different muscles reinforces our hypothesis that in oxidation studies, the type of muscle used in the investigation could determine the kind of responses.

Interesting data attracted our attention in the present experiment. In Table 1 the total lipids content of TB was presented, and the steers fed concentrate showed a level twice compared to animals fed pasture and almost twice compared to the animals fed pasture and concentrate. This observation is in accord with other report not only for beef meat [13], but also for lamb [18]. Thus, it seems that a higher level of lipids in TB muscle is not necessarily associated with a higher lipids oxidation status. This point should be considered in future investigation.

Table 1. Lipids content (%) in *Triceps brachii* muscle of Aberdeen Angus steers from pasture, pasture and concentrate or concentrate based feeding systems

Feeding system	Lipids(%)
Pasture	3.25 ± 0.29 b
Pasture + Concentrate	4.13 ± 0.58 b
Concentrate	7.29 ± 1.28 a
Signification	P<0.01

Data are mean ± SEM. Different lowercase letters means significant differences among feeding systems by ANOVA and Tukey test (P<0.05).

3.2. Protein Oxidation

To the contrary to the results for lipids oxidation, protein oxidation showed a significant main effect (P<0.03) of the feeding system. The meat from animals fed pasture presented a lower protein oxidation compared to both, animals fed pasture and concentrate, and animals fed concentrate (Figure 2). After ageing, there is a significant main effect (P<0.01) showing that the aged meat have a higher protein oxidation when compared to the unaged meat (Figure 2). Like for lipids, protein oxidation is associated with the radical attack of meat in presence of oxygen through a chain reaction [19]. That reaction could occurs with reduced forms of transition metals like iron and copper present in meat [20]. The oxidation of protein of muscle result of a denaturation and proteolysis-induces changes in meat quality, which include colour, aroma, flavour, water-holding capacity. Protein oxidation also induces multiple physico-chemical changes and nutritional value in meat proteins including a decrease in the bioavailability of amino acid and impaired digestibility of protein [19]. Our results presented differences with the investigations of Mercier [6], when fresh meat is considered. However, in that experiment, the muscles, the breed and the sex were different, *Longissimus dorsi* versus *Triceps brachii*, Charolais cows versus Aberdeen Angus steers, respectively Limited information on that point is available in the scientific literature. The relation between protein oxidation and meat quality received little attention from meat scientist, thus more investigation are needed.

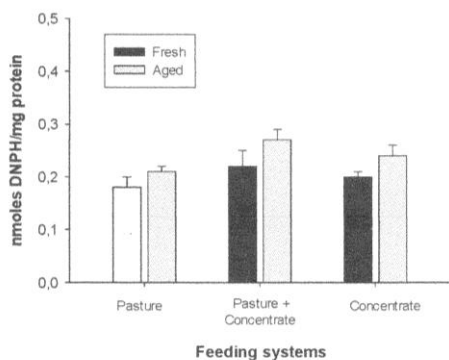


Figure 2. Carbonyl proteins (nmols DNPH/mg protein) in fresh and aged *Triceps brachii* muscles of steers from pasture, pasture + concentrate, and concentrate. Data are mean ±SEM (n=10). Main effects: Feeding systems P<0.03 Pasture < Pasture + concentrate, concentrate; Ageing P<0.01 Aged > Fresh

3.3. Antioxidant Enzyme Activities

3.3.1. Catalase

There is a significant main effect (P<0.05) of catalase, when activity is expressed by g of meat. Indeed, meat from animals fed pasture presented more activity than animals fed pasture and concentrate or concentrate alone (Figure 3). However, this significant effect turn not significant when the activity of the enzyme was expressed by mg of protein. This opposed results make difficult to conclude about the effect of feeding system on the activity of catalase. In previous investigation showed no differences between animals fed pasture and other one fed concentrate using *Longissimus dorsi* [2], and *Psoas major* [21].

In both experiments, the expression of catalase activity was by mg of protein. Furthermore, in a previous experiment for our laboratory, the catalase activity of *Biceps femori* muscle from Aberdeen Angus steers (unpublished data) showed no main effect of the feeding system similar to the present experiment. In that experiment, the activity of catalase was also expressed by mg of protein. Together, the four experiments seems to shows that catalase probably did not respond differently to feeding systems when pasture and concentrate were compared.

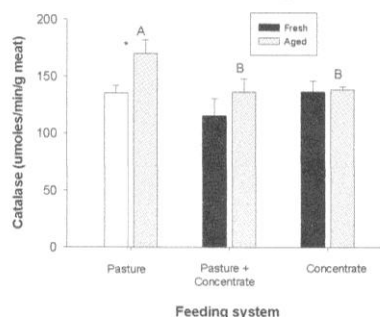


Figure 3. Catalase activity (umoles/min/g carne) in fresh and aged *Triceps brachii* muscle of steers from pasture, pasture + concentrate and concentrate. Data are mean ±SEM (n=10). Different uppercase letters means significant differences among feeding systems in aged meat (P<0.05). *shows difference between fresh and aged meat (P<0.05). Main effects: Feeding system P<0.05 Pasture > Pasture + concentrate and Concentrate. Ageing P<0.05 Aged > Fresh

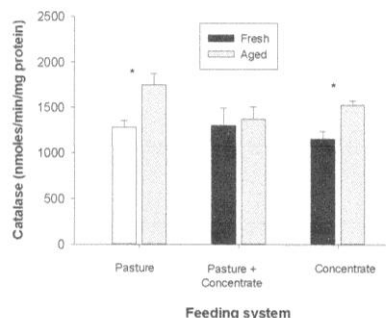


Figure 4. Catalase activity (nmols/min/mg protein) in fresh and aged *Triceps brachii* muscle of steers from pasture, pasture + concentrate and concentrate. Data are mean ± SEM (n=10). *shows difference between fresh and aged meat (P<0.05). Main effects: Feeding system No significant; Ageing P<0.01 Aged > Fresh

Independently of the unit of expression of the activity of the enzyme, ageing caused a higher activity of catalase (Figure 3 and Figure 4).

Activities of catalase, as antioxidant enzyme in vacuum packaging meat is poorly documented and this make difficult to conclude about the results obtained here. There is not an explanation about the higher level of catalase after ageing. More investigations are required to understand this point.

3.3.2. Superoxide Dismutase

A significant main feeding system effect was found in SOD activity ($P < 0.05$), meat from pasture fed animals showed a higher SOD activity independently of the unit of expression of the activity (Figure 5 and Figure 6). These activities are in accord to the results reported in early studies in fresh meat from *Longissimus dorsi* and *Psoas major* muscles [2,6,21]. SOD and catalase are coupled as antioxidant enzymes. Then, it would be expected that the two enzymes cooperate to fight against oxidant factor and could be influenced similarly by the feeding system.

However, in the present experiment and previously published reports, the two enzymes seem to have different responses to feeding system, [2,21]. The activity of SOD can be affected by the content of copper and zinc in meat [2]. In a previous investigation from our laboratory, it has been found that meat from Aberdeen Angus steers fed pasture contain more Zinc than ones fed concentrate. This observation could explain the higher activity of SOD in animals fed pasture in comparison to other fed concentrate [22]. Other naturally occurring antioxidant, like vitamins present in pasture, can complete the enzymatic action [2].

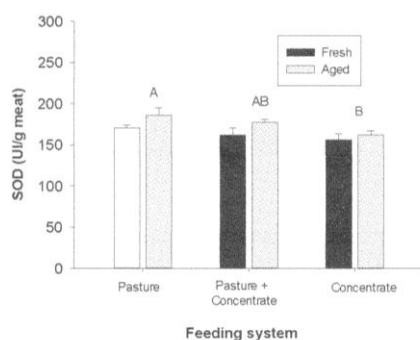


Figure 5. SOD activity (U/g meat) in fresh and aged *Triceps brachii* muscle of steers from pasture, pasture + concentrate and concentrate. Data are mean \pm SEM (n=10). Different uppercase letters means significant differences among systems in aged meat ($p < 0.05$). NS: no significant. Main effects: Feeding system: $P < 0.05$ Pasture > Concentrate, Pasture + concentrate = Pasture, Concentrate; Ageing $P < 0.05$ Aged > Fresh

After ageing, SOD showed a main effect of ageing ($P < 0.05$) independently to the expression of enzymatic activity (Figure 5 and Figure 6). These responses could be explained by the responses to the ROS attack occurring in meat during refrigerated ageing in vacuum. There are very few reports, which studied the effect of ageing on the activity of antioxidant enzymes in meat. Antioxidant enzymes continue to be active in meat, even after various days post mortem. Enzymes and antioxidant nutrients (mainly vitamins and peptides) continue to fight against ROS

various days after dead of animals [2]. This effect, more pronounced in meat produced on pasture, help to extend the shelf life of the meat during commercial display. This point need to be considered in future investigation.

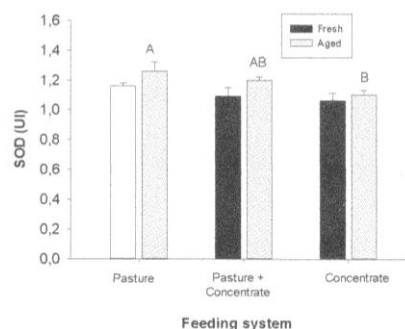


Figure 6. SOD activity (U) in fresh and aged *Triceps brachii* muscle of steers from pasture, pasture + concentrate and concentrate. Data are mean \pm SEM (n=10). Different uppercase letters means significant differences among systems in aged meat ($P < 0.05$). Main effects: Feeding system $P < 0.05$ Pasture > Concentrate, Pasture + concentrate = Pasture, Concentrate; Ageing $P < 0.05$ Aged > Fresh

3.3.3. Glutathion Peroxidase

For GPx activities, a significant main feeding effect ($P < 0.0001$) was found independently of the unit of expression of the activity, showing that animals receiving pasture and concentrate or concentrate alone have a higher activities of the enzyme (Figure 7 and Figure 8). This is in accord with results reported previously in animals produced in Europe and fed pasture or grain [2,6]. It has been hypothesized that the difference between animals fed pasture or concentrate could be associated with the fact that concentrate are richer in selenium in comparison with pasture [2].

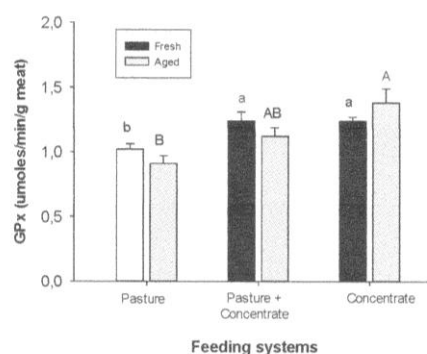


Figure 7. GPx activity (umoles/min/g meat) in fresh and aged *Triceps brachii* muscle of steers from pasture, pasture + concentrate and concentrate. Data are mean \pm SEM (n=10). Different lowercase and uppercase letters means significant differences among feeding systems in fresh and aged meat, respectively ($P < 0.05$). Main effects: Feeding system $P < 0.0001$, Pasture + concentrate, concentrate > Pasture; Ageing: No significant

This is linked to the geographical difference of the selenium content in plant [22,23]. This explanation could

be acceptable for animals produced in Europe, but no for those produced in South America. Indeed, pasture produced in South America is rich in selenium when compared those pasture produced in Europe [22,23]. However, two investigations realized in South America (Argentina) showed opposed results using crossbreed steers. British X indicus in one report and crossbreed without more details in the other one [1,21].

The breed effect in the responses to selenium in GPx activity cannot be ruled-out. No effect of ageing has been observed in the GPx activities, independently of the unit of expression of the activity (Figure 7 and Figure 8).

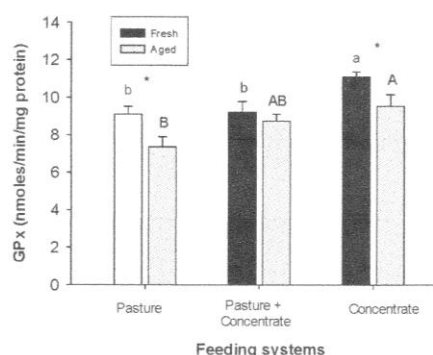


Figure 8. GPx activity (nmol/min/mg protein) in fresh and aged *Triceps brachii* muscle of steers from pasture, pasture and concentrate and concentrate. Data are mean \pm SEM (n=10). Different lowercase and uppercase letters means significant differences among feeding systems in fresh and aged meat, respectively (P<0.05). *shows difference between fresh and aged meat (p<0.05). Main effects: Feeding systems P<0.001 Concentrate > Pasture, Pasture + concentrate; Ageing P<0.01 Fresh > Aged

4. Conclusion

The investigation results point towards that the feeding system seems not to have direct effect on the resistance to lipids oxidation, of meat from *Triceps brachii* muscle of Aberdeen Angus steers. However, in the case of protein oxidation, pasture alone protect more efficiently meat compared to pasture and concentrate, and concentrate alone. These results could be probably associated, globally, to the action of catalase and SOD, which present higher activities in animals fed pasture. It is well known that these two antioxidant enzymes work associatively to fight against ROS. As expected and previously described in other report, GPx present more activity in animals fed concentrate in comparison to ones fed pasture. This behavior of the GPx remain unclear and cannot be explained only by the fact that the concentrate is richest in selenium than pasture. This is true for European pasture, but not for South American one, like in the present investigation. This point has to be deeply studied in future investigation. Of course, no-enzymatic antioxidant present in food, like vitamins, probably completed the antioxidant action of enzymes in reducing the oxidation. However, the enzymatic action of catalase, SOD and Gpx against ROS, remain the first line of defense. Future studies have to highlight precisely the antioxidant action of those enzymes in the protection of meat from lipids and protein

oxidation. For now, and in regard to the results observed here, it's not possible to advice what kind of feeding system is the most suitable to preserve meat from lipids and protein oxidation.

Acknowledgement

To Alejandro Sans (Frigorífico Solis) and Ricardo Palma (Uruguayan Society of Aberdeen Angus Breeders) for their help.

Conflict of Interest

The Authors declare that there is no conflict of interest.

References

- [1] Insani, E. M., Eyherabide, A., Grigioni, G., Sancho, A. M., Pense, N. A., and Descalzo, A. M., Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated display of beef produced in Argentina. *Meat Science*, 2008, 79, 444-452.
- [2] Gatellier, P., Mercier, Y., and Renere, M., Effect of diet finishing mode (pasture or mixed diet) on antioxidant status of Charolais bovine meat. *Meat Science*, 2004, 67: 385-394.
- [3] Ouali, A., Herrera-Mendez, C. H., Coulis, G., Becila, S., Boudjellal, A., Aubry, L., and Sentandreu, M. A., Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Science*, 2006, 74, 44-58.
- [4] Daley, D.A., Abbott, A., Doyle, P.S., Nader, G.A., and Larson, S. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grainfed beef. *Nutrition Journal*, 2010, 2- 12.
- [5] Lynch, S. M., and Frei, B., Mechanisms of copper- and iron-dependent oxidative modification of human low-density lipoprotein. *Journal of Lipid Research*, 1993, 34, 1745-1751.
- [6] Mercier, Y., Gatellier, P., and Renere, M., Lipid and protein oxidation in vitro, and antioxidant potential in meat from Charolais cows finished on pasture or mixed diet. *Meat Science*, 2004, 66, 467-473.
- [7] Stoscheck, C. M., Quantitation of Protein. *Method of Enzymology*, 1990, 182, 50-68.
- [8] Aebi, H., Catalase in vitro. In L. Packer (Ed), *Oxygen radicals in biological systems*. *Method of Enzymology*, 1984, 105, 121-126.
- [9] Marklund, S., and Marklund, G., Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, 1974, 47, 469-474.
- [10] DeVore, V. R. and Greene, B. E., Glutathione peroxidase in post-rigor bovine semitendinosus muscle. *Journal of Food Science*, 1982, 47, 1406-1409.
- [11] Günzler, A., and Flohé, L., Glutathione peroxidase. In R. A. Greenwald (Ed), *CRC Handbook of methods for oxygen radical research*, 1985, 1, 285-290.
- [12] Gatellier, P., Mercier, Y., Juin, H., and Renere, M., Effect of finishing mode (pasture- or mixed diet) on lipid composition, colour stability and lipid oxidation in meat from Charolais cattle. *Meat Science*, 2005, 69, 175-186.
- [13] Descalzo, A. M., Insani, E. M., Biolatto, A., Sancho, A. M., Garcia, P. T., Pense, N. A., and Josifovich, J. A., Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Science*, 2005, 70: 35-44.
- [14] Pouzo, L.B., Descalzo, A.M., Zaritzkya, N.E., Rossetti, N., Pavan, E., Antioxidant status, lipid and color stability of aged beef from grazing steers supplemented with corn grain and increasing levels of flaxseed. *Meat Science*, 2016, 111, 1-8.
- [15] Talmant, A., Monin, G., Briand, M., Dadet, M., and Briand, Y., Activities of metabolic and contractile enzymes in 18 bovine muscles. *Meat Science*, 1986, 18, 23-40.
- [16] Cabrera, M. C., Ramos, A., Saadoun, A., and Brito, G., Selenium, copper, zinc, iron and manganese content of seven meat cuts from

- Hereford and Braford steers fed pasture in Uruguay. *Meat Science*, 2010, 84, 518-528.
- [17] Ramos, A. Cabrera, M.C, and Saadoun, A. Bioaccessibility of Se, Cu, Zn, Mn and Fe, and haem iron content in unaged and aged meat of Hereford and Braford steers fed, *Meat Science*, 2012, 91, 116-124.
- [18] Popova, T. Effect of rearing system on the fatty acid composition and oxidative stability of the *M. Longissimus lumborum* and *M. semimembranosus* in lambs, *Small Ruminants Research*, 2007, 150-157.
- [19] Lund, M. N., Heinonen, M., Baron, C. P., & Estevez, M. (2011). Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular, Nutrition and Food Research*, 55, 83-95.
- [20] Falowo, A. B, Fayemi, P.O, and Muchenje, V. Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat : A review, *Food Research International*, 2014, 64, 171-181.
- [21] Descalzo, A.M, Rossetti, L, Grigioni, G, Irurueta, M, Sancho, A.M, Carrete, J, and Pensel, N.A. Antioxidant status and odour profile in fresh beef from pasture or grain-fed cattle, *Meat Science*, 2007, 75, 309-317.
- [22] Cabrera MC, Ramos A and Saadoun A. Selenium, zinc, copper and manganese in fresh Angus steers meat from pastures to concentrated-based feeding systems in Uruguay. IUNS 20th. International Congress of Nutrition. Granada. España. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 64:1531.
- [23] Cabrera, M.C, and Saadoun, A. An overview of the nutritional value of beef and lamb meat from South America, *Meat Science*, 2014, 98,3, 435-444.

9.5. ANEXO 5:



XXIV Congreso de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Puerto Varas, Chile. 2015

789

ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE DE NOVILLOS ABERDEEN ANGUS PRODUCIDOS A PASTURAS Y FEEDLOT, DURANTE SU EXPOSICIÓN EN VITRINA REFRIGERADA



Terevinto, A.¹, Saadoun, A.², & Cabrera, M.C.¹

¹Facultad de Agronomía, UDELAR. Av. Garzón 809. Montevideo, Uruguay

²Facultad de Ciencias, UDELAR. Iguá 4225. Montevideo, Uruguay

aterevinto@fagro.edu.uy



Introducción y objetivos

Los procesos oxidativos son los factores no microbiológicos principales involucrados en el deterioro de la calidad de la carne durante el almacenamiento refrigerado. La carne derivada de animales que son alimentados con pasturas presenta una mayor cantidad de antioxidantes, que retardan la oxidación lipídica y proteica en la carne fresca y almacenada. El objetivo de este trabajo fue comparar la carne de novillos Aberdeen Angus producidos en un sistema feedlot con los alimentados a base de pasturas, en cuanto a la estabilidad oxidativa, durante su exposición en vitrina refrigerada.

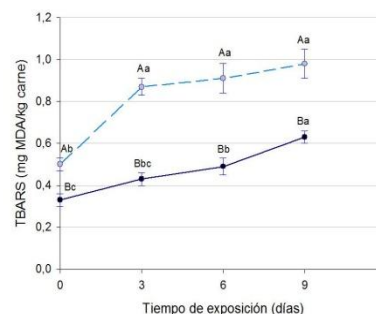
Materiales y métodos

Se trabajó con filetes del músculo *Semimembranosus* de novillos Aberdeen Angus, de los cuales 10 fueron producidos en un sistema feedlot y 10 alimentados a pasturas. Se colocaron 3 filetes de 1cm de espesor en cada bandeja de espuma de polietileno, se cubrieron con film de PVC y se colocaron en una vitrina refrigerada (4-8°C) con iluminación, durante 3, 6 y 9 días. Luego de cada tiempo y al tiempo 0, se determinó la oxidación lipídica por el método de TBARS y la oxidación proteica por el método de carbonilos proteicos. Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa NCSS (2007).

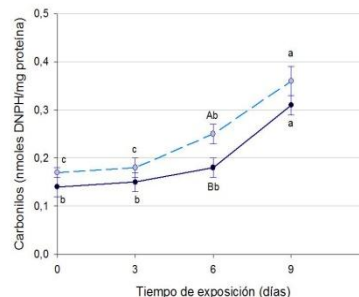


Resultados

Se encontró una menor oxidación lipídica ($p < 0.0001$) y oxidación proteica ($p < 0.01$) en la carne de animales alimentados a pastura (0.49 ± 0.02 mg MDA/kg carne y 0.20 ± 0.01 nmoles DNPH/mg proteína) comparado con la de feedlot (0.86 ± 0.04 mg MDA/kg carne y 0.25 ± 0.02 nmoles DNPH/mg proteína.) como efecto principal (Fig. 1). Además se vio un aumento en la oxidación lipídica ($p < 0.0001$) y en la oxidación proteica ($p < 0.0001$) con los días de exposición. En la carne de bovinos alimentados a pasturas se ve un aumento significativo en los valores de TBARS y de carbonilos proteicos a partir del día 6, y en la de animales alimentados en feedlot a partir del día 0 y 3, respectivamente. Como se puede apreciar, los procesos oxidativos comienzan antes en la carne de animales alimentados en feedlot cuando es sometida a exposición en vitrina refrigerada.



Efectos principales: Sistema: ($p < 0.0001$) Feedlot > Pastura;
Día: ($p < 0.0001$) día 9, día 6, día 3 > día 0; día 9 > día 3



Efectos principales: Sistema: ($p < 0.01$) Feedlot > Pastura
Día: ($p < 0.0001$) día 9 > día 6, día 3, día 0; día 6 > día 0

Fig. 1. Oxidación lipídica (TBARS) y proteica (carbonilos) durante la exposición en vitrina refrigerada del músculo *Semimembranosus* de novillos producidos en pasturas y en feedlot. Los valores son medias \pm SEM (n=10). Letras diferentes en mayúscula indican diferencias significativas entre la carne de diferentes sistemas en cada día de exposición (Test de Tukey-Kramer, $p < 0.05$). Letras distintas en minúscula indican diferencias significativas entre la carne de diferentes días de exposición en cada sistema de producción (Test de Tukey-Kramer, $p < 0.05$).

Conclusiones

La carne de bovinos producidos en un sistema a pasturas sería más estable que la del sistema feedlot, frente a los procesos oxidativos que puedan ocurrir durante su manejo post-faena.