

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE CIENCIAS - FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**ESTATUS ANTIOXIDANTE DE CARNE BOVINA URUGUAYA
Influencia del sistema de producción, tipo de músculo y tiempo de
maduración**

por

Florencia Daniela PIROTTI CORRALES

TESIS presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de
Magíster en Ciencias
Nutricionales

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2020**

Tesis aprobada por el tribunal integrado por Dra. Marcela Martínez, Dr. Sergio Polakof y Dra. Caterina Rufo, el 29 de setiembre de 2020. Autora: Ing. Biotec. Florencia Pirotti. Directora Dra. Ma. Cristina Cabrera, Co-director Dr. Ali Saadoun.

AGRADECIMIENTOS

A mi tutora, la Dra. María Cristina Cabrera y co-tutor, el Dr. Ali Saadoun, por haber confiado en mí y brindarme la oportunidad de llevar a cabo este proyecto.

A las compañeras y los compañeros del laboratorio de Calidad de Alimentos y Calidad de Productos, Alejandra, Marta, Carmen, Ayrton, Arnaldo, Roberto y Pablo, a Fernanda del laboratorio de Poscosecha y a Andrea del laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía por su apoyo a lo largo de la realización de esta tesis de maestría.

A Giovanni Galietta, del laboratorio de Poscosecha de la Facultad de Agronomía, por su ayuda en la determinación de α -tocoferol.

Al Frigorífico BPU (Breeders and Packers Uruguay) por el material experimental brindado, el cual permitió realizar el presente trabajo.

A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) por el incentivo económico brindado para desarrollar este proyecto.

TABLA DE CONTENIDO

	página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	VIII
SUMMARY.....	IX
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LA CARNE BOVINA.....	1
1.2. CARNE COMO ALIMENTO.....	4
1.2.1. <u>Importancia nutricional de la carne bovina</u>	4
1.2.2. <u>Conversión del músculo en carne</u>	5
1.3. CALIDAD DE LA CARNE.....	6
1.3.1. <u>Procesos de oxidación en la carne</u>	7
1.3.2. <u>Especies reactivas, radicales libres y estrés oxidativo</u>	8
1.3.3. <u>Sistema antioxidante</u>	9
1.3.4. <u>Influencia del sistema de producción, tipo de músculo y la</u> <u>maduración sobre el sistema antioxidante en la carne</u>	11
1.3.4.1. Sistema de producción.....	12
1.3.4.2. Tipo de músculo.....	12
1.3.4.3. Maduración.....	13
1.4. ESTUDIO <i>IN VITRO</i> DEL ESTATUS ANTIOXIDANTE.....	14
1.4.1. <u>Capacidad antioxidante (CA)</u>	14
1.4.1.1. Extracción de compuestos antioxidantes.....	16
1.4.1.2. Ensayo de decoloración de radicales estables DPPH• (DPPH) y ABTS•+ (ABTS).....	17
1.4.1.3. Ensayo de poder antioxidante reductor del hierro (FRAP).....	18
1.4.1.4. Procedimiento QUENCHER.....	19
1.4.2. <u>Contenido de grupos sulfhidrilos (SH)</u>	20
1.4.3. <u>Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT)</u>	22

1.4.4.	<u>Contenido de glutatión (GSH + GSSG)</u>	22
1.4.5.	<u>Contenido de α-tocoferol</u>	24
1.5.	CONSIDERACIONES FINALES.....	25
1.6.	OBJETIVOS.....	27
1.6.1.	General.....	27
1.6.2.	Específicos.....	27
1.7.	HIPÓTESIS.....	28
2.	<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	29
2.1.	REACTIVOS.....	29
2.2.	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	30
2.2.1.	<u>Animales y dietas</u>	30
2.2.2.	<u>Obtención y maduración de las muestras de carne</u>	31
2.2.3.	<u>Procesamiento de las muestras</u>	32
2.2.4.	<u>Procedimientos para la extracción de antioxidantes</u>	32
2.2.5.	<u>Determinación de la capacidad antioxidante (CA) a partir de extractos</u>	32
2.2.5.1.	Ensayo de decoloración del radical DPPH• (DPPH).....	32
2.2.5.2.	Ensayo de decoloración del radical ABTS•+ (ABTS).....	33
2.2.5.3.	Ensayo del poder antioxidante reductor del hierro (FRAP).....	34
2.2.6.	<u>Determinación de la capacidad antioxidante (CA) mediante el procedimiento QUENCHER</u>	35
2.2.7.	<u>Cálculos para la determinación de la capacidad antioxidante</u>	36
2.2.8.	<u>Determinación de grupos sulfhidrilos totales (SH)</u>	38
2.2.9.	<u>Determinación de compuestos fenólicos totales (CFT)</u>	39
2.2.10.	<u>Determinación del contenido de glutatión total (GSH + GSSG)</u>	40
2.2.11.	<u>Determinación del contenido de α-tocoferol</u>	41
2.2.12.	<u>Análisis estadístico</u>	42

3.	<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	44
3.1.	DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (CA).....	44
3.1.1.	<u>Determinación de la capacidad antioxidante a partir de extractos</u>	44
3.1.1.1.	Ensayo de decoloración del radical DPPH• (DPPH).....	45
3.1.1.2.	Ensayo de decoloración del radical ABTS•+ (ABTS).....	50
3.1.1.3.	Ensayo poder antioxidante de reducción férrica (FRAP).....	54
3.1.2.	<u>Determinación de la capacidad antioxidante a través del procedimiento QUENCHER</u>	58
3.1.2.1.	Procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del radical DPPH• (QDPPH).....	59
3.1.2.2.	Procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del radical ABTS•+ (QABTS).....	63
3.1.2.3.	Procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo poder antioxidante de reducción férrica (QFRAP).....	64
3.2.	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GRUPOS SULFHIDRILOS TOTALES (SH).....	68
3.3.	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES (CFT).....	71
3.4.	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GLUTATIÓN TOTAL (GSH + GSSG).....	73
3.5.	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE α -TOCOFEROL.....	75
3.6.	EVALUACIÓN GLOBAL DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS.....	78
4.	<u>CONCLUSIONES</u>	81
5.	<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	82
6.	<u>ANEXOS</u>	106

6.1.	ANEXO 1: LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	106
6.1.1.	<u>Cuadros</u>	106
6.1.2.	<u>Figuras</u>	108
6.2.	ANEXO 2: ABREVIATURAS.....	110

RESUMEN

Se estudió la influencia del sistema de producción, el tipo de músculo y el tiempo de maduración al vacío sobre el estatus antioxidante de carne bovina de novillos Aberdeen Angus. Para ello se analizaron dos sistemas de producción utilizados en Uruguay (terminación con pasturas a cielo abierto o con concentrado en encierro-feedlot), dos músculos (*Longissimus dorsi* y *Psoas major*, músculos principales de los cortes bife angosto y lomo, respectivamente) y tres tiempos de maduración (0, 14 y 30 días). Se analizó la capacidad antioxidante a través de los ensayos de decoloración del radical DPPH• (DPPH), de decoloración del catión radical ABTS•+ (ABTS) y poder antioxidante reductor del hierro (FRAP), y del procedimiento QUENCHER aplicando estos tres ensayos. A su vez, se determinó el estatus oxidativo a través de los grupos sulfhidrilos totales (SH) y el contenido de los antioxidantes compuestos fenólicos totales (CFT), glutatión total (GSH + GSSG) y α -tocoferol. Para todas las determinaciones realizadas, excepto en los ensayos QUENCHER FRAP y CFT, donde no se observó un efecto significativo, el sistema de producción basado en pasturas imprimió un mejor estatus antioxidante que la terminación en feedlot. No se lograron extraer conclusiones concretas con respecto al efecto del tipo de músculo sobre el estatus antioxidante. Únicamente se logró observar un efecto significativo en tres ensayos. Mientras que en el ensayo DPPH y contenido de SH totales el músculo *Longissimus dorsi* presentó mayores valores que el *Psoas major*, para QUENCHER DPPH el resultado obtenido fue el contrario. Por último, excepto para los ensayos QUENCHER DPPH, QUENCHER FRAP, contenido de glutatión total y α -tocoferol, donde no se observó un efecto significativo, la maduración provocó un efecto sobre el estatus antioxidante. A pesar de que en algunos ensayos no fue posible encontrar diferencias entre 0 y 14 días de maduración, y en otros entre 14 y 30 días, en términos generales se observa que la maduración ejerció un efecto positivo, principalmente a 14 días.

Palabras clave: capacidad antioxidante, QUENCHER, pasturas, feedlot

ANTIOXIDANT STATUS OF URUGUAYAN BEEF MEAT
Influence of the production system, muscle type and aging time

SUMMARY

The objective of this work was to assess the influence of the animal production system, muscle type and aging time on the overall antioxidant status of Aberdeen Angus steers beef meat. Two Uruguayan production systems (pasture and feedlot), two muscles (*Longissimus dorsi* and *Psoas major*) and three vacuum aging times (0, 14 and 30 days) were studied. The antioxidant capacity of the samples were analyzed with the DPPH• radical scavenging assay (DPPH), ABTS•+ radical scavenging assay (ABTS) and ferric reducing antioxidant power assay (FRAP), and with the QUENCHER procedure applying the same three assays. The oxidative status through the total sulfhydryl groups (SH) and the content of the antioxidants total phenolic compounds, total glutathione (GSH + GSSG) and α -tocopherol were determined. Except for the QUENCHER FRAP and total phenolic compounds assays where no effects were observed, pasture-based production system printed a better antioxidant status rather than a feedlot system. No concrete conclusions could be drawn regarding the effect of muscle type on the antioxidant status. While for the DPPH assay and total SH content, *Longissimus dorsi* presented higher values than the *Psoas major*, for the QUENCHER DPPH procedure the result obtained was the opposite. Lastly, except for QUENCHER DPPH, QUENCHER FRAP, total glutathione and α -tocopherol content, where no significant effects were observed, the aging time had an effect on the antioxidant status. Despite the fact that in some assays it was not possible to find differences between 0 and 14 days, and in others between 14 and 30 aging days, in general terms it was observed that, mainly at 14 days, the aging time exerted a positive effect, increasing the antioxidant status of meat.

Keywords: antioxidant capacity, QUENCHER, pasture, feedlot

1. INTRODUCCIÓN

1.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LA CARNE BOVINA

A nivel mundial, la producción y consumo de carne bovina se vio incrementada en los últimos años (OECD-FAO, 2019). Es la tercer carne más consumida y su precio, luego del de la carne ovina, son los más elevados (FAO, 2019). En el año 2019 se reportó una producción mundial de alrededor de 72 mil toneladas (peso equivalente a canal) con un crecimiento de aproximadamente 1,5 % respecto al año anterior. El continente Asiático registró los mayores valores de consumo y producción, y junto con Norteamérica conforman los continentes con mayor número de importaciones de carne bovina. Mientras que Sudamérica junto con Oceanía son los continentes que presentan el mayor número de exportaciones (FAO, 2020).

El sector ganadero, en particular la carne bovina, es un factor fundamental en la economía de Uruguay, la mayor parte de la producción es exportada y su creciente importancia como productor se observa tanto en América Latina como a nivel mundial (USDA, 2018). La carne vacuna no sólo es el producto más exportado dentro del sector cárnico (INAC, 2018), sino que es uno de los principales productos de exportación a nivel nacional (Uruguay XXI, 2019). Uruguay se posiciona como el octavo exportador más importante de carne bovina a nivel mundial después de Brasil, India, Australia, Estados Unidos, Argentina, Nueva Zelanda y Canadá (USDA-FAS, 2019). Sus principales mercados destino son China, NAFTA y la Unión Europea (FAO, 2019). A su vez, en el año 2018 la carne bovina uruguaya logró entrar al mercado japonés, uno de los más exigentes del mundo (Uruguay XXI, 2018).

Uruguay es identificado por su sistema de producción natural, mayormente sobre pasturas naturales y a cielo abierto, por poseer la totalidad de su rodeo trazado, por ser libre de hormonas y promotores de crecimiento así como ser un país libre de aftosa con vacunación (Montossi y Cazzuli, 2016). Todas estas características, sumadas a la calidad de sus productos y su adaptación a las demandas, creando

programas de bienestar animal, posicionan a Uruguay con un alto valor agregado en lo que refiere a sus productos cárnicos. En los últimos años, Uruguay se ha enfocado en la continua búsqueda de características para seguir agregando valor a sus productos (Caputi, 2017).

En cuanto a la producción de bovinos de carne, se distinguen cuatro tipos principales de establecimientos según su orientación productiva. De cría, los cuales proveen de terneros. De recría, donde los terneros se crían y crecen hasta los 18-30 meses de edad y posteriormente son vendidos para su engorde. De ciclo completo, donde se lleva a cabo el crecimiento y engorde de los terneros hasta diferentes edades y pesos para su faena. Por último, de terminación, engorde o invernada, los cuales se enfocan únicamente en el engorde del animal hasta diferentes edades y pesos para su faena (Royo Pallarés *et al.*, 2005). Dependiendo de la disponibilidad y calidad del alimento, este período de terminación, puede durar de 3 a 16 meses, observándose períodos más prolongados cuando la terminación se lleva a cabo sobre pasturas naturales (FAO y New Zealand Agricultural Greenhouse Gas Research Centre, 2017).

Tradicionalmente la carne uruguaya ha sido producida en un sistema en base a pastoreo extensivo (Oliver *et al.*, 2006). El campo natural es el recurso alimenticio principal de los sistemas de producción ganadera, donde los animales pastorean a cielo abierto sobre una gran extensión de territorio (Royo Pallarés *et al.*, 2005). Sin embargo, con el fin de disminuir el tiempo de engorde, obtener productos más homogéneos y cumplir con atributos de calidad demandados por ciertos mercados, se comenzaron a implementar distintas estrategias en la etapa de terminación de los animales (Simeone *et al.*, 2008). Por un lado, la terminación puede ser llevada a cabo sobre pasturas mejoradas que incluyen pastos naturales sembrados con leguminosas, pastos cultivados con diferentes especies o cultivos de pastoreo anuales. Por otro lado, el período de terminación puede ser llevado a cabo bajo un sistema feedlot, donde los animales son confinados y reciben una dieta exclusivamente en base a

forraje y granos (FAO y New Zealand Agricultural Greenhouse Gas Research Centre, 2017).

En el año 2012, a partir del surgimiento de la cuota 481, el sistema de producción de terminación con concentrados y en encierro (sistema feedlot) está siendo cada vez más implementado por los productores, representando el 46% del total de novillos de 1 a 2 años faenados (Bervejillo, 2019). La cuota 481 refiere al Reglamento de Ejecución (UE) No 481/2012 de la Comisión Europea, que establece las normas de gestión de un contingente arancelario de carne vacuna de calidad superior, la cual debe provenir de animales jóvenes (menores a 30 meses de edad), cuyos últimos 100 días (como mínimo) hayan sido terminados con raciones constituidas por no menos del 62 % de concentrados y/o co-productos de cereales piensos, sobre la materia seca, y que tengan o superen un contenido de energía metabolizable superior a 12,26 MJ/kg MS (Unión Europea, 2012). Las canales obtenidas son evaluadas según estándares, lo que ha brindado una estandarización de la calidad de los productos obtenidos.

Las principales razas vacunas con fines de producción de carne son de origen británico, siendo Hereford y Aberdeen Angus las más criadas. Aberdeen Angus es la segunda raza más criada en el país y su participación en el rodeo nacional es cada vez mayor (AACS, 2019). Una de las razones del interés puede deberse al aumento de animales certificados, que permite captar en el mercado mundial un diferencial por sus productos Angus Certificados (SCAAU, 2019). El programa de certificación 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 marmoleo (SCAAU, 2020).

En cuanto a la exportación de la carne bovina, esta es comercializada refrigerada, de forma tanto congelada, enfriada como procesada. Los productos enfriados

pertenecientes a los cortes traseros, como el lomo, el bife angosto, el bife ancho, entre otros, son los de mayor valor comercial (INAC, 2017).

1.2. CARNE COMO ALIMENTO

Según el Codex Alimentarius se define carne como todas las partes de un animal que han sido dictaminadas como inocuas y aptas para el consumo humano o se destinan para este fin (Codex Alimentarius, 2005). En Uruguay, el Instituto Nacional de Carnes (INAC) define carne como porción comestible de los animales declarados aptos para la alimentación humana por la Inspección Veterinaria, y que comprende el tejido muscular y tejidos blandos que rodean al esqueleto una vez realizada la operación de faena (INAC, 2012).

A pesar de que la carne está compuesta por diferentes tejidos, como adiposo, epitelial, conectivo y nervioso, el músculo esquelético es la porción comestible más grande de los animales. A nivel celular, los músculos esqueléticos están conformados por células o fibras musculares largas y multinucleadas, compuestas por una membrana externa (sarcolema), citosol (sarcoplasma), retículo sarcoplásmico, miofibrillas y gran cantidad de núcleos y mitocondrias (Guo y Greaser, 2017).

1.2.1. Importancia nutricional de la carne bovina

La carne roja, magra y de buena calidad es un componente importante de una dieta balanceada y saludable debido a su riqueza nutricional. Es una valiosa fuente de proteína de gran valor biológico, no sólo de alta digestibilidad, sino que posee todos los aminoácidos esenciales (Pereira y Vicente, 2013). Asimismo, contiene importantes micronutrientes tales como hierro, vitamina B12, otras vitaminas del complejo B, vitamina A, zinc, selenio y fósforo, los cuales no están presentes en los alimentos derivados de plantas o poseen baja biodisponibilidad (Biesalski, 2005).

La carne es la principal fuente de hierro hemo y zinc biodisponible, y es una rica fuente de péptidos asociados al mantenimiento de la masa muscular y retraso del envejecimiento (Cabrera y Saadoun, 2014). También presenta ácidos grasos poliinsaturados, ácidos grasos esenciales omega-3 y 6, con una buena relación entre ellos (Cabrera y Saadoun, 2014; Williams, 2007).

1.2.2. Conversión del músculo en carne

La carne es el producto obtenido del proceso de transición del músculo, como tejido extensible y metabólicamente activo a uno inextensible e inactivo (Greaser, 2001). La conversión de músculo en carne es un proceso compuesto por tres fases, *pre-rigor*, *rigor mortis* y *post-rigor* (Sentandreu *et al.*, 2002).

En primera instancia, luego del sacrificio del animal, el músculo permanece excitable. Bajo un esfuerzo por perpetuar su funcionamiento, el músculo esquelético, a costas del metabolismo anaeróbico del glucógeno, continúa sintetizando y utilizando adenosín trifosfato (ATP). Como consecuencia y debido a la falta de mecanismos de eliminación, el lactato e iones hidrógeno (H⁺) se acumulan y el pH muscular desciende. Cuando ya no es posible continuar con la síntesis de ATP y sus niveles se tornan demasiado bajos, la unión entre los filamentos del músculo (actina y miosina) se vuelven irreversible induciendo el endurecimiento del músculo. Es aquí donde comienza la fase denominada *rigor mortis*. En esta fase, inducida por el agotamiento de las reservas energéticas, se observa la disminución de la elasticidad muscular alcanzando la máxima resistencia del tejido (Matarneh *et al.*, 2017; Sentandreu *et al.*, 2002).

Si la carne es consumida en el momento del *rigor mortis* o poco después (12-24 horas) esta presenta una gran dureza. Por esta razón, las carcasas o los cortes primarios son mantenidos a temperaturas controladas de refrigeración (por encima de su temperatura de congelamiento) por períodos prolongados de tiempo (Koohmaraie, 1996). Esta fase, denominada maduración, es un requisito previo para el desarrollo

de mejores cualidades organolépticas en el producto final obtenido, el cual se denomina carne. Este es un proceso complejo, progresivo e irreversible que involucra cambios bioquímicos, metabólicos y físicos (Ouali *et al.*, 2006), los cuales producen el ablandamiento de la estructura miofibrilar, incrementando la ternura y sabor (Lawrie y Ledward, 2006).

Dependiendo del destino final de la carne y su comercialización, los tiempos y formas de maduración pueden variar en cada país (Ouali *et al.*, 2006). Existen dos formas de maduración, seca y húmeda. La maduración húmeda es la mayormente utilizada, donde la carne se mantiene refrigerada envasada en paquetes al vacío (Smith *et al.*, 2008). En Uruguay, como fue mencionado anteriormente, la carne es exportada de forma enfriada, congelada o procesada. Como exigencia de algunos países importadores, la carne enfriada debe sufrir un proceso de maduración prolongado, es decir que los cortes son envasados al vacío y almacenados a 1-2 °C durante al menos 14 días, e incluso 28 días de maduración.

1.3. CALIDAD DE LA CARNE

En términos generales se puede definir calidad de la carne como el conjunto de características que satisfacen las expectativas del consumidor cuando se compra, consume o selecciona la carne para su uso. Según los atributos de interés sobre los cuales se quiera abordar, esta definición puede poseer diferentes enfoques, sin embargo, esta se va integrando a lo largo de todo el proceso de producción, industrialización, comercialización y consumo (INAC, 2012).

Tradicionalmente, el conjunto de propiedades utilizadas para definir la calidad de la carne son aquellas asociadas a la percepción sensorial del producto (color, olor, sabor, textura, vida útil), y aquellas referidas a la seguridad alimentaria del producto (ausencia de patógenos, riesgos físicos y químicos). Hoy en día, más allá de estos parámetros intrínsecos, los consumidores también centran su interés en factores extrínsecos, es decir, parámetros que no pueden ser examinados de manera física o

sensorial, tales como el impacto nutricional de la carne en la salud humana, la sustentabilidad del sistema de producción, entre otros (Purslow, 2017). Por lo tanto, la calidad de la carne debe considerarse como una propiedad compleja, multivariada e influenciada por diversos factores que interactúan entre sí (Andersen *et al.*, 2005).

El aumento en la atención en la relación entre la dieta y la salud por parte de los consumidores, ha incrementado el interés en el valor nutricional de la carne, impactando en el desarrollo y búsqueda de factores que afectan el mismo (Scollan *et al.*, 2006).

1.3.1. Procesos de oxidación en la carne

La oxidación es una de las principales causas no microbianas de pérdida de calidad de carne. Debido a su compleja matriz, con alta concentración de proteínas, lípidos poliinsaturados, pigmentos heme, catalizadores metálicos y otros agentes oxidantes, la carne se vuelve susceptible al deterioro oxidativo (Guyon *et al.*, 2016; Falowo *et al.*, 2014). Este fenómeno es un proceso complejo e irreversible. A través de la formación de compuestos tóxicos, pérdidas en antioxidantes, ácidos grasos poliinsaturados y aminoácidos esenciales, se afectan no sólo las propiedades sensoriales sino que también la seguridad química y el valor nutritivo de la carne (Estévez, 2017).

Debido a que la carne se compone principalmente por proteínas y lípidos, estas macromoléculas son las que se ven principalmente afectadas. La oxidación lipídica es un proceso complejo de reacción en cadena mediado por radicales libres, que involucra tres etapas, iniciación, propagación y terminación (Shahidi y Zhong, 2010a). Durante la conversión del músculo en carne, la etapa de iniciación de la oxidación lipídica puede comenzar a nivel de los fosfolípidos de membranas celulares debido al alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados que presentan (Gray *et al.*, 1996). Luego de obtenido el producto carne, durante el manejo, procesamiento y almacenamiento, se produce un cambio en la distribución del hierro.

Este cambio facilita la generación de especies capaces de atacar ácidos grasos insaturados siendo uno de los principales responsables de la catálisis de la oxidación lipídica (Gray *et al.*, 1996; Decker *et al.*, 1993). Como consecuencia, la oxidación de lípidos se presenta como decoloración, pérdida de agua, desarrollo de olores y sabores no deseados, así como la producción de potenciales compuestos tóxicos en la carne (Morrissey *et al.*, 1998).

Por otro lado, la oxidación proteica refiere a las modificaciones covalentes que una proteína puede recibir (Shacter, 2000). Estas pueden tener lugar tanto en el enlace peptídico, generando grupos carbonilo, como en las cadenas laterales de los aminoácidos, incluyendo la oxidación de grupos tioles e hidroxilación aromática (Zhang *et al.*, 2013), siendo, probablemente, la cisteína y metionina los aminoácidos más propensos al ataque oxidativo debido a la presencia de azufre en su cadena lateral (Shacter, 2000). Todas estas modificaciones pueden tener un impacto en aspectos sensoriales, así como fisicoquímicos y nutricionales, incluyendo modificaciones en aminoácidos esenciales, polimerización proteica, pérdida en actividad enzimática, digestibilidad y bioaccesibilidad proteica (Estévez, 2011).

1.3.2. Especies reactivas, radicales libres y estrés oxidativo

El término especies reactivas del oxígeno, nitrógeno u otros elementos (ROS y RNS, en su sigla en inglés: Reactive Oxygen Species y Reactive Nitrogen Species, respectivamente) hace referencia al conjunto de radicales libres y derivados no-radicales, que son agentes oxidantes y/o pueden ser fácilmente convertidos en radicales (Halliwell, 2006). Un radical libre es cualquier especie capaz de existir independientemente, conteniendo uno o más electrones desapareados (Halliwell, 1994). Debido a esta condición, son inestables y altamente reactivos, generando oxidaciones en macromoléculas y daños celulares (Lobo *et al.*, 2010).

Dentro de las ROS, los radicales libres más destacados son el anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$), el radical hidroxilo ($\bullet OH$), el radical peroxilo ($ROO\bullet$) y el radical alquilo ($RO\bullet$).

Dentro de las RNS, los radicales más destacadas son el óxido nítrico (NO•) y el dióxido de nitrógeno (NO₂•). A su vez, como fue mencionado anteriormente, los radicales libres de oxígeno y nitrógeno pueden ser rápidamente convertidos en otras especies reactivas “no radicales” como lo son el peróxido de oxígeno (H₂O₂), oxígeno singlete (¹O₂), ácido hipocloroso (HOCl), ácido nitroso (HNO₂), peroxinitrito (ONOO⁻) y trióxido de dinitrógeno (N₂O₃) (Srdic-Rajic y Konic Ristic, 2016).

La oxidación es la transferencia de electrones de un átomo a otro y representa una parte esencial del metabolismo aeróbico (Davies, 1995). Bajo condiciones fisiológicas normales, las especies reactivas del oxígeno se generan continuamente *in vivo*, tanto como productos secundarios del metabolismo energético mitocondrial o como productos de señalización biológica (Halliwell, 1994). Las células se encuentran en homeostasis, es decir que buscan un balance entre la producción de agentes oxidantes y el control de estos a través de los antioxidantes. Sin embargo, un desbalance entre ambos, a favor de los oxidantes, conduce a potenciales daños y se define como estrés oxidativo (Sies, 1997).

Luego del sacrificio del animal ocurren cambios bioquímicos que interrumpen el equilibrio entre los sistemas pro-oxidantes y antioxidantes que trabajan *in vivo*, de esta manera las reacciones oxidativas en las etapas posteriores al sacrificio se ven favorecidas, tanto en el proceso de transición de músculo a carne como durante el manejo, procesamiento y almacenamiento de la misma (Kumar *et al.*, 2015).

1.3.3. Sistema antioxidante

Para controlar y contrarrestar la acción de las especies reactivas y radicales libres, los organismos han desarrollado un sistema de defensa antioxidante. En sistemas biológicos, un antioxidante puede ser definido como una molécula que, cuando está presente en bajas concentraciones en comparación con las de un sustrato oxidable, previene o retrasa significativamente la oxidación de ese sustrato (Halliwell, 1990).

En alimentos, los antioxidantes son compuestos que prolongan la vida útil de los mismos al protegerlos contra el deterioro causado por la oxidación. Chipault en 1962, definió antioxidante como sustancias que en pequeñas cantidades son capaces de prevenir o retrasar en gran medida la oxidación de materiales fácilmente oxidables como las grasas (Venskutonis, 2014).

La defensa antioxidante está conformada por una gran variedad de compuestos que interactúan con las especies reactivas previniendo su formación, secuestrándolos, promoviendo su descomposición o conversión (Lobo *et al.*, 2010). En primera instancia, los compuestos antioxidantes pueden ser agrupados en dos categorías, enzimas y compuestos no enzimáticos. Dentro de los antioxidantes enzimáticos se encuentran las enzimas catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) glutatión reductasa (GR) y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH). Los compuestos antioxidantes no enzimáticos comprenden un amplio grupo, que incluye, cofactores, minerales, vitaminas, compuestos organosulfurados, carotenoides, compuestos fenólicos, compuestos nitrogenados no proteicos, entre otros (Carocho y Ferreira, 2013).

Las enzimas antioxidantes, catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión reductasa (GR), junto con algunos metales antioxidantes, como Se, Mn, Cu y Zn, conforman la primera línea preventiva de defensa del estatus antioxidante y se encargan de convertir productos metabólicos oxidados en peróxido de hidrógeno y posteriormente en agua (Lobo *et al.*, 2010; Irshad y Chaudhuri, 2002). Por otro lado, los antioxidantes no enzimáticos representan la segunda línea de defensa y se encargan de reaccionar frente a la acción de los radicales libres (Lobo *et al.*, 2010). Debido a su amplio rango de acción, podemos encontrar compuestos antioxidantes no enzimáticos tanto en el citosol (hidrosolubles o hidrofílicos) como en las membranas celulares (liposolubles o lipofílicos) (Sies, 1997).

El conjunto de enzimas y compuestos lipofílicos e hidrofílicos con actividad antioxidante presentes en los músculos esqueléticos, comprenden tanto componentes sintetizados de manera endógena en el animal como moléculas incorporadas de manera exógena. Asimismo, tanto la concentración como actividad de todos estos compuestos pueden verse alterados según factores de la dieta, y pueden variar según el tipo de músculo (Chan *et al.*, 1994). Dentro de los antioxidantes endógenos presentes en la carne, podemos encontrar enzimas (SOD, CAT y GPx), compuestos de naturaleza hidrofílica, como péptidos (anserina y carnosina), ácido ascórbico (vitamina C) y glutatión (GSH), y de naturaleza lipofílica como la Coenzima Q₁₀ o Ubiquinol-10. Por otro lado, dentro de los compuestos con actividad antioxidante incorporados de manera exógena podemos encontrar de naturaleza hidrofílica como los compuestos fenólicos, y lipofílica como los tocoferoles (vitamina E) y carotenoides (Martínez *et al.*, 2014; Briviba y Sies, 1993).

1.3.4. Influencia del sistema de producción, tipo de músculo y la maduración sobre el sistema antioxidante de la carne

Diversos trabajos han demostrado que la capacidad de resistir frente a la oxidación depende de la composición de antioxidantes que posee la carne, y este varía según la especie del animal, el músculo, el sistema de producción y el tiempo de maduración de la carne (Terevinto *et al.*, 2019; Pouzo *et al.*, 2016; Terevinto *et al.*, 2015; Descalzo *et al.*, 2008; Descalzo *et al.*, 2007; Descalzo *et al.*, 2005; Gatellier *et al.*, 2004; Mercier *et al.*, 2004; Realini *et al.*, 2004).

Con el fin de retardar la oxidación lipídica y proteica, para preservar las características asociadas a la calidad de la carne, muchos trabajos se han enfocado en modular la concentración de compuestos no enzimáticos con actividad antioxidante tanto exógenos como endógenos a través de diferentes factores (Descalzo y Sancho, 2008). Aquellos que son más activos en cuanto a la protección de la oxidación de la carne son las vitaminas C y E, carotenoides y flavonoides, los cuales no pueden ser

sintetizados por los animales, y dentro de los alimentos, el forraje es una buena fuente en comparación con los cereales (D'Agata *et al.*, 2009).

1.3.4.1. Sistema de producción

La estrategia de modular la alimentación es el factor más utilizado como herramienta para mejorar y/o controlar la calidad de la carne (Andersen *et al.*, 2005). Diversos estudios han puesto en evidencia que la carne proveniente de sistemas de producción pastoril posee un mayor contenido de ácidos grasos de cadena larga, los cuales son más susceptibles a la oxidación en comparación con la carne proveniente de terminación con concentrado (Cabrera y Saadoun, 2014). Sin embargo, se ha propuesto también que el sistema de producción en base a pasturas, genera una carne con mayor resistencia a la oxidación, mayores defensas antioxidantes (Terevinto *et al.*, 2015), mayor contenido de péptidos bioactivos antioxidantes (Cabrera *et al.*, 2015) y por ende mejor estatus antioxidante.

1.3.4.2. Tipo de músculo

La composición de compuestos antioxidantes presentes en la carne, tanto los que son producidos de manera endógena como aquellos que provienen de la dieta, pueden variar según el tipo de músculo que se analice. A pesar de que todos los músculos están conformados por tejido muscular esquelético, cada uno posee diferentes relaciones de las distintas fibras musculares y difieren de acuerdo a características moleculares, metabólicas y estructurales (Choi y Kim, 2009). Por lo tanto existen variaciones en características de calidad de la carne en los músculos de un mismo animal (Klont *et al.*, 1998). Mientras que los músculos blancos, como el *Longissimus dorsi*, poseen fibras con baja concentración de mioglobina y su metabolismo es mayoritariamente glucolítico, los músculos intermedios, como el *Psoas major*, están compuestos por fibras rojas y blancas, las cuales no utilizan un metabolismo preferentemente sobre el otro, sino que poseen una mezcla de metabolismo oxidativo y glucolítico (Cobos y Díaz, 2015; Lefaucheur, 2010). El metabolismo de ROS

difiere entre músculos glucolíticos y oxidativos, aquellos que poseen fibras glucolíticas liberan mayor cantidad de H₂O₂ que los que poseen mayor cantidad de fibras oxidativas. Asimismo, la actividad de enzimas antioxidantes (SOD, CAT y GPx) es menor en músculos glucolíticos en comparación con músculos oxidativos (Picard *et al.*, 2012).

1.3.4.3. Maduración

Durante el proceso de maduración de la carne, la acción sinérgica de enzimas endógenas, catepsinas, calpaínas y proteasomas, junto con los cambios físico-químicos provocados por el descenso de pH, generan cambios estructurales y por ende productos con mejores cualidades sensoriales (Ouali *et al.*, 2006). Mientras que la degradación y oxidación de proteínas son los mecanismos responsables de generar productos más tiernos (Lonergan *et al.*, 2010), la liberación de péptidos, aminoácidos y ácidos grasos, que posteriormente podrán ser oxidados e interaccionar, serán los responsables de generar mejores cualidades de sabor y aroma (Khan *et al.*, 2016).

En los músculos *post-mortem*, además del descenso de pH y el incremento en la fuerza iónica, que se asocian a mejores cualidades sensoriales, se observa un aumento en la formación de especies reactivas de oxígeno (Bowker *et al.*, 2010). La lipólisis, proteólisis y oxidación son las principales reacciones bioquímicas que ocurren durante el proceso de maduración (Khan *et al.*, 2016). Algunos compuestos con capacidad antioxidante, como las vitaminas, se ven reducidos con el tiempo de maduración (Descalzo *et al.*, 2008). Otros componentes, como algunas enzimas antioxidantes no varían significativamente (Insani *et al.*, 2008). Sin embargo, los resultados con respecto a la capacidad antioxidante son variantes. Mientras que en algunos trabajos no se ve afectada, en otros se ve levemente disminuida (Pouzo *et al.*, 2016; Descalzo *et al.*, 2008).

1.4. ESTUDIO *IN VITRO* DEL ESTATUS ANTIOXIDANTE

El estudio del estatus antioxidante en alimentos, particularmente en la carne, permite conocer su relación frente a la protección contra procesos de oxidación durante su preservación, evitando de esta manera pérdidas en su valor nutricional y comercial (Singh y Singh, 2008).

Numerosos métodos y ensayos han sido utilizados para investigar las propiedades antioxidantes en una muestra alimentaria. Dependiendo de la naturaleza del alimento o el parámetro que se quiera determinar, se puede medir la capacidad antioxidante (CA) del alimento, el contenido total de determinado tipo o grupo de antioxidantes, el contenido específico de un antioxidante, entre otros (Oroian y Escriche, 2015; Alam *et al.*, 2013).

1.4.1. Capacidad antioxidante (CA)

El término actividad antioxidante, refiere a la medida de un antioxidante determinado al reaccionar frente a un agente oxidante específico bajo condiciones estipuladas. En cambio, la capacidad antioxidante (CA) es la medida que posee una solución, conteniendo una mezcla de antioxidantes, de enmascarar un radical libre dado, independientemente de la actividad individual de cada compuesto presente. Debido a la complejidad de la matriz de los alimentos, la separación de cada compuesto con actividad antioxidante se torna difícil, costoso e ineficiente. Asimismo, el estudio individual de cada uno no tiene en cuenta las posibles interacciones sinérgicas de los mismos. La evaluación de la capacidad antioxidante de los alimentos comprende metodologías que permiten conocer, en un panorama general, las propiedades de los mismos. Es decir, se determina el accionar en conjunto de la mezcla de antioxidantes presentes (Gülcin, 2012; MacDonald-Wicks *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2005; Ghiselli *et al.*, 2000).

Diferentes ensayos son utilizados para evaluar la capacidad antioxidante de alimentos *in vitro*. A pesar de que estos no son representativos del equilibrio redox que ocurre *in vivo*, abarcan los efectos aditivos y sinérgicos de los compuestos antioxidantes en un producto, por lo que aún proporciona una imagen más realista que el estudio individual de diferentes componentes (Henrion *et al.*, 2018). Los métodos utilizados para determinar la capacidad antioxidante requieren condiciones experimentales sencillas y se basan en diferentes estrategias (Dorta *et al.*, 2018). Dentro de las técnicas mayormente utilizadas se encuentran el ensayo de decoloración del radical DPPH• (DPPH), el ensayo de decoloración del radical ABTS•+ (ABTS) y el ensayo de poder antioxidante reductor del hierro (FRAP) (Gülcin, 2012).

Según el mecanismo de reacción llevado a cabo para desactivar los radicales, estos métodos pueden ser clasificados en dos grupos. Por un lado, se encuentran los métodos que determinan la capacidad que posee un antioxidante para enmascarar un radical libre mediante la transferencia de un átomo de hidrógeno (HAT-hydrogen atom transfer) (Gülcin, 2012). Por otro lado, los métodos basados en la transferencia de un electrón (SET-single electron transfer) detectan la capacidad que posee un potencial antioxidante (dador de electrones) de reducir un compuesto (radicales, metales, entre otros) a través de una reacción redox. Esta transferencia genera un cambio de estructura en el compuesto oxidante y como consecuencia un cambio de color, el cual puede ser monitoreado espectrofotométricamente y será proporcional a la concentración de antioxidantes presentes en la muestra. El ensayo FRAP es un método SET. Dentro de este grupo también se encuentran los ensayos DPPH y ABTS (Huang *et al.*, 2005; Prior *et al.*, 2005), sin embargo, estos dos son capaces de accionar mediante ambos modos (SET y/o HAT). Dependiendo de las condiciones de reacción, como el solvente y el pH utilizado, presentarán en diferentes grados cada uno de los mecanismos (Sun *et al.*, 2018). En los solventes más ampliamente utilizados, como etanol y metanol, los mecanismos de reacción basados en transferencia de hidrógenos (HAT) ocurren más lentamente (MacDonald-Wicks *et al.*, 2006).

A pesar de la simplicidad de los ensayos, se debe considerar que al determinar la capacidad antioxidante de una muestra mediante estos métodos, la misma va a depender y diferir según el agente oxidante al cual se está enfrentando y las condiciones en las cuales fue realizado el ensayo. También, debe tenerse en cuenta que un único ensayo no refleja la complejidad de interacciones presentes en la muestra y por lo tanto, emplear en conjunto este tipo de determinaciones brinda una idea general y complementaria de la capacidad de los antioxidantes presentes de actuar en conjunto (MacDonald-Wicks *et al.*, 2006).

En este trabajo, se evaluará la capacidad antioxidante, en carne proveniente de distintos tratamientos, a través de diferentes métodos con el fin de comparar y obtener resultados globales en cuanto al estatus antioxidante y su relación con aspectos de la calidad nutricional y tecnológica, en los que luego se podrá profundizar.

1.4.1.1. Extracción de compuestos antioxidantes

Los métodos analíticos utilizados para el estudio de la capacidad antioxidante en alimentos requieren, previo a su ejecución, una extracción de los mismos de la matriz alimentaria (Oroian y Escriche, 2015). Este paso juega un rol clave y crucial, ya que se reflejará en el resultado final obtenido.

La extracción con solventes es una operación de separación sencilla, ampliamente utilizada, en la cual se aplica un solvente selectivo para separar compuestos deseados de un alimento sólido. El factor de separación será el equilibrio químico del componente entre la fase sólida y líquida (Oroian y Escriche, 2015), y la extracción estará determinada por la capacidad que posee el solvente de disolver el soluto, de ser selectivo por el compuesto de interés frente a una muestra compleja y no reaccionar químicamente con él de forma adversa (Lloyd y van Wyk, 2012).

1.4.1.2. Ensayos de decoloración de radicales estables DPPH• (DPPH) y ABTS•+ (ABTS)

El ensayo DPPH es uno de los métodos más antiguos para determinar la capacidad antioxidante de una muestra (Roginsky y Lissi, 2005). Se basa en la determinación de la reducción del radical estable DPPH• (2,2-difenil-1-picrylhydrazyl) (Fig. 1) provocando un descenso en la absorbancia, la cual es monitoreada a una determinada longitud de onda (Brand-Williams *et al.*, 1995).

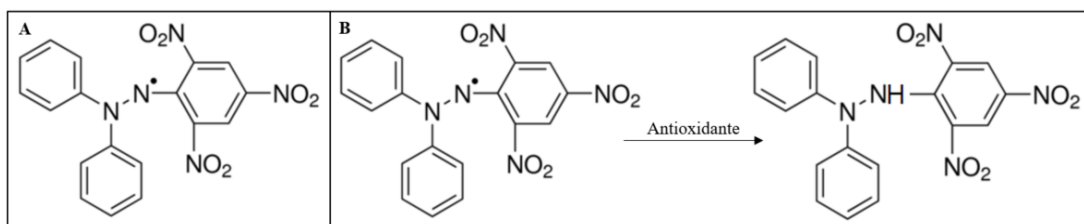


Figura 1. Ensayo DPPH. **A.** Radical estable DPPH (2,2-difenil-1-picrylhydrazyl) (DPPH•); **B.** Principio del ensayo de decoloración del radical estable DPPH•. Figura adaptada de de Oliveira *et al.*, 2014.

Dependiendo de las condiciones, este ensayo permite evaluar la capacidad de antioxidantes como la cisteína, el glutatión, el ácido ascórbico, tocoferoles y compuestos polihidroxi aromáticos (Kedare y Singh, 2011; Brand-Williams *et al.*, 1995).

En el ensayo ABTS, el catión radical (ABTS•+) es generado mediante la oxidación del ABTS (2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) con el agente oxidante persulfato de potasio (Fig. 2), presentando un color intenso. Su inhibición, provocada por la reducción mediada por compuestos antioxidantes, genera un cambio de color que puede ser monitoreado espectrofotométricamente a 734 nm (Re *et al.*, 1999).

Este método proporciona una medida de la actividad antioxidante generada por carotenoides, flavonoides, fenoles, glutatión, vitaminas C y E (Re *et al.*, 1999; Miller y Rice-Evans, 1997).

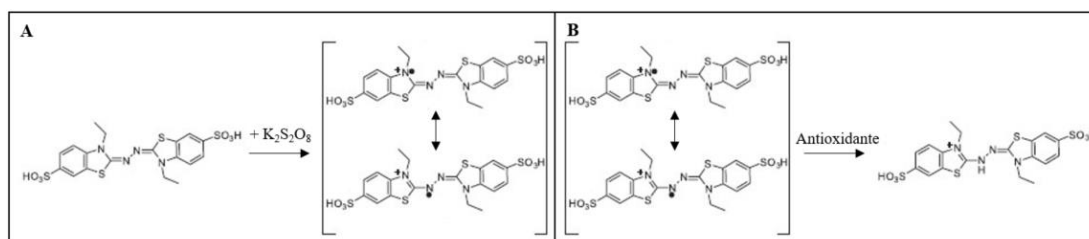


Figura 2. Ensayo ABTS. **A.** Estructura de ABTS (2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) y formación del catión radical (ABTS•+) con persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$); **B.** Principio del ensayo de decoloración del catión radical ABTS•+. Figuras tomadas y adaptadas de de Oliveira *et al.*, 2014.

La absorbancia de la mezcla de reacción entre el radical ABTS•+ y los antioxidantes es comparada con la del antioxidante estándar Trolox, y los resultados pueden ser expresados en término de capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC- del inglés Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) (Re *et al.*, 1999).

1.4.1.3. Ensayo de poder antioxidante reductor del hierro (FRAP)

Contrario a los métodos anteriormente presentados, el ensayo FRAP no incluye la utilización de radicales, sino que se basa en una reacción redox llevada a cabo bajo condiciones fijas, en las cuales una molécula señal oxidada cambia de color cuando es reducida por la acción de compuestos reductores capaces de donar electrones presentes en la muestra de interés (Benzie y Devaki, 2018).

El método mide la capacidad que poseen los antioxidantes presentes en la muestra de reducir hierro férrico (Fe^{3+}) a su forma ferrosa (Fe^{2+}). En presencia del compuesto 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) la reducción está acompañada por la formación del complejo coloreado Fe^{2+} -TPTZ y puede ser monitoreada espectrofotométricamente a 593 nm mediante el cambio de absorbancia generado (Fig. 3). Los resultados son obtenidos al comparar dichas absorbancias con las que resultan de una solución con iones ferrosos en concentraciones conocidas (Benzie y Strain, 1996).

Compuestos como α -tocoferol y ácido ascórbico son capaces de reducir el hierro férrico a ferroso (Benzie y Strain, 1999). Los compuestos fenólicos también son

capaces de llevar a cabo esta reducción, y su poder reductor parece estar asociado al grado de hidroxilación y conjugación que presentan. Sin embargo, el ensayo FRAP no puede detectar compuestos como el glutatión o proteínas que presentan grupos sulfhidrilos (Cerretani y Bendini, 2010).

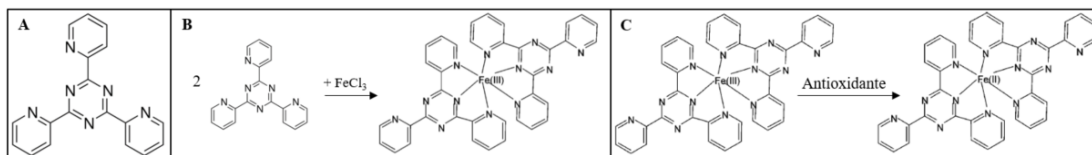


Figura 3. Ensayo FRAP. **A.** Estructura de TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina); **B.** Formación del complejo férrico tripiridiltriazina (Fe^{+3} -TPTZ) a partir de TPTZ y cloruro de hierro (III) (FeCl_3); **C.** Principio del ensayo de poder antioxidante reductor del hierro (FRAP). Figuras tomadas y adaptadas de Huang *et al.*, 2005.

El hierro es el metal de transición más abundante en los sistemas biológicos, el tejido muscular posee las concentraciones más altas, siendo las formas Fe^{2+} y Fe^{3+} las más importantes (Min y Ahn, 2005). Como fue mencionado anteriormente, el cambio en la distribución y liberación de este metal durante la maduración de la carne, lo hacen ser un pro-oxidante capaz de atacar lípidos y proteínas, afectando de esta manera la calidad de la carne obtenida. Es por esta razón la importancia del estudio de compuestos antioxidantes presentes en la carne de actuar frente a formas oxidadas del hierro.

1.4.1.4. Procedimiento QUENCHER

Muchos de los métodos utilizados para determinar la capacidad antioxidante en alimentos dependen de la extracción de los compuestos antioxidantes presentes en la matriz alimentaria. Asumiendo que el extracto obtenido es representativo del potencial antioxidante del alimento. La mayor parte de los alimentos contienen varios tipos de fracciones de compuestos antioxidantes. Estos pueden ser tanto lipofílicos o hidrofílicos, pueden estar libres o unidos a la matriz alimentaria mediante uniones químicas o atrapamiento físico (Fig. 4) (Gökmen *et al.*, 2009).

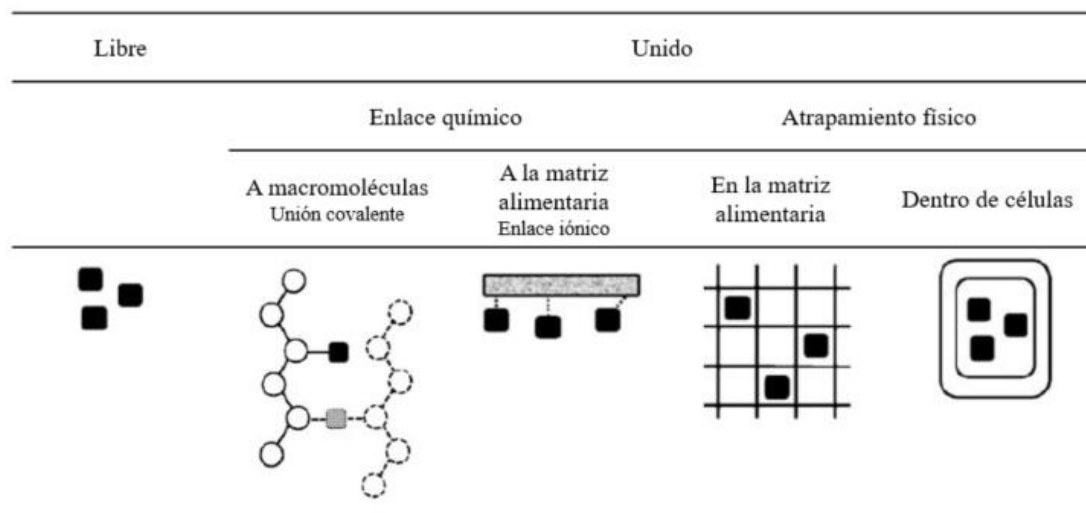


Figura 4. Esquema de las posibles localizaciones y formas de encontrar los compuestos antioxidantes en una matriz alimentaria. Imagen tomada y adaptada de Gökmen *et al.*, 2009.

Bajo este lineamiento, Gökmen *et al.* (2009) desarrollaron un nuevo acercamiento para determinar la capacidad antioxidante de un alimento “QUick, Easy, New, CHEap and Reproducible”, denominada QUENCHER. Se basa en la medición directa de la muestra sólida al reaccionar con una solución conteniendo radicales libres seguida de una medición espectrofotométrica, omitiendo todo paso de extracción. Este procedimiento puede ser adaptado para ser utilizado con los ensayos DPPH, ABTS y FRAP.

La hipótesis de trabajo de la metodología se basa en que la fracción de compuestos antioxidantes solubles, ejercen su capacidad antioxidante enmascarando directamente los radicales presentes en el solvente. Mientras que al mismo tiempo, aquellos compuestos insolubles, son capaces de ejercer su capacidad antioxidante por medio de la reacción superficial que ocurre en la interfaz sólido-líquida de la matriz alimentaria y los radicales en solución (Serpén *et al.*, 2007).

1.4.2. Contenido de grupos sulfhidrilos (SH)

Los sulfhidrilos o tioles (SH) son un grupo funcional formado por un átomo de azufre y otro de hidrógeno. Estos se encuentran en los organismos formando

compuestos sulfurados indispensables para la vida (Atmaca, 2004). En las células, los grupos sulfhidrilos se encuentran presentes en los residuos de cisteína de distintos compuestos, brindando sitios para la formación de puentes con iones metálicos, reacciones electrofílicas y de oxidación/reducción (Biswas *et al.*, 2006).

Una de las funciones más destacadas que poseen es su efecto amortiguador redox mediado por el intercambio tiol-disulfuro (Deneke, 2000). Además, son capaces de enmascarar especies reactivas, actuar enzimáticamente mediante la GPx y a través de su capacidad de unión a metales, prevén la formación de especies reactivas (Battin y Brumaghim, 2009).

En la carne la mayor parte de los grupos SH se encuentra en las proteínas musculares, pero existe otra fracción que forma parte del compuesto de bajo peso molecular glutatión. La importancia de estos grupos se basa en su influencia sobre la calidad sensorial así como en el valor nutricional de la carne. Una de las consecuencias de la oxidación proteica, debido al ataque de especies reactivas, es la modificación de los grupos SH. Estas modificaciones pueden afectar tanto el flavor como la textura, ternura y la disponibilidad de ciertos aminoácidos de gran importancia para la nutrición humana (Hofmann y Hamm, 1978). Por esta razón la determinación de estos grupos es de gran importancia ya que puede ser un indicativo del estado de oxidación de las proteínas y pequeñas moléculas que componen a la carne.

La determinación de los grupos sulfhidrilos puede ser llevada a cabo mediante una variedad de técnicas. La reacción de los grupos tiol frente a diferentes reactivos conduce a la formación cuantitativa de cromóforos, fluoróforos o modificaciones covalentes, que pueden ser determinados mediante técnicas espectrofotométricas, de fluorescencia, cromatográficas y electroquímicas (Winther y Thorpe, 2014). Entre todos estos métodos, la cuantificación espectrofotométrica utilizando el reactivo de Ellman es el ensayo más ampliamente utilizado, donde la cuantificación se lleva a cabo de manera indirecta mediante la determinación del cromóforo TNB (ácido 5-

tio-2-nitrobenzoico), que es liberado debido a la formación de un aducto entre el sulfhidrilo y el reactivo DTNB (Chen *et al.*, 2008).

1.4.3. Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT)

El término compuestos fenólicos refiere a un amplio grupo de compuestos sintetizados por las plantas debido a su metabolismo secundario. Se caracterizan por poseer en su estructura química uno (fenol) o más (polifenol) anillos aromáticos con sustituyentes hidroxilo (Lattanzio *et al.*, 2008). En las plantas, no sólo contribuyen con la pigmentación y características sensoriales, sino que también son responsables de la actividad antioxidante (Shahidi y Zhong, 2010b). Su potencial antioxidante depende del número y del arreglo de grupos hidroxilo, y actúan enmascarando radicales libres inhibiendo el paso de iniciación en la oxidación lipídica (Shahidi y Ambigaipalan, 2015).

La mayoría de los compuestos fenólicos son solubles en agua debido a que en la naturaleza generalmente se encuentran combinados con azúcares como glucósidos (Harborne, 1984).

Los ensayos espectrofotométricos, en particular el método de Folin-Ciocalteu, son las técnicas relativamente más sencillas y ampliamente utilizadas para la cuantificación de compuestos fenólicos (Khoddami *et al.*, 2013). En un medio alcalino, la reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu, conformado por una mezcla de tungstato y molibdato, se basa en la transferencia de electrones de los compuestos fenólicos y otras especies reductoras hacia el molibdeno, formando complejos azules que pueden ser detectados espectrofotométricamente (Gülcin, 2012).

1.4.4. Contenido de glutatión (GSH + GSSG)

El glutatión es un tripéptido conformado por los aminoácidos cisteína, glutamato y glicina (γ -L-Glutamil-L-cisteinil-glicina). Se trata del compuesto antioxidante de

bajo peso molecular más importante en las células. El grupo tiol o sulfhidrilo que aporta la cisteína, se ocupa de cumplir las funciones de reducción y conjugación de reacciones (Forman *et al.*, 2009). El glutatión actúa de forma directa eliminando especies reactivas, es el co-factor del sistema enzimático glutatión peroxidasa (GPx)-glutatión reductasa (GR), y es capaz de regenerar las vitaminas C y E a sus formas activas (Kurutas, 2016).

El GSH (forma reducida) también puede encontrarse en otras formas, siendo el glutatión disulfuro (GSSG) una de sus formas oxidadas (Fig. 5). El contenido de glutatión total (reducido (GSH) y oxidado (GSSG)), conforma y mantiene el sistema redox de las células, y por lo tanto la concentración de GSH total, como la relación entre las concentraciones de GSH/GSSG son un marcador de estrés oxidativo (Gaucher *et al.*, 2018, Lushchak, 2012).

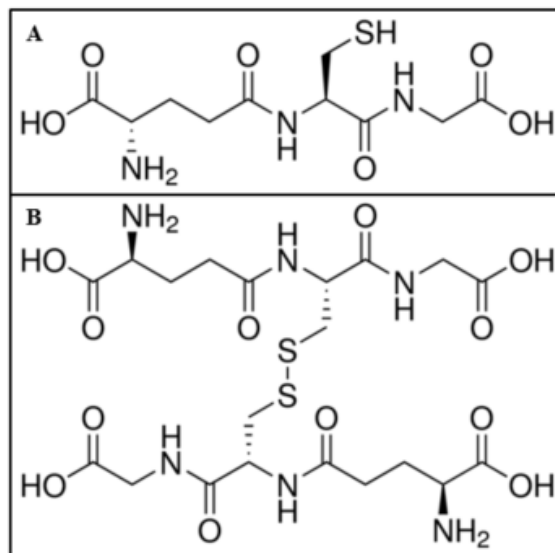


Figura 5. Estructuras moleculares del glutatión (γ -L-Glutamil-L-cisteinil-glicina). **A.** Glutatión en su forma reducida (GSH); **B.** Glutatión disulfuro, forma oxidada (GSSG).

La carne es una excelente fuente de glutatión y por lo tanto su determinación puede ser un indicador del estado redox de la misma (Descalzo y Sancho, 2008). Diversos métodos han sido introducidos para determinar el contenido de glutatión en muestras biológicas. Dentro de las determinaciones espectrofotométricas, el ensayo de

reciclaje utilizando el reactivo de Ellman o DTNB (5, 5'-ditiobis- (ácido 2-nitrobenzoico)) es uno de los más usados, es rápido y su precisión se basa en la utilización de la enzima glutatión reductasa (Rossi *et al.*, 2002).

1.4.5. Contenido de α -tocoferol

El α -tocoferol (Fig. 6) forma parte de un grupo de compuestos lipofílicos identificados como vitamina E (α -, β -, γ - y δ -tocoferoles y α -, β -, γ - y δ -tocotrienoles) que presentan la misma estructura química básica, pero difieren en la saturación de su cadena lateral y el grado de metilación de su grupo cromanol. La forma mayormente distribuida en la naturaleza y biológicamente más activa en mamíferos es el α -tocoferol (Colombo, 2010). Por esta razón muchas veces se utiliza indistintamente el término vitamina E para referirse a este tocoferol.

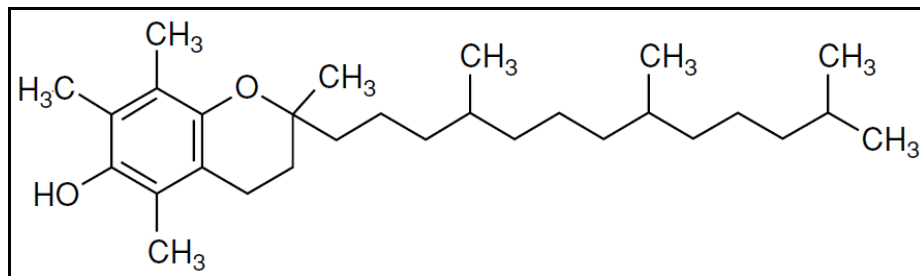


Figura 6. Estructura molecular del α -tocoferol

Se cree que la principal función bioquímica que presenta este compuesto es su actividad antioxidante, la cual está asociada a las propiedades redox de sus anillos cromano, capaces de donar electrones (Sies y Stahl, 1995). Se encarga de proteger los grupos acilo de los ácidos grasos poliinsaturados, estabiliza las membranas y enmascara ROS y subproductos liposolubles del estrés oxidativo (Sattler *et al.*, 2003). Al enmascarar los radicales peroxilo, los inhabilita para actuar en pasos siguientes de la reacción en cadena de la peroxidación lipídica, por lo que esta se ve interrumpida (Di Mascio *et al.*, 1991).

Los tocoferoles son sintetizados en las membranas de los plastidios exclusivamente por organismos fotosintéticos, incluyendo las plantas (Sattler *et al.*, 2003). Por lo que la presencia de estos en los animales estará determinada por su aporte en los alimentos. El aporte dietario de vitamina E en bovinos ha demostrado tener efectos positivos sobre la calidad de la carne obtenida, aportando no sólo a mejorar pérdidas económicas en aspectos tecnológicos, sino que también agregando un valor nutricional para el consumidor (Liu *et al.*, 1995). Durante el almacenamiento de la carne, el α -tocoferol previene la pérdida de agua y retrasa la oxidación de lípidos, mejorando la estabilidad lipídica y el descoloramiento (Nassu *et al.*, 2011). Por esta razón, diversos trabajos han estudiado la incorporación de vitamina E en la carne a través de la alimentación de los animales, utilizando diferentes sistemas de producción (Luciano *et al.*, 2011; Röhrle *et al.*, 2011; De la Fuente *et al.*, 2009; Descalzo *et al.*, 2008; Mercier *et al.*, 2004; Gatellier *et al.*, 2004) o suplementando las dietas (Descalzo *et al.*, 2007; Descalzo *et al.*, 2005; Realini *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2002).

El análisis de tocoferoles en muestras alimenticias es un asunto desafiante debido a las bajas concentraciones presentes en las matrices cárnicas. A pesar de que existen ensayos colorimétricos, los ensayos cromatográficos, especialmente en HPLC, se tornaron los mayormente utilizados ya que permiten realizar un análisis cualitativo y cuantitativo (Pacífico *et al.*, 2012).

1.5. CONSIDERACIONES FINALES

El sistema de producción de los animales, tanto la alimentación como el ejercicio físico, provee un amplio número de antioxidantes que ayudan a construir el sistema antioxidante responsable de prevenir daños tanto *in vivo* como en los productos obtenidos luego de la faena de los animales. Por otra parte, los distintos músculos se diferencian en aspectos estructurales y metabólicos, que se traducen en la calidad de la carne obtenida. Por último, la maduración por largos períodos es una estrategia de Uruguay como país exportador que le ha permitido conquistar mercados. Este

proceso aporta cambios bioquímicos y estructurales que afectarán la liberación y estado de ciertos compuestos de interés. En este sentido, el conocimiento que este estudio pretende aportar es información relevante en cuanto al estatus antioxidante global en carne bovina proveniente de sistemas pastoriles uruguayos en músculos de gran valor comercial y de larga maduración, enfatizando aspectos que poseen estos debido a su fuerte impronta pastoril. Asimismo, el desarrollo de este trabajo culminará con la entrega de un paquete de técnicas para caracterizar el estatus antioxidante en carne, nunca antes puestas en marcha en conjunto.

1.6. OBJETIVOS

1.6.1. General

El objetivo de este trabajo fue estudiar el estatus antioxidante de la carne bovina de novillos Aberdeen Angus en función del sistema de producción, tipo de músculo y tiempo de maduración, a través de la aplicación de diferentes métodos de determinación de la capacidad antioxidante, del estatus oxidativo y compuestos antioxidantes.

1.6.2. Específicos

(i) Determinar la capacidad antioxidante, en la carne de novillos Aberdeen Angus de dos sistemas de producción, en tres tiempos de maduración, a través del ensayo de decoloración del radical DPPH• (DPPH), ensayo de decoloración del radical ABTS•+ (ABTS) y ensayo del poder antioxidante reductor del hierro (FRAP), y del procedimiento QUENCHER a través de los ensayos DPPH, ABTS y FRAP.

(ii) Determinar el estatus oxidativo, en la carne de novillos Aberdeen Angus de dos sistemas de producción, en tres tiempos de maduración, a través de la determinación del contenido de grupos sulfhidrilos totales.

(iii) Determinar el contenido de los antioxidantes, compuestos fenólicos totales, glutatión total y α -tocoferol, en la carne de novillos Aberdeen Angus de dos sistemas de producción en tres tiempos de maduración.

(iv) Evaluar los cambios que puedan producirse en dichos componentes en dos músculos, *Longissimus dorsi* y *Psoas major*.

1.7. HIPÓTESIS

(i) La capacidad antioxidante y el estatus oxidativo de la carne estaría influenciado por el sistema de producción, el tipo de músculo y el tiempo de maduración.

(ii) El contenido de compuestos antioxidantes de la carne dependería de la predominancia de la base pastoril del sistema de producción, del tipo de músculo y del tiempo de maduración.

(iii) La carne producida en base pastoril mantendría una mayor capacidad antioxidante durante la maduración larga en comparación con la carne de sistema feedlot.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. REACTIVOS

Los siguientes reactivos utilizados fueron adquiridos de Sigma-Aldrich: DPPH (2,2-difenil-1-picrylhydrazyl, D9132, St. Louis, USA), ABTS (2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico), 11204521001, por Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania), Trolox (ácido (\pm)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico, 238813, Shanghai, China), persulfato de potasio (216224, St. Louis, USA), TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina, T1253, Buchs, Suiza), DTNB (5,5'-ditiobis (ácido 2-nitrobenzoico), D8130, St. Louis, USA), BSA (sero albúmina bovina, St. Louis, USA), reactivo de Folin-Ciocalteu (Folin & Ciocalteu's phenol reagent working solution, F9252, St. Louis, USA), ácido gálico (monohidrato 98+%, 398225, St. Louis, USA), enzima glutatión reductasa (de levadura *S. cerevisiae*, G3664, St. Louis, USA), DTNB (5,5'-ditiobis (ácido 2-nitrobenzoico), D8130, St. Louis, USA), β -NADPH (sal tetrasódica reducida hidratada de β -nicotinamida adenina dinucleótido 2'-fosfato, N1630, St. Louis, USA), L-glutatión reducido (G4251, Tokio, Japón) y DL- α -tocoferol (\geq 96% HPLC, T3251, St. Louis, USA).

Los reactivos cloruro férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Suecia) y sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Alemania) fueron adquiridos de J. T. Baker. El SLS (sodio lauril sulfato, 9977-07, Buenos Aires, Argentina) de Bio-Pack y la urea (490758, Val de Reuil, Francia) de Carlo Erba.

Los reactivos y solventes utilizados para la determinación de α -tocoferol fueron de grado HPLC mientras que el resto de los reactivos y solventes fueron de grado analítico.

2.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

2.2.1. Animales y dietas

Este estudio fue llevado a cabo con 20 novillos Aberdeen Angus (2 dientes) de 26-30 meses de edad alimentados de acuerdo a las operaciones comerciales dirigidas por la Sociedad de Criadores de Aberdeen Angus de Uruguay (SCAAU). Los animales fueron criados en base a las condiciones características de Uruguay, pastoreo extensivo sobre pasturas naturales y explotación de los recursos naturales, y separados en dos grupos para su terminación. Por un lado, un grupo de animales denominado pasturas (P), fueron alimentados 130 días antes de la faena en pasturas mejoradas (40% natural y 60% pasto cultivado), la cual consistía de festuca (*Festuca arundinacea*), trébol blanco (*Trifolium repens*) y lotus (*Lotus subbiflorus* cv El Rincón). Por otro lado, el otro grupo fue terminado bajo el sistema feedlot (FL), siguiendo el Reglamento de la Comisión Europea (Número 481/2012). En este sistema, 100 días antes de la faena, los novillos fueron encerrados en corrales y alimentados con concentrado, el cual consistía de ensilaje de planta de sorgo, grano de sorgo húmedo, ensilaje de maíz, pellets de girasol, fuentes minerales, urea e ionóforo.

El día de la faena diez animales de cada grupo fueron seleccionados por peso promedio, con un peso vivo promedio de 495,8 kg y 498,2 kg, P y FL, respectivamente. Todos fueron faenados el mismo día en el frigorífico Breeders & Packers Uruguay (BPU Meat Uruguay), Durazno, Uruguay, y clasificados siguiendo las normas de exportación. El rango para la conformación de la canal de INACUR (Uruguay) y para las clases de gordura, fueron de A y 2, respectivamente, tanto para los animales provenientes de pasturas como feedlot.

2.2.2. Obtención y maduración de las muestras de carne

Luego de la faena las carcasas se mantuvieron refrigeradas a 1-2 °C durante 36 horas post-mortem. Posteriormente, se retiraron los músculos *Longissimus dorsi* (LD), músculo principal del corte bife ancho y *Psoas major* (PM), músculo principal del corte lomo (INAC, 2020) (Fig. 7). Se mantuvieron a 1-2 °C durante su transferencia al laboratorio (3 horas), donde cada músculo se dividió en tres trozos y se envasaron al vacío. Una porción se congeló inmediatamente a -20 °C sin madurar y las otras dos restantes se maduraron a 1-2 °C durante 14 y 30 días, respectivamente. Luego de la maduración estas porciones también fueron congeladas a -20 °C hasta su uso. Las muestras fueron denominadas como: 0 días, 14 días y 30 días de maduración, respectivamente.

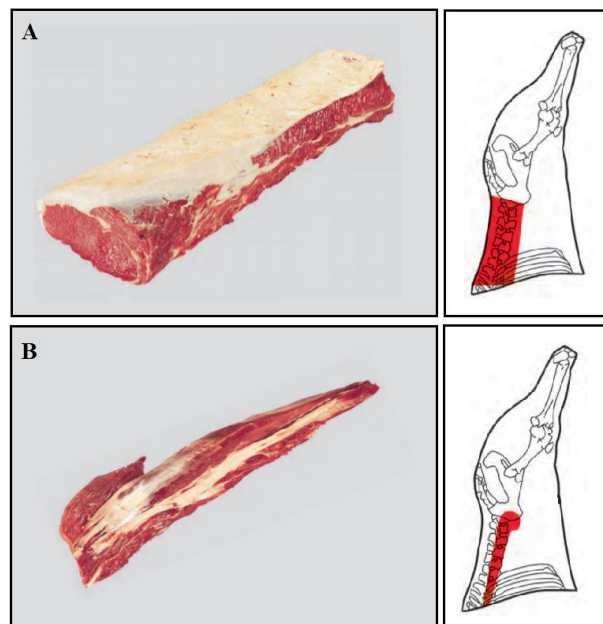


Figura 7. Cortes bovinos utilizados junto con su correspondiente ubicación anatómica. **A.** Bife angosto (músculo principal *Longissimus dorsi*). **B.** Lomo (músculo principal *Psoas major*). Extraído del Manual de Carnes Bovina y Ovina (INAC, 2020).

2.2.3. Procesamiento de las muestras

Para todos los ensayos realizados, a excepción de la cuantificación de α -tocoferol, se trabajó con las muestras liofilizadas. Para ello, se pesaron 10 g de carne de cada tratamiento y se liofilizaron durante 78-156 horas hasta obtenerlas totalmente deshidratadas, posteriormente se almacenaron a -20 °C hasta realizar los análisis pertinentes.

2.2.4. Procedimientos para la extracción de antioxidantes

Los ensayos de decoloración de los radicales DPPH• (DPPH) y ABTS•⁺ (ABTS), el ensayo del poder antioxidante reductor del hierro (FRAP) y la determinación de compuestos fenólicos totales (CFT) se realizaron a partir de extractos de compuestos antioxidantes presentes en las muestras. Se utilizó un método clásico de extracción sólido-líquido de los compuestos antioxidantes basado en la maceración de la carne liofilizada en un solvente junto con una homogenización mecánica. Tanto para los ensayos DPPH y ABTS la maceración se realizó en metanol, mientras que para el ensayo FRAP y determinación de CFT se utilizó agua destilada. Se pesaron 100 mg de muestra liofilizada, se añadieron 2,5 mL de solvente (metanol o agua) y se homogenizó con Ultra-Turrax (T 18 Basic con puntero S18N, IKA, Alemania) a 8000 rpm por 20 segundos en baño de hielo. El homogenizado se centrifugó a 4000 g durante 10 minutos a 4 °C y el sobrenadante fue recuperado y filtrado en papel Whatman N°1 en cámara de frío a 4 °C. El filtrado obtenido se denominó extracto y fue conservado a -20 °C hasta su análisis.

2.2.5. Determinación de la capacidad antioxidante (CA) a partir de extractos

2.2.5.1. Ensayo de decoloración del radical DPPH• (DPPH)

Este ensayo se llevó a cabo según el método desarrollado por Brand-Williams *et al.* (1995) con ciertas modificaciones. Se preparó diariamente una solución de trabajo de

60 μM de DPPH en metanol, se ajustó la absorbancia entre 0,75-0,80 a 525 nm y se mantuvo tapada de la luz hasta su uso. Para realizar las determinaciones, se hicieron reaccionar 150 μL de extracto metanólico con 2850 μL de solución de trabajo DPPH. Se incubó a temperatura ambiente controlada (20 ± 2 °C), tapado de la luz, en agitación (160 rpm) (Unimax 1010, Heidolph, Alemania) por 30, 60, 90, 120, 150, 180 y 210 minutos. Se registró la absorbancia a 525 en espectrofotómetro GENESYS 6-UV (Thermo Corporation, USA). Se incluyó un control que consistía en solución de trabajo con agregado de metanol en lugar de extracto, el cual fue incubado en las mismas condiciones que los tratamientos.

La medida de la capacidad antioxidante fue expresada en μmol de Trolox equivalente por gramo de carne en peso seco ($\mu\text{mol TE/g}$ carne (p.s.)) utilizando Trolox como estándar de referencia. Para ello se realizó una curva de calibración conteniendo concentraciones de 0-500 μM en metanol. Todas las concentraciones de la curva fueron incubadas, en la misma relación que las muestras, con la solución de trabajo DPPH por 30 minutos y posteriormente se registró la absorbancia a 525 nm.

2.2.5.2. Ensayo de decoloración del radical $\text{ABTS}\cdot^+$ (ABTS)

Para el ensayo ABTS, se preparó una solución de 7 mM de ABTS con 2,45 mM de persulfato de potasio en agua destilada. La solución se incubó por 16 horas a temperatura ambiente tapada de la luz previo a su uso para permitir la formación del radical ABTS (Re *et al.*, 1999). Pasado el tiempo de incubación, se preparó la solución de trabajo diluyendo aproximadamente 0,5 mL de solución stock en 50 mL de una solución de agua destilada:etanol absoluto (1:1, v/v) ajustando hasta obtener una absorbancia de $0,70 \pm 0,02$ a 734 nm. La solución de trabajo se preparó diariamente y mantuvo tapada de la luz hasta su uso.

La determinación de la CA para el ensayo ABTS se realizó incubando 80 μL de extracto metanólico con 1920 μL de solución de trabajo, a temperatura ambiente controlada (20 ± 2 °C), tapado de la luz, en agitación (160 rpm) (Unimax 1010,

Heidolph, Alemania) por 30, 60, 90 y 120 minutos. Se registró la absorbancia a 734 nm en espectrofotómetro T70+ UV/Vis (PG Instruments Ltd, UK). Se incluyó un control que consistía en solución de trabajo con agregado de metanol en lugar de extracto, el cual fue incubado en las mismas condiciones que los tratamientos.

La medida de la capacidad antioxidante de las muestras fue expresada como TEAC, capacidad antioxidante equivalente a Trolox (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity de su sigla en inglés) en las unidades μmol Trolox equivalente por gramo de carne en peso seco ($\mu\text{mol TE/g}$ carne (p.s.)). Para ello, se utilizó Trolox como estándar de referencia a través de una curva de calibración conteniendo concentraciones de 0-550 μM en etanol absoluto. Las distintas concentraciones de la curva fueron incubadas con la solución de trabajo ABTS, en la misma relación que las muestras, por 30 minutos y posteriormente se registró su absorbancia a 734 nm.

2.2.5.3. Ensayo del poder antioxidante reductor del hierro (FRAP)

La solución FRAP se preparó siguiendo el método descrito por Benzie y Strain (1996), mezclando 10 mM de TPTZ en 40 mM de HCl, 20 mM de cloruro férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en agua destilada y buffer acetato de sodio 300 mM pH 3,6 (1:1:10, v:v:v). La solución de trabajo FRAP se preparó diariamente y mantuvo tapada de la luz hasta su uso.

Para este ensayo la determinación de la CA se realizó incubando 80 μL de extracto acuoso con 1920 μL de solución de trabajo. Las muestras se incubaron a 37 ± 2 °C, tapadas de la luz, en agitación (160 rpm) (Unimax 1010, Heidolph, Alemania) por 30, 60, 90 y 120 minutos. Se registró la absorbancia a 593 nm en espectrofotómetro T70+ UV/Vis (PG Instruments Ltd, UK). Se incluyó un control que consistía en solución de trabajo con agregado de agua en lugar de extracto, el cual fue incubado en las mismas condiciones que los tratamientos.

Para este ensayo, la capacidad antioxidante de las muestras fue expresada en términos de equivalentes de Fe (II) por gramo de carne en peso seco ($\mu\text{mol Fe (II) E/g carne (p.s.)}$). Para ello, se construyó una curva estándar de calibración utilizando sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) como estándar de referencia (0-1 mM). Todas las concentraciones de la curva fueron incubadas, en la misma relación que las muestras, con la solución de trabajo FRAP por 30 minutos y se registró la absorbancia a 593 nm.

2.2.6. Determinación de la capacidad antioxidante (CA) mediante el procedimiento QUENCHER

El procedimiento QUENCHER fue adaptado para utilizarse tanto con el ensayo DPPH, ABTS y FRAP siguiendo el método descrito por Gökmen *et al.* (2009) y adaptado por Serpen *et al.* (2012a). Previo a comenzar el método, se realizaron diversas pruebas en donde se testearon diferentes cantidades de muestra (10, 50, 100 y 200 mg) en relación a una cantidad fija de volumen de solución de trabajo de cada ensayo (10 mL). Este volumen fue seleccionado en relación a la buena agitación obtenida en los tubos de incubación.

Dado que para el método QUENCHER no es necesario realizar una extracción previa de los compuestos antioxidantes presentes en la muestra, 50 mg (DPPH) y 10 mg (ABTS y FRAP) de carne liofilizada y molida (mortero) se incubaron directamente con 10 mL de solución de trabajo de cada ensayo. Las soluciones de trabajo de cada uno de los ensayos fueron preparadas diariamente en las mismas condiciones que fueron descritas anteriormente. Las muestras se vortexearon por aproximadamente 30 segundos e incubaron a 20 ± 2 °C (DPPH y ABTS) o 37 ± 2 °C (FRAP) a 350 rpm (Unimax 1010, Heidolph, Alemania) por 30 minutos. Posteriormente, se realizó una centrifugación a 10000 g por 5 minutos a 4 °C. Se tomaron 2 mL de sobrenadante y se registró la absorbancia a 525 nm (DPPH), 734 nm (ABTS) o 593 nm (FRAP) (T70+, PG Instruments, UK).

Del mismo modo que para las determinaciones de la capacidad antioxidante a partir de extractos, los resultados se expresaron en términos de Trolox equivalente para el procedimiento QUENCHER utilizando los ensayos DPPH y ABTS, y en términos de catión hierro (II) equivalente para el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo FRAP. Para ello, se realizaron curvas de calibración utilizando Trolox, 0-2000 μM (QUENCHER DPPH) y 0-2500 μM (QUENCHER ABTS), y sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 0-4 mM (QUENCHER FRAP), como estándares de referencia. Las curvas se construyeron incubando 100 μL de cada una de las concentraciones con 9,9 mL de solución de trabajo de cada ensayo por 30 minutos en las mismas condiciones que las muestras. Las absorbancias se registraron en la longitud de onda correspondiente a cada ensayo.

2.2.7. Cálculos para la determinación de la capacidad antioxidante

El porcentaje de inhibición para los ensayos DPPH y ABTS, y el procedimiento QUENCHER utilizando estos dos, fue calculado utilizando la ecuación (1):

$$\text{Inhibición muestra (\%)} = \frac{(\text{Abs blanco} - \text{Abs muestra})}{\text{Abs blanco}} \times 100 \quad (1)$$

En donde la “Abs blanco” refiere a la absorbancia inicial de la solución de trabajo DPPH o ABTS sin la muestra y “Abs muestra” es la absorbancia de la solución de trabajo DPPH o ABTS conteniendo la muestra luego del tiempo de incubación (minutos).

La curva estándar de calibración con Trolox se construyó utilizando la ecuación (2), la cual relaciona el porcentaje de inhibición en función de las distintas concentraciones de Trolox ensayadas:

$$\text{Inhibición Trolox (\%)} = \frac{(\text{Abs blanco} - \text{Abs Trolox})}{\text{Abs blanco}} \times 100 \quad (2)$$

En donde la “Abs blanco” refiere a la absorbancia inicial de la solución de trabajo DPPH o ABTS sin Trolox y “Abs Trolox” es la absorbancia de la solución de trabajo DPPH o ABTS conteniendo Trolox luego del tiempo de incubación (minutos).

En todos los casos, 525 nm y 734 nm fueron las longitudes de onda utilizadas para las medidas de absorbancia basadas en los ensayos DPPH y ABTS, respectivamente.

Posteriormente, se calculó la capacidad antioxidante expresada en términos de Trolox equivalente a través de la ecuación (3), que indica la relación entre el porcentaje de inhibición de la muestra y la pendiente de la curva de calibración Trolox:

$$\left(\frac{\mu\text{mol TE}}{\text{g carne (p. s.)}} \right) = \frac{\left(\frac{\text{Inhibición muestra (\%)} - b}{a} \right) \times V}{m} \quad (3)$$

En donde “a” representa la pendiente de la curva de calibración Trolox, “b” el término independiente de la misma, “V” es el volumen de solvente utilizado en la extracción de antioxidantes para los ensayos ABTS y DPPH (0,0025 L), o el volumen de reacción para el procedimiento QUENCHER utilizando estos dos ensayos (0,010 L), y “m” la masa de muestra utilizada en la extracción para los ensayos ABTS y DPPH (0,100 g), o la masa utilizada en el procedimiento QUENCHER utilizando estos dos ensayos (0,050 g para QUENCHER DPPH y 0,010 g para QUENCHER ABTS). Los resultados se expresan en unidades de μmol Trolox equivalente por gramos de carne en peso seco (p. s.).

Dado que en el ensayo FRAP se monitorea formación de color, no es necesario calcular el porcentaje de inhibición, por lo que se utilizó la ecuación (4):

$$\left(\frac{\mu\text{mol Fe (II)E}}{\text{g carne (p. s.)}} \right) = \left(\frac{\left(\frac{\text{Abs muestra} - b}{a} \right) \times V}{m} \right) \times 1000 \quad (4)$$

En donde la “Abs muestra” refiere a la absorbancia de la solución FRAP con la muestra luego del tiempo de incubación (minutos), “b” representa el término independiente y “a” la pendiente de la curva de calibración con sulfato ferroso. Del mismo modo, “m” representa la masa de carne seca (0,100 g para el ensayo FRAP y 0,010 g para QUENCHER FRAP), y “V” el volumen utilizados en la extracción de antioxidantes en el ensayo FRAP (0,0025 L), o el volumen de reacción para el procedimiento QUENCHER utilizando este ensayo (0,01 L). El factor 1000 es la conversión de las unidades de mmol a μmol . Los resultados se expresan en unidades de μmol catión hierro (II) equivalente por gramos de carne en peso seco (p. s.).

2.2.8. Determinación de grupos sulfhidrilos totales (SH)

Para la determinación de los grupos sulfhidrilos totales se siguió el procedimiento de Jongberg *et al.* (2013) con ciertas modificaciones. En primera instancia se realizó un tratamiento de la muestra, para ello, se pesaron 50 mg de carne liofilizada, se adicionaron 5 mL de buffer Urea-SLS-PBS (Urea 8 M, SLS 3%, PBS 0,1 M pH 7,4) y se homogenizó en Ultra-Turrax (T18 Basic con puntero S18N, IKA, Alemania) a 8000 rpm durante 20 segundos a temperatura ambiente. El homogenizado se vortexó por 30 segundos y se incubó a temperatura ambiente (20 ± 5 °C) en agitación (200 rpm) por 1 hora (Unimax 1010, Heidolph, Alemania). Pasado el tiempo de incubación, la muestra se filtró por gravedad con papel de filtro Whatman N° 1.

La determinación del contenido de grupos sulfhidrilos se realizó, tomando 40 μL del filtrado, a los cuales se adicionaron 1960 μL de solución Urea-SLS-PBS y posteriormente 600 μL de reactivo DTNB 10 mM en PBS 0,1 M. Se incubó en oscuridad por 15 minutos a temperatura ambiente y en agitación (200 rpm). Posteriormente se registró la absorbancia a 412 nm en espectrofotómetro T70+ UV/Vis (PG Instruments Ltd, UK).

La concentración de grupos sulfhidrilos se calculó mediante la ley de Lambert-Beer. Utilizando la absorbancia obtenida a 412 nm, la absorptividad molar (ϵ) del reactivo DTNB ($13600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y la longitud de la cubeta recorrida por la radiación (1 cm).

Los resultados se expresaron en función de la concentración de proteínas totales de la muestra (nmol/mg proteína). La cuantificación proteica se llevó a cabo mediante una curva de calibración con sero albúmina bovina (BSA) como estándar de referencia (0-1,5 mg/mL). La curva se construyó tomando 40 μL de las distintas soluciones de concentración conocida de BSA a los cuales se adicionó 1960 μL de solución Urea-SLS-PBS. Se registró la absorbancia a 280 nm.

2.2.9. Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales (CFT)

Para la determinación del contenido de compuestos fenólicos totales, se siguió la metodología propuesta por Singleton *et al.* (1999), la cual consiste en una reacción de reducción/oxidación (redox) entre los compuestos fenólicos presentes en la muestra y el reactivo de Folin-Ciocalteu. Las determinaciones se realizaron tomando 100 μL de extracto acuoso que se mezclaron con 600 μL de carbonato de sodio 20 %, se dejó reaccionar por 2 minutos y se adicionaron 150 μL de reactivo de Folin-Ciocalteu en una dilución 1/6 en agua. Se incubó a temperatura ambiente, tapado de la luz por 30 minutos y se registró la absorbancia a 750 nm en espectrofotómetro GENESYS 6-UV (Thermo Corporation, USA).

Los resultados fueron expresado como miligramos de ácido gálico equivalente por gramos de carne en peso seco (mg GAE/g carne (p.s.)). Para ello se realizó una curva de calibración utilizando ácido gálico como estándar de referencia (0-0,30 mg/mL). Todas las concentraciones de la curva fueron incubadas en la misma relación que las muestras con el reactivo de Folin-Ciocalteu por 30 minutos y se registró la absorbancia a 750 nm.

2.2.10. Determinación del contenido de glutatión total (GSH + GSSG)

El contenido de glutatión fue determinado siguiendo el método de reciclaje enzimático de glutatión descrito por Rahman *et al.* (2006) con ciertas modificaciones (Fig. 8). En primera instancia se realizó una extracción, para ello, se tomaron 50 mg de carne liofilizada que fueron homogenizados con 3 mL de buffer KPE-TCA (fosfato de potasio 0,1 M, 5 mM sal disódica de EDTA, pH 7.5 con 2,5 % TCA) utilizando Ultra-Turrax (T 18 con puntero S18N, IKA, Alemania) a 8000 rpm por 30 segundos en baño de hielo. El homogenizado fue centrifugado a 8000 g por 10 minutos a 4 °C. El sobrenadante fue recuperado y filtrado sobre papel Whatman N°1 en cámara de frío.

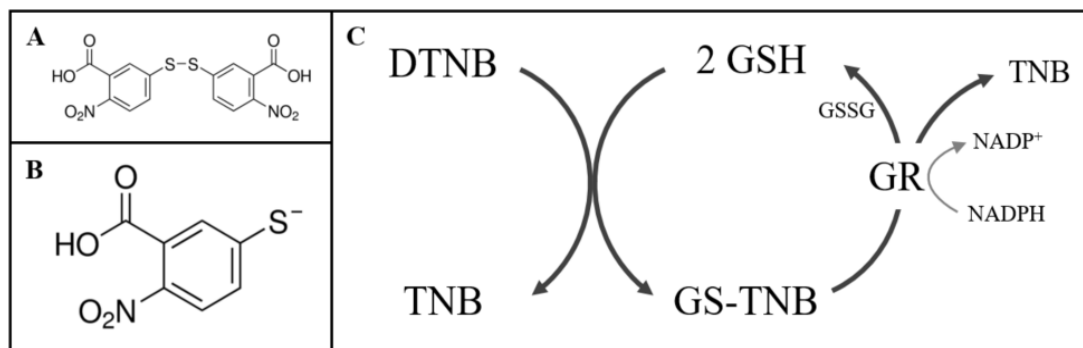


Figura 8. Ensayo de reciclaje enzimático del glutatión. **A.** DTNB (5, 5'-ditiobis- (ácido 2-nitrobenzoico)) o reactivo de Ellman; **B.** TNB (ácido 5-tio-2-nitrobenzoico); **C.** Principio del ensayo de reciclaje enzimático del glutatión (GSH) a partir del glutatión disulfuro (GSSG) mediante la enzima glutatión reductasa (GR) en presencia de NADPH. El GSH reacciona con el reactivo DTNB formando TNB y GS-TNB (aducto de glutatión). Este último es reducido a GSH mediante la acción de la GR y el poder reductor NADPH. El TNB formado puede ser cuantificado a 412 nm. Figura tomada y adaptada de Rahman *et al.*, 2006.

Para la medida del contenido de glutatión, 100 μ L del sobrenadante filtrado fueron adicionados a 700 μ L de buffer KPE. Luego, se adicionaron 120 μ L de una solución en buffer KPE de GR:DTNB, 1:1, v/v, 3,7 U/mL y 1,7 mM, respectivamente. Se esperaron 30 segundos para permitir la conversión de GSSG a GSH y la reacción fue iniciada adicionando 60 μ L de β -NADPH, 0,8 mM en buffer KPE. Inmediatamente el aumento de la absorbancia fue seguido a 412 nm por 2 minutos en espectrofotómetro GENESYS 6-UV (Thermo Corporation, USA) y se registraron los

valores a 0, 1 y 2 minutos de iniciada la reacción. La cantidad de GSH fue determinada a través de una curva estándar de calibración utilizando GSH como referencia (0-0,825 nM). La curva fue tratada en las mismas condiciones que las muestras.

2.2.11. Determinación del contenido de α -tocoferol

La determinación de α -tocoferol se llevó a cabo siguiendo el método descrito por Saha *et al.*, 2013 con ciertas modificaciones. Para este ensayo se trabajó con las muestras de carne sin liofilizar, es decir carne fresca. Para ello, se pesaron 500 mg de carne fresca y se homogenizaron con 5 mL de solución de extracción (hexano 95%, 0,05% BHT -butilhidroxitolueno-) en Ultra-Turrax (T18 Basic con puntero S18N, IKA, Alemania) a 12000 rpm durante 30 segundos. El homogenizado se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos a 4 °C. Posteriormente, se recogió el sobrenadante y el precipitado se homogenizó nuevamente con 5 mL de solución de extracción en Ultra-Turrax a 12000 rpm durante 30 segundos. Nuevamente el homogenizado se centrifugó en las mismas condiciones y se recuperó el sobrenadante obtenido. Ambos sobrenadantes (9 mL totales) se mezclaron y fueron evaporados bajo corriente de N₂ gas. La fracción evaporada se recuperó en 900 μ L de metanol y se filtró con filtros de 0,45 μ m.

La cuantificación se llevó a cabo en HPLC Prominence (LC-20A series, Shimadzu Corporation, Japón) equipado con un detector de índice de refracción diferencial (RID-20A) con columna polimérica YMC C30 Carotenoid (250 mm x 4,6 mm x 5 μ m tamaño de partícula, Waters, USA) termostaticada a 30 °C. Se utilizó como fase móvil una mezcla de metanol:metil-terbutil-éter (95:5), un flujo de 0,75 mL/min y volumen de inyección de 10 μ L. La lectura se realizó a 290 nm y cuantificó a través de una curva de calibración utilizando DL- α -tocoferol como estándar. Los resultados se expresaron en μ g/g carne fresca.

2.2.12. Análisis estadístico

Los datos se analizaron a través del software NCSS 12 (2018). Tanto para los ensayos DPPH, ABTS y FRAP, los factores fueron analizados en primera instancia mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) de medidas repetidas. Se consideraron el sistema de producción, el músculo y la maduración como efectos principales, y el tiempo de incubación del ensayo como medidas repetidas. Para los valores que presentaron diferencias significativas se aplicó un test de Tukey-Kramer ($P < 0,05$) y un test de interacciones para analizar diferencias entre las categorías de efectos principales y sus posibles interacciones.

A su vez, cada sistema, músculo y tiempo de maduración fue analizado individualmente mediante un ANOVA de medidas repetidas. El tiempo de incubación del ensayo se consideró como medidas repetidas. Para los valores que presentaron diferencias significativas se aplicó un test de Tukey-Kramer ($P < 0,05$) y un test de interacciones para analizar diferencias entre las categorías de efectos principales y sus posibles interacciones.

El efecto del sistema de producción fue analizado para cada músculo en cada uno de los tres tiempos de maduración mediante un ANOVA de una vía. Para los valores que presentaron diferencias significativas se aplicó un test de Tukey-Kramer ($P < 0,05$).

Por otra parte, para los ensayos realizados mediante el procedimiento QUENCHER, la determinación de compuestos fenólicos totales, glutatión total, grupos sulfhidrilos totales y α -tocoferol, se aplicó un ANOVA mediante el procedimiento modelo generalizado lineal (GLM). Se consideraron el sistema de producción, el músculo y la maduración (lineal) como efectos principales. Para los valores que presentaron diferencias significativas se aplicó un test de Tukey-Kramer ($P < 0,05$) y un test de interacciones para analizar diferencias entre las categorías de efectos principales y sus posibles interacciones.

A su vez, cada sistema, músculo y maduración fue analizado individualmente mediante un ANOVA GLM. Para los valores que presentaron diferencias significativas se aplicó un test de Tukey-Kramer ($P < 0,05$) y un test de interacciones.

Del mismo modo, el efecto del sistema de producción fue analizado para cada músculo en cada uno de los tres tiempos de maduración mediante un ANOVA de una vía. Para los valores que presentaron diferencias significativas se aplicó un test de Tukey-Kramer ($P < 0,05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (CA)

Se determinó la capacidad antioxidante (CA) en la carne de novillos Aberdeen Angus provenientes de dos sistemas de producción (terminación en pasturas o feedlot), en dos músculos, *Longissimus dorsi* (músculo principal de corte bife angosto) y *Psoas major* (músculo principal del corte lomo), y madurados por distintos tiempos (0, 14 o 30 días).

La capacidad antioxidante se determinó a partir de extractos de la carne liofilizada y directamente en las muestras sólidas (mediante el procedimiento QUENCHER). Para ambos tipos de determinaciones, se aplicaron los mismos tres ensayos colorimétricos: ensayo de decoloración del radical DPPH[•] (DPPH), ensayo de decoloración del catión radical ABTS^{•+} (ABTS) y ensayo poder antioxidante de reducción férrica (FRAP). Los cuales son ampliamente utilizados para medir la capacidad antioxidante en alimentos debido a su rapidez, sensibilidad y adaptabilidad. Asimismo, se debe tener en cuenta que los resultados obtenidos para todos estos ensayos van a estar representados por los tipos de antioxidantes que pudieron ser determinados y dependerá del tratamiento que recibió la muestra.

3.1.1. Determinación de la capacidad antioxidante a partir de extractos

La determinación de la CA a través de la aplicación de los ensayos DPPH, ABTS y FRAP se realizó a partir de extractos de las muestras de carne liofilizada. Mientras que para los ensayos DPPH y ABTS se utilizó metanol para obtener la extracción de compuestos antioxidantes, para el ensayo FRAP se realizó una extracción acuosa. Los resultados obtenidos en estos ensayos son un reflejo de los compuestos antioxidantes que pudieron ser extraídos, la técnica de extracción así como el solvente utilizado determinan los tipos y el nivel de compuestos presentes en el extracto (Serrano *et al.*, 2007).

3.1.1.1. Ensayo de decoloración del radical DPPH• (DPPH)

Se analizaron los extractos metanólicos de las muestras liofilizadas mediante el ensayo DPPH. Los resultados obtenidos se expresaron en términos de Trolox equivalente (TE), los cuales se muestran en la Figura 9 y resumen en los Cuadros 1 y 2.

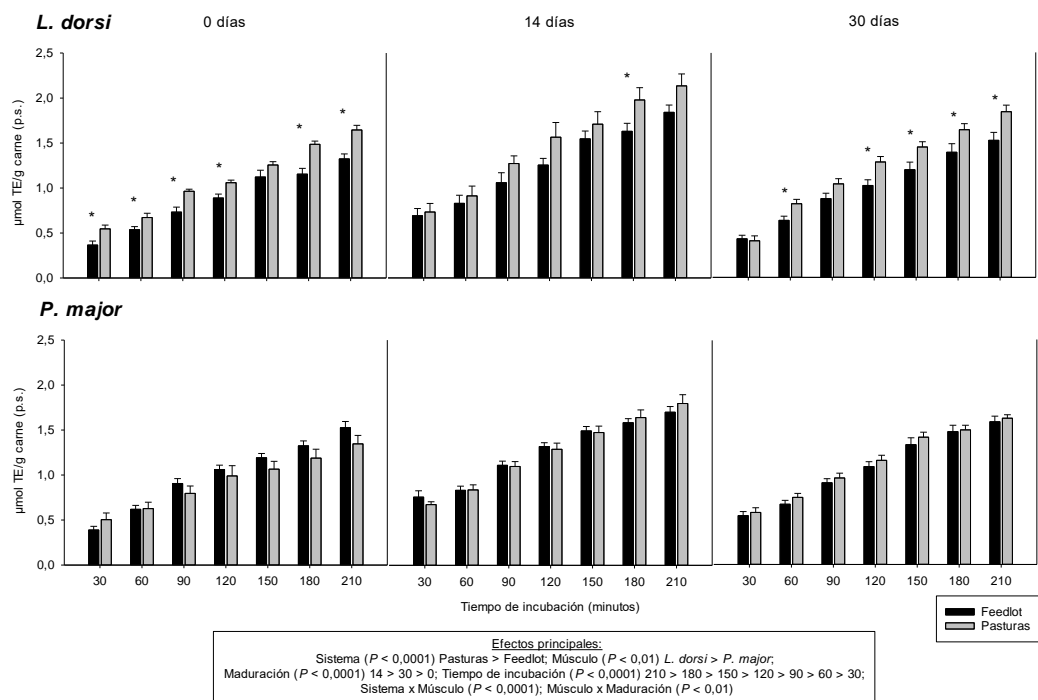


Figura 9. Capacidad antioxidante en el tiempo determinada mediante el ensayo de decoloración del radical DPPH• (DPPH) a partir de extractos de carne de novillos Aberdeen Angus provenientes de los sistemas de producción pasturas o feedlot, en los músculos *Longissimus dorsii* y *Psoas major*, madurados al vacío 0, 14 o 30 días. Los valores presentados son medias \pm SEM (n=10). Los * indican diferencias entre los sistemas ($P < 0,05$). NS: no significativo. TE: Trolox equivalente. p.s.: peso seco.

En primera instancia, en cuanto a los efectos significativos principales, como puede observarse se obtuvo un efecto del sistema de producción ($P < 0,0001$), donde la carne de los animales provenientes del sistema en base pastoril (P) presentó mayor capacidad antioxidante que la carne de animales terminados bajo un régimen feedlot (FL). Estudios han demostrado, a través de la aplicación de diferentes métodos y determinaciones, que la carne proveniente de sistemas en base pastoril está asociada

a mayores niveles de antioxidantes (Descalzo y Sancho, 2008). Sin embargo, no existen reportes que hayan estudiado y comparado la carne proveniente de distintos sistemas de producción utilizando el ensayo DPPH.

Por otro lado, se observó un efecto del tipo de músculo ($P < 0,01$), donde el *Longissimus dorsi* (*L. dorsi* o LD) presentó mayor CA que el *Psoas major* (*P. major* o PM). Este efecto puede atribuirse a diferencias en los metabolismos celulares de cada músculo, debido a la función fisiológica y a la composición de diferentes tipos de fibras musculares por las cuales están compuestos cada uno. Se ha demostrado que el músculo *Psoas major* posee mayor cantidad de mitocondrias que el *Longissimus dorsi*, indicando que posee un metabolismo más oxidativo (Jeong *et al.*, 2009). Esto nos lleva a hipotetizar que los compuestos antioxidantes que pudieron ser extraídos y determinados mediante este ensayo se presentan en menor cantidad en el PM debido a su ambiente más oxidativo, donde debieron ser utilizados en mayor medida en comparación con el LD.

El tiempo de maduración también presentó un efecto ($P < 0,0001$). La maduración realizada por 14 días provocó el mayor aumento de la CA, seguido de la maduración a 30 días y por último la carne sin madurar (0 días). El tiempo de maduración provoca la fragmentación de la matriz muscular. La ruptura de proteínas se ve acompañada de la producción y liberación de polipéptidos y aminoácidos que podrían tener propiedades antioxidantes. Feidt *et al.* (1996) demostraron, en tres músculos de bovinos Friesian, que la cantidad de aminoácidos libres liberados no sólo depende del músculo, sino que el tiempo de maduración incrementa su liberación. Estas observaciones, junto con los resultados obtenidos en este trabajo, nos indican que el efecto que provoca la maduración sobre la matriz muscular podría permitir liberar compuestos con propiedades antioxidantes, encontrándose disponibles para interaccionar con radicales libres.

Por otro lado, el tiempo de incubación del ensayo también presentó un efecto sobre la CA de las muestras ($P < 0,0001$). A medida que el tiempo de incubación aumenta,

las muestras presentan mayor capacidad antioxidante. Esto puede deberse al mayor tiempo de contacto entre los antioxidantes con el radical, donde se favorece su interacción. Las reacciones que se llevan a cabo en este tipo de ensayo pueden ser lentas y requerir más tiempo para completarse. Es por esta razón también, que la capacidad antioxidante es calculada en base al porcentaje de inhibición y no a la cinética de reacción (Prior *et al.*, 2005).

A su vez, se obtuvo un efecto en la interacción de los factores sistema de producción y músculo ($P < 0,0001$), y músculo y maduración ($P < 0,01$). No se observaron diferencias significativas en el resto de las interacciones. El efecto del sistema de producción fue analizado y señalado (*) en cada músculo para cada tiempo de maduración y en cada uno de los tiempos de incubación (Fig. 9). Con el objetivo de analizar los efectos significativos de las interacciones entre los factores principales, se realizó el análisis estadístico de cada sistema, cada músculo y cada tiempo de maduración de forma independiente.

En lo que refiere al sistema de producción, se observó que bajo el sistema pasturas, el músculo *Longissimus dorsi* presentó mayor CA que el *Psoas major* ($P < 0,0001$). Por el contrario, en el sistema feedlot el músculo PM presentó valores superiores que LD ($P < 0,01$). En cuanto al análisis de cada músculo se observó que únicamente en el *Longissimus dorsi* el sistema de producción presentó un efecto significativo ($P < 0,0001$), donde P fue superior que FL. Al mismo tiempo que el músculo PM posee un metabolismo mayormente oxidativo que lo podría llevar a utilizar y agotar en mayor medida compuestos antioxidantes, se ha demostrado que el músculo LD acumula mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados (n-3) bajo un sistema de producción basado en pasturas (Terevinto 2010; Raes *et al.*, 2004), esto podría traducirse en un aumento en la cantidad de compuestos con propiedades antioxidantes en el músculo LD con el objetivo de proteger los ácidos grasos sensibles a la oxidación.

En relación al tiempo de maduración, tanto para el *Longissimus dorsi* como para el *Psoas major*, 14 días de maduración presentó los valores más altos de CA, seguido de 30 días y por último 0 días ($P < 0,0001$). Asimismo, únicamente a 14 días de maduración se observaron diferencias significativas ($P < 0,01$) para estos dos músculos, donde LD fue superior que PM. Se ha demostrado que a lo largo de la maduración, los músculos con mayor predominancia de fibras lentas, como PM, presentan menor grado de proteólisis que los músculos en los cuales predominan las fibras de contracción rápida, como el LD, donde se observa un daño más rápido en las miofibrillas (Ouali, 1990). Esto puede explicar los resultados obtenidos, donde se observa que el LD presenta niveles superiores de CA en comparación al PM a 14 días de maduración.

Cuadro 1. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo, tiempo de maduración y tiempo de incubación del ensayo sobre la capacidad antioxidante determinada mediante el ensayo de decoloración del radical DPPH• (DPPH) en carne de novillos Aberdeen Angus.

ENSAYO	SISTEMA		MÚSCULO		MADURACIÓN (días)			TIEMPO DE INCUBACIÓN (minutos)							P			
	Pasturas	Feedlot	LD	PM	0	14	30	30	60	90	120	150	180	210	S	Mu	Ma	T
DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$ carne (p.s.))	1,184 ^A 0,024	1,082 ^B 0,021	1,154 ^a 0,025	1,112 ^b 0,021	0,975 ^C 0,024	1,313 ^A 0,030	1,111 ^B 0,026	0,552 ^g 0,020	0,728 ^f 0,020	0,977 ^e 0,022	1,165 ^d 0,027	1,354 ^c 0,027	1,499 ^b 0,029	1,658 ^a 0,030	< 0,0001	< 0,01	< 0,0001	< 0,0001

Los valores están expresados como medias con su respectivo desvío estándar (SEM) en subíndice (n=10). Medias con letras distintas expresan diferencias significativas con $P < 0,05$ (A, B para sistema; a, b para músculo; A, B, C para maduración; a, b, c, d para tiempo de incubación). LD: *Longissimus dorsi*; PM: *Psoas major*; P: probabilidad; S: sistema; Mu: músculo; Ma: maduración; T: tiempo de incubación; TE: Trolox equivalente; p.s.: peso seco.

Cuadro 2. Interacciones de los efectos principales de la capacidad antioxidante determinada mediante el ensayo de decoloración del radical DPPH• (DPPH) en carne de novillos Aberdeen Angus.

ENSAYO	Interacciones											
	S x Mu	S x Ma	Mu x Ma	S x Mu x Ma	S x T	Mu x T	Ma x T	S x Mu x T	S x Ma x T	Mu x Ma x T	S x Mu x Ma x T	
DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$ carne (p.s.))	< 0,0001	NS	< 0,01	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	

NS: no significativo; S: sistema; Mu: músculo; Ma: maduración; T: tiempo de incubación; TE: Trolox equivalente; p.s.: peso seco.

3.1.1.2. Ensayo de decoloración del catión radical ABTS^{•+} (ABTS)

La capacidad antioxidante de los extractos metanólicos de la carne liofilizada también fue determinada mediante la inhibición del radical ABTS^{•+} a través del monitoreo espectrofotométrico de la reacción a 734 nm.

En la Figura 10 se presentan los resultados obtenidos para este ensayo y en los Cuadros 3 y 4 se resumen los mismos. Estos se expresaron en términos de TEAC, es decir, capacidad antioxidante equivalente a Trolox (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity de su sigla en inglés).

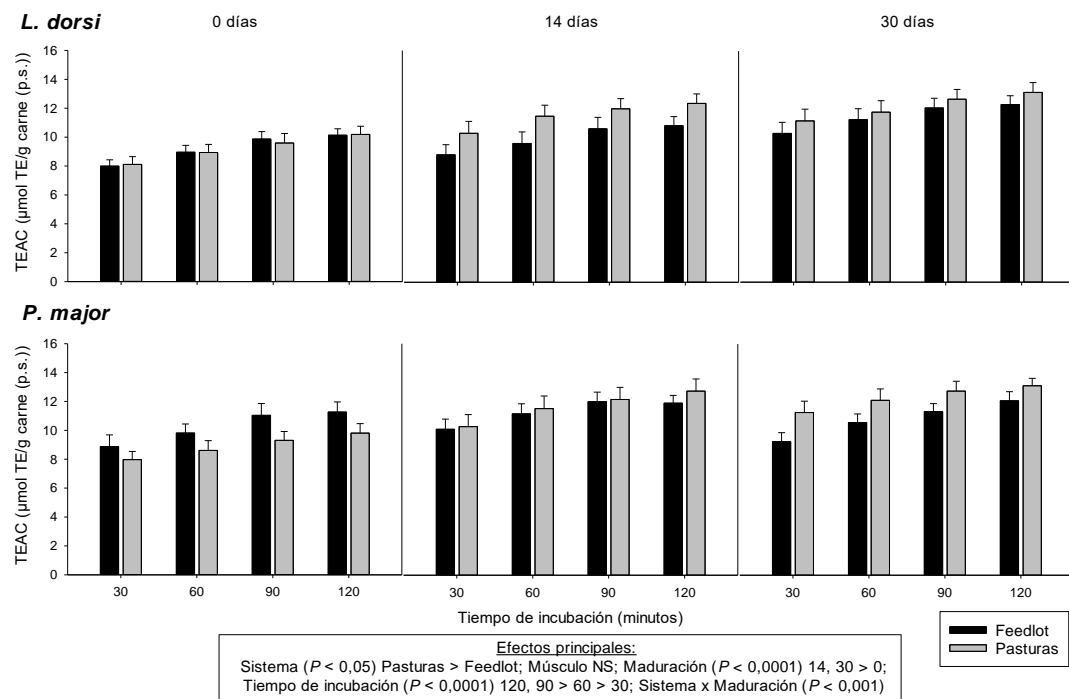


Figura 10. Capacidad antioxidante en el tiempo determinada mediante el ensayo de decoloración del radical ABTS^{•+} (ABTS) a partir de extractos de carne de novillos Aberdeen Angus provenientes de los sistemas de producción pasturas o feedlot, en los músculos *Longissimus dorsi* y *Psoas major*, madurados al vacío 0, 14 o 30 días. Los valores son medias \pm SEM (n=10). NS: no significativo. TEAC: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (capacidad antioxidante equivalente a Trolox); TE: Trolox equivalente; p.s.: peso seco.

En cuanto al análisis de los efectos principales, se puede observar que el sistema de producción imprimió un efecto significativo sobre la TEAC ($P < 0,05$), donde la

carne proveniente del sistema de producción en base a pasturas presentó mayor capacidad antioxidante que la carne feedlot. Gatellier *et al.* (2004) y Descalzo *et al.* (2007) en estudios similares no encontraron diferencias significativas entre grupos de animales provenientes de sistemas de producción en base a pasturas versus suplementados con granos a través del ensayo ABTS. En estos estudios no se trabajaron con la misma raza de animales (Charolais y Cruza, respectivamente), al mismo tiempo que, la técnica llevada a cabo para el ensayo en el trabajo de Gatellier *et al.* (2004) no es igual a la utilizada en el presente estudio, sin embargo, se basa también en la reducción del catión radical ABTS.

Por otra parte, el tipo de músculo no presentó efecto sobre la TEAC. Sin embargo, la maduración ($P < 0,0001$) y el tiempo de incubación del ensayo ($P < 0,0001$) si lo hicieron. Por un lado, tanto a 14 como 30 días de maduración, las muestras presentaron mayores valores en comparación con la carne sin madurar (0 días). Feidt *et al.* (1996) en su trabajo en tres músculos de bovinos Friesian, observaron que en un periodo de hasta 14 días de maduración, la liberación de aminoácidos ocurría en mayor medida luego del día 10, en comparación con el período comprendido entre los días 3 al 10. Este estudio, junto con los resultados observados para este ensayo y al igual que en el ensayo DPPH, nos llevan a teorizar que estos resultados pueden atribuirse a que la maduración provoca cambios estructurales y bioquímicos, responsables de las modificaciones en las proteínas que conforman la matriz muscular (Laville *et al.*, 2009). Pudiendo traducirse este efecto, en la determinación de mayores niveles de capacidad antioxidante, debido a la liberación de pequeños péptidos y aminoácidos antioxidantes que se encuentran disponibles para interaccionar con el radical.

Por otro lado, se observa que a medida que transcurre el tiempo de incubación del ensayo, se obtienen valores más altos de capacidad antioxidante, siendo 90 y 120 minutos los tiempos donde se detectaron los mayores valores de TEAC. Es decir que, de forma similar al ensayo DPPH, a mayor tiempo de incubación se favorece la interacción entre los antioxidantes extraídos y el catión radical. No se encontraron

diferencias entre los tiempos de incubación 90 y 120 minutos, lo que nos indica que la capacidad de los antioxidantes de enmascarar el radical llegó a su máximo a 90 minutos.

Por último, únicamente la interacción entre el sistema de producción y el tiempo de maduración presentó efecto significativo ($P < 0,001$). Con el objetivo de interpretar las interacciones, se analizó cada sistema, cada músculo y cada tiempo de maduración de forma independiente. A partir de este análisis se observó que para ambos sistemas de producción la maduración ejerció el mismo efecto (pasturas $P < 0,0001$ y feedlot $P < 0,001$), donde 14 y 30 días de maduración presentaron valores superiores de CA que la carne sin madurar (0 días). Sin embargo, mientras que a 14 y 30 días de maduración el sistema de producción en base a pasturas presentó mayores valores de TEAC que feedlot ($P < 0,01$), a 0 días de maduración FL fue superior que P ($P < 0,05$). Asimismo, también se observaron comportamientos diferentes para cada músculo. Mientras que en el *L. dorsi*, P fue superior que FL ($P < 0,01$) y la carne madurada por 30 días superior a 14 días y esta superior a 0 días ($P < 0,0001$), en el músculo *P. major*, el sistema de producción no presentó un efecto significativo. A su vez, 14 y 30 días de maduración fueron superiores a 0 días ($P < 0,001$), pero no se encontraron diferencias entre estos dos tiempos.

Cuadro 3. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo, tiempo de maduración y tiempo de incubación del ensayo sobre la capacidad antioxidante determinada mediante el ensayo de decoloración del catión radical ABTS•+ (ABTS) en carne de novillos Aberdeen Angus.

ENSAYO	SISTEMA		MÚSCULO		MADURACIÓN (días)			TIEMPO DE INCUBACIÓN (minutos)				P			
	Pasturas	Feedlot	LD	PM	0	14	30	30	60	90	120	S	Mu	Ma	T
ABTS ($\mu\text{mol TE/g carne (p.s.)}$)	10,976 ^A	10,528 ^B	10,629	10,876	9,410 ^B	11,126 ^A	11,692 ^A	9,550 ^c	10,498 ^b	11,297 ^a	11,670 ^a	<0,05	NS	<0,0001	<0,0001
	0,172	0,149	0,161	0,163	0,167	0,197	0,184	0,223	0,224	0,217	0,203				

Los valores están expresados como medias con su respectivo desvío estándar (SEM) en subíndice (n=10). Medias con letras distintas expresan diferencias significativas con $P < 0,05$ (A, B para sistema; A, B, C para maduración; a, b, c, d para tiempo de incubación). LD: *Longissimus dorsi*; PM: *Psoas major*; P: probabilidad; NS: no significativo; S: sistema; Mu: músculo; Ma: maduración; T: tiempo de incubación; TE: Trolox equivalente; p.s.: peso seco.

Cuadro 4. Interacciones de los efectos principales de la capacidad antioxidante determinada mediante el ensayo de decoloración del catión radical ABTS•+ (ABTS) en carne de novillos Aberdeen Angus.

ENSAYO	Interacciones											
	S x Mu	S x Ma	Mu x Ma	S x Mu x Ma	S x T	Mu x T	Ma x T	S x Mu x T	S x Ma x T	Mu x Ma x T	S x Mu x Ma x T	
ABTS ($\mu\text{mol TE/g carne (p.s.)}$)	NS	<0,001	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	

NS: no significativo; S: sistema; Mu: músculo; Ma: maduración; T: tiempo de incubación; TE: Trolox equivalente; p.s.: peso seco.

3.1.1.3. Ensayo poder antioxidante de reducción férrica (FRAP)

Se determinó la CA de los extractos acuosos de las muestras liofilizadas mediante el ensayo FRAP. Los resultados se expresaron en términos de catión hierro (II) equivalente (Fe (II) E), los mismos se muestran en la Figura 11 y resumen en los Cuadros 5 y 6.

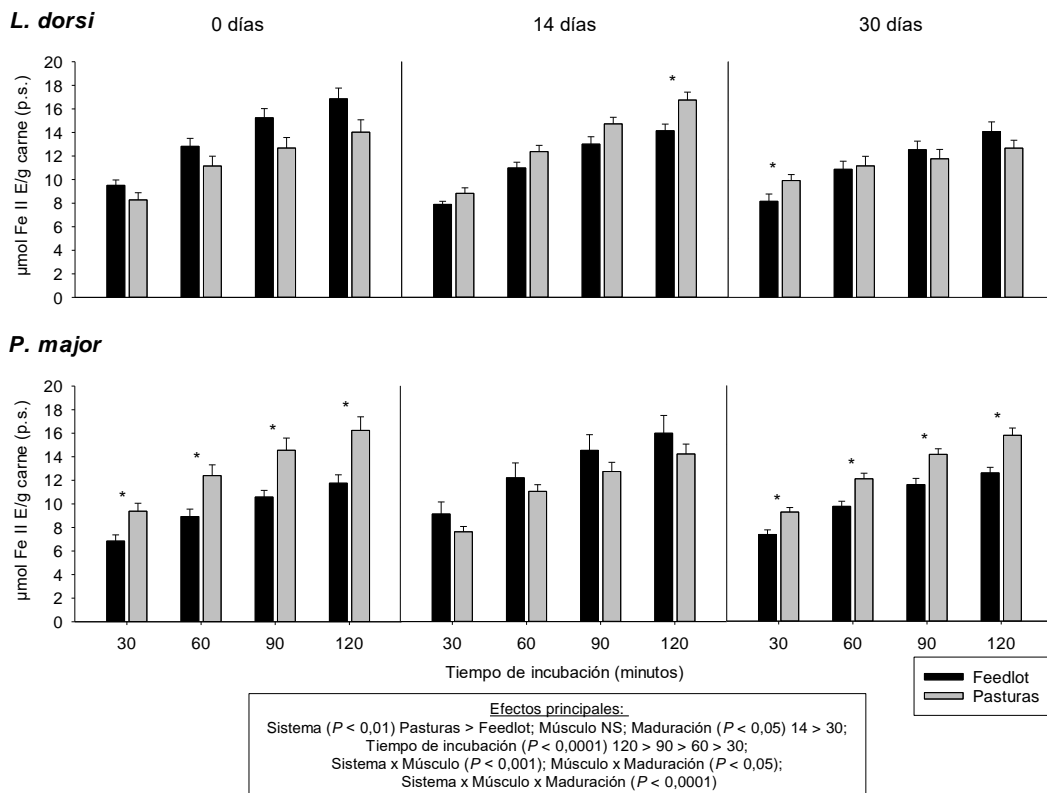


Figura 11. Capacidad antioxidante en el tiempo determinada mediante el ensayo de poder antioxidante de reducción férrica (FRAP) a partir de extractos de carne de novillos Aberdeen Angus provenientes de los sistemas de producción pasturas o feedlot, en los músculos *Longissimus dorsii* y *Psoas major*, madurados al vacío 0, 14 o 30 días. Los valores son medias \pm SEM (n=10). Los * indican diferencias entre los sistemas ($P < 0,05$). NS: no significativo; Fe II E: catión hierro (II) equivalente; p.s.; peso seco.

En primera instancia, analizando los efectos principales, como se puede observar, el sistema de producción ejerció un efecto sobre la capacidad antioxidante ($P < 0,01$), donde pasturas fue mayor que feedlot. Otros estudios (Descalzo *et al.*, 2007) también encontraron resultados similares. Al comparar el músculo *Psoas major* de novillos

cruza criados en pasturas versus suplementados con granos, observaron que las muestras de pasturas presentaron mayor poder reductor que las muestras de grano.

Por otro lado, mientras que el tipo músculo no presentó efecto significativo sobre la CA, tanto la maduración ($P < 0,05$) como el tiempo de incubación del ensayo ($P < 0,0001$) si lo hicieron. Los resultados muestran que el tiempo de maduración a 14 días fue superior a 30 días, sin embargo, tanto la maduración a 14 como 30 días no presentaron diferencias con respecto a las muestras sin madurar (0 días). Pouzo *et al.* (2016) estudiaron el efecto de la maduración al vacío (3, 14 y 56 días) sobre la capacidad antioxidante mediante el ensayo FRAP en músculos *Longissimus thoracis* de novillos Angus. En extractos acuosos de los músculos, encontraron que la actividad FRAP se redujo a lo largo del tiempo de maduración (3 > 14 > 56 días). Asimismo, Mahecha *et al.* (2011), reportaron un descenso en los valores de FRAP en extractos acuosos de músculos *Longissimus* de terneros machos de raza Simmental a medida que el tiempo de maduración aumenta (0 > 14 días).

Con respecto al tiempo de incubación de la reacción, puede observarse que a medida que el tiempo aumenta, la CA medida como Fe (II) equivalente, también lo hace. A mayor tiempo de contacto con la solución conteniendo Fe (3+), los compuestos presentes o mayor cantidad de ellos fueron capaces de reducirlo. De forma similar, Mahecha *et al.* (2011) también encontraron resultados similares. En este estudio se evaluaron los tiempos de reacción 5, 30 y 60 minutos, y a medida que transcurre el tiempo los valores de actividad FRAP fueron mayores.

Las interacciones sistema de producción y músculo ($P < 0,001$), tipo de músculo y tiempo de maduración ($P < 0,05$), y sistema, músculo y maduración ($P < 0,0001$) presentaron efecto significativo. Al analizar estas interacciones se observó que únicamente bajo el sistema de producción feedlot, el tipo de músculo ($P < 0,001$) y la maduración ($P < 0,01$) presentaron un efecto significativo, donde el LD presentó mayores valores de CA que el PM, y 14 días de maduración fue superior que 30 días. A su vez, se observó que el tipo de músculo únicamente presentó un efecto

significativo en la carne sin madurar (0 días) ($P < 0,01$), donde el LD fue superior que PM. El sistema de producción presentó un efecto significativo en la carne madurada por 30 días ($P < 0,0001$) y en el músculo *Psoas major* ($P < 0,0001$), donde P fue superior que FL.

Cuadro 5. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo, tiempo de maduración y tiempo de incubación del ensayo sobre la capacidad antioxidante determinada mediante el ensayo poder antioxidante de reducción férrica (FRAP) en carne de novillos Aberdeen Angus.

ENSAYO	SISTEMA		MÚSCULO		MADURACIÓN (días)			TIEMPO DE INCUBACIÓN (minutos)				P			
	Pasturas	Feedlot	LD	PM	0	14	30	30	60	90	120	S	Mu	Ma	T
FRAP ($\mu\text{mol Fe(II) E/g}$ carne (p.s.))	12,240 ^A	11,483 ^B	12,050	11,693	11,866 ^{AB}	12,256 ^A	11,480 ^B	8,496 ^d	11,287 ^c	13,139 ^b	14,548 ^a	< 0,01	NS	< 0,05	< 0,0001
	0,214	0,232	0,211	0,235	0,300	0,292	0,225	0,177	0,225	0,253	0,285				

Los valores están expresados como medias con su respectivo desvío estándar (SEM) en subíndice (n=10). Medias con letras distintas expresan diferencias significativas con $P < 0,05$ (A, B para sistema; A, B, C para maduración; a, b, c, d para tiempo de incubación). LD: *Longissimus dorsi*; PM: *Psoas major*; P: probabilidad; NS: no significativo; S: sistema; Mu: músculo; Ma: maduración; T: tiempo de incubación; Fe (II) E: catión hierro (II) equivalente; p.s.: peso seco.

Cuadro 6. Interacciones de los efectos principales de la capacidad antioxidante determinada mediante el ensayo poder antioxidante de reducción férrica (FRAP) en carne de novillos Aberdeen Angus.

ENSAYO	Interacciones											
FRAP ($\mu\text{mol Fe(II) E/g}$ carne (p.s.))	S x Mu	S x Ma	Mu x Ma	S x Mu x Ma	S x T	Mu x T	Ma x T	S x Mu x T	S x Ma x T	Mu x Ma x T	S x Mu x Ma x T	
	< 0,001	NS	< 0,05	< 0,0001	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	

NS: no significativo; S: sistema; Mu: músculo; Ma: maduración; T: tiempo de incubación; Fe (II) E: catión hierro (II) equivalente; p.s.: peso seco.

3.1.2. Determinación de la capacidad antioxidante a través del procedimiento QUENCHER

Se determinó la capacidad antioxidante de la carne de novillos Aberdeen Angus, directamente sobre las muestras liofilizadas a través del procedimiento QUENCHER, utilizando los ensayos de decoloración del radical DPPH• (QDPPH), de decoloración del catión radical ABTS•+ (QABTS) y poder antioxidante de reducción férrica (QFRAP).

Los resultados obtenidos para los tres ensayos se presentan a continuación. En términos generales, si se comparan los resultados obtenidos aplicando este procedimiento (Cuadros 7, 9 y 11) con aquellos obtenidos a partir de los extractos (1, 3 y 5), se puede observar que a través del procedimiento QUENCHER se obtienen valores dos órdenes superiores. Estos resultados pueden atribuirse al tipo de procesamiento que las muestras recibieron previo a realizar los ensayos, los compuestos que no pudieron ser solubilizados mediante el método de extracción pueden haber contribuido a la medida mediante el procedimiento QUENCHER, ya que este es independiente de la extracción de antioxidantes (Carrillo *et al.*, 2017; Serpen *et al.*, 2012a).

Asimismo, al comparar los efectos principales obtenidos a través del procedimiento QUENCHER con aquellos alcanzados a partir de los extractos, únicamente para el procedimiento QUENCHER aplicando el ensayo ABTS se obtuvieron los mismos efectos que aquellos obtenidos para el ensayo ABTS a partir de extractos. Para los otros dos ensayos los efectos principales obtenidos no fueron iguales. Esto puede deberse, como fue mencionado anteriormente, por el tipo de determinación ofrecida por este procedimiento. Sin embargo, estas observaciones podrían ser un efecto de la alta concentración de compuestos antioxidantes determinados o de la matriz. A pesar de que previo a aplicar este procedimiento se estudiaron diferentes relaciones de muestra y volumen de ensayo, en futuros estudios se debería ampliar el rango de

relaciones ensayadas aplicando diluciones de la muestra sólida como se reporta en el estudio de Serpen *et al.* (2012a).

3.1.2.1. Procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del radical DPPH• (QDPPH)

Como fue mencionado anteriormente, el procedimiento QUENCHER puede ser aplicado utilizando el ensayo DPPH, los resultados obtenidos se presentan en la Figura 12 y se resumen en los Cuadros 7 y 8.

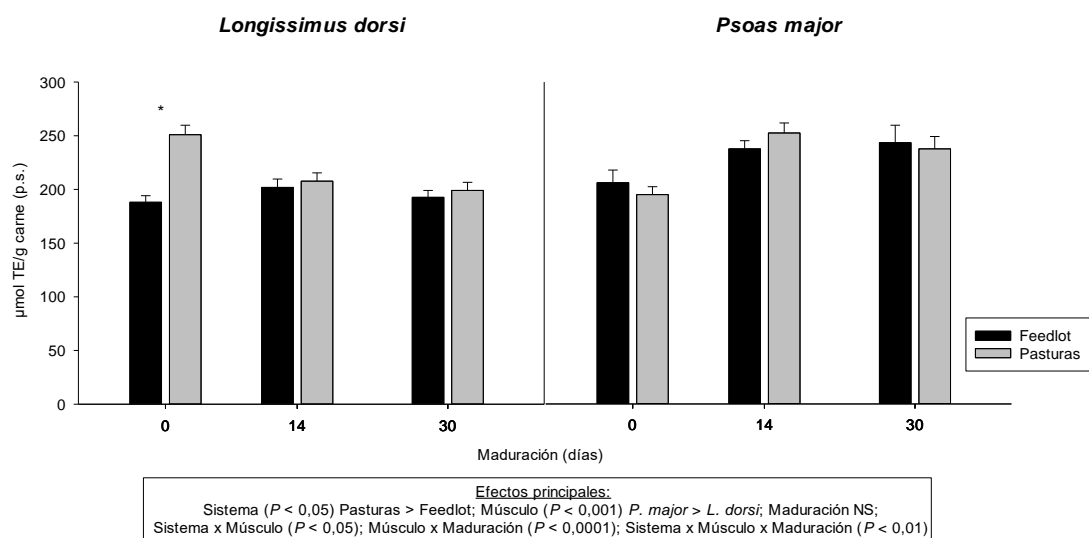


Figura 12. Capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del radical DPPH• (QDPPH), en carne de novillos Aberdeen Angus provenientes de los sistemas de producción pasturas o feedlot, en los músculos *Longissimus dorsi* y *Psoas major*, madurados al vacío 0, 14 o 30 días. Los valores son medias \pm SEM (n=10). NS: no significativo; TE: Trolox equivalente; p.s.: peso seco.

En cuanto al análisis de los efectos principales, como puede observarse el sistema de producción imprimió un efecto ($P < 0,05$), donde las muestras provenientes de pasturas presentaron mayor CA que aquellas provenientes de feedlot. A su vez, el músculo también presentó un efecto significativo ($P < 0,001$), donde *Psoas major* presentó mayor capacidad antioxidante que el músculo *Longissimus dorsi*. El factor tiempo de maduración de las muestras no presentó efecto significativo.

Las interacciones sistema de producción y músculo ($P < 0,05$), músculo y maduración ($P < 0,0001$), y sistema, tipo de músculo y tiempo de maduración ($P < 0,01$) presentaron efecto. Con el objetivo de analizar las interacciones observadas, cada una de las variables se estudió de forma independiente. En lo que refiere al sistema de producción, únicamente se observó un efecto significativo del tipo de músculo en el sistema feedlot ($P < 0,001$), donde el *Psoas major* fue superior que el *Longissimus dorsi*. A su vez, en los tres tiempos de maduración analizados se observó un efecto del tipo de músculo, donde a 0 días ($P < 0,05$), 14 días ($P < 0,001$) y 30 días de maduración ($P < 0,001$) el músculo PM presentó valores superiores de CA que el LD. Sin embargo, únicamente a 0 días de maduración se observó un efecto del sistema de producción ($P < 0,01$), donde la carne proveniente de P fue superior que FL. Por último, en cuanto al tipo de músculo, mientras que en el *Longissimus dorsi* se observó un efecto del sistema de producción ($P < 0,05$), donde P fue mayor que FL, en el *Psoas major* se observó un efecto significativo en el tiempo de maduración ($P < 0,001$), donde 14 y 30 días presentaron valores superiores a 0 días.

Al comparar los resultados para el ensayo DPPH obtenidos a partir de la extracción de los antioxidantes y la medición directa a través del procedimiento QUENCHER se obtuvieron efectos distintos. Para ambos acercamientos, tanto el sistema de producción y el músculo ejercieron un efecto significativo. Sin embargo, mientras que para el ensayo DPPH a partir de extracto el músculo *L. dorsi* fue superior que *P. major*, para el procedimiento QUENCHER DPPH, *Psoas major* fue superior que *L. dorsi*. A su vez, para este último acercamiento, no se observó un efecto de la maduración. Se ha demostrado que el acercamiento QUENCHER permite evaluar tanto los antioxidantes que permanecen unidos a la matriz alimentaria y aquellos que son solubles (Serpen *et al.*, 2012b). Lo que nos lleva a hipotetizar que tal vez la extracción de los antioxidantes favoreció la obtención de ciertos compuestos antioxidantes. Sin embargo, al medir en conjunto las dos fracciones (soluble e insoluble) y al no favorecer la extracción de ciertos compuestos, no se observan diferencias entre las muestras o estas son contrarias. Asimismo, estas observaciones

también podrían atribuirse al efecto de la alta concentración de compuestos antioxidante o a la matriz.

Cuadro 7. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo y tiempo de maduración sobre la capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del radical DPPH• (QDPPH) en carne de novillos Aberdeen Angus.

ENSAYO	SISTEMA		MÚSCULO		MADURACIÓN (días)			P		
	Pasturas	Feedlot	LD	PM	0	14	30	Sistema	Músculo	Maduración
QDPPH ($\mu\text{mol TE/g}$ carne (p.s.))	223,796 ^A	211,996 ^B	207,081 ^b	228,629 ^a	210,614	224,886	218,152	< 0,05	< 0,001	NS
	4,650	4,836	3,910	5,103	5,834	5,145	6,454			

Los valores están expresados como medias con su respectivo desvío estándar (SEM) en subíndice (n=10). Medias con letras distintas expresan diferencias significativas con $P < 0,05$ (A, B para sistema; a, b para músculo). LD: *Longissimus dorsi*; PM: *Psoas major*; P: probabilidad; NS: no significativo; QDPPH: QUENCHER DPPH; TE: Trolox equivalente; p.s.: peso seco.

Cuadro 8. Interacciones de los efectos principales de la capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del radical DPPH• (QDPPH) en carne de novillos Aberdeen Angus.

ENSAYO	Interacciones			
	Sistema x Músculo	Sistema x Maduración	Músculo x Maduración	Sistema x Músculo x Maduración
QDPPH ($\mu\text{mol TE/g}$ carne (p.s.))	< 0,05	NS	< 0,0001	< 0,01

NS: no significativo; QDPPH: QUENCHER DPPH; TE: Trolox equivalente; p.s.: peso seco.

3.1.2.2. Procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del catión radical ABTS•+ (QABTS)

El procedimiento QUENCHER también fue aplicado utilizando el ensayo ABTS, los resultados obtenidos se presentan en la Figura 13 y resumen en los Cuadros 9 y 10.

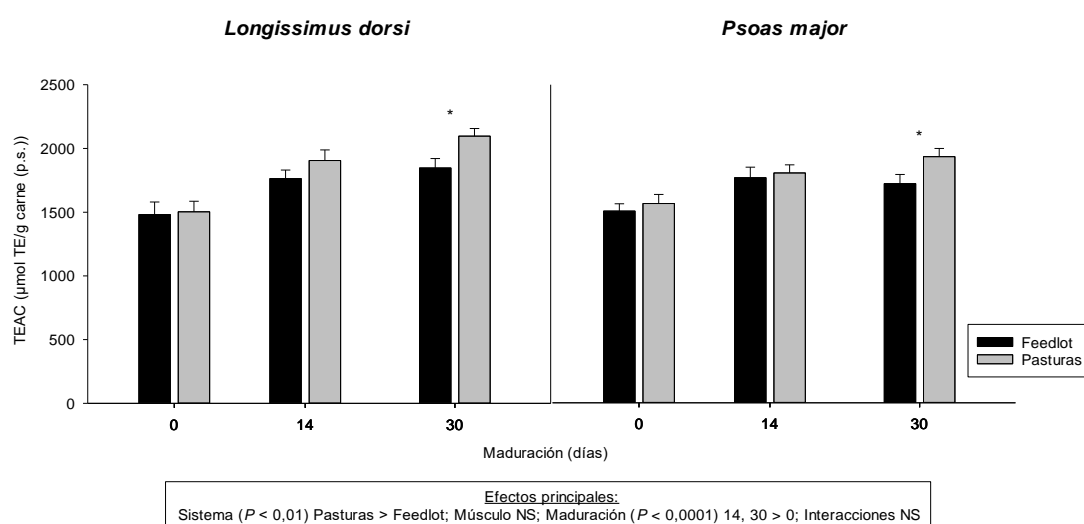


Figura 13. Capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del catión radical ABTS•+ (QABTS), en carne de novillos Aberdeen Angus provenientes de los sistemas de producción pasturas o feedlot, en los músculos *Longissimus dorsi* y *Psoas major*, madurados al vacío 0, 14 o 30 días. Los valores son medias \pm SEM (n=10). Los * indican diferencias entre los sistemas ($P < 0,05$). NS: no significativo; TEAC: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (capacidad antioxidante equivalente a Trolox); TE: Trolox equivalente; p.s.: peso seco.

En cuanto al análisis de los efectos principales para este ensayo, tanto el sistema de producción como la maduración presentaron efectos significativos ($P < 0,01$ y $P < 0,0001$, respectivamente), donde el sistema en base a pasturas fue mayor a feedlot y la maduración de la carne por 14 y 30 días presentaron mayor TEAC que la madurada por 0 días. Sin embargo, el tipo de músculo y las interacciones entre los factores analizados no presentaron efectos significativos.

Estos resultados coinciden con los obtenidos cuando el ensayo ABTS fue realizado a partir de los extractos de antioxidantes.

Por otro lado, cada sistema de producción, cada músculo y cada tiempo de maduración fue analizado individualmente. En lo que refiere al sistema de producción se observó el mismo efecto significativo para pasturas y feedlot, la maduración ejerció un efecto sobre la capacidad antioxidante de las muestras (pasturas $P < 0,0001$ y feedlot $P < 0,001$), donde 14 y 30 días de maduración fueron superiores a la carne sin madurar (0 días). A su vez, tanto para *Longissimus dorsi* como para *Psoas major*, la maduración ejerció el mismo efecto sobre la capacidad antioxidante ($P < 0,0001$ y $P < 0,001$, respectivamente), donde 14 y 30 días fueron superiores a 0 días. Sin embargo, únicamente para el músculo LD se observó un efecto del sistema de producción, siendo pasturas mayor a feedlot ($P < 0,05$). Asimismo, al analizar cada tiempo de maduración se pudo observar que únicamente a 30 días, tanto el sistema de producción ($P < 0,01$) como el tipo de músculo ($P < 0,05$) presentaron efecto significativo, donde P presentó valores superiores que FL y el *L. dorsi* fue superior al *P. major*.

3.1.2.3. Procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo poder antioxidante de reducción férrica (QFRAP)

Por último, el procedimiento QUENCHER fue aplicado utilizando el ensayo FRAP. Los resultados se presentan en la Figura 14 y resumen en los Cuadros 11 y 12.

Como puede observarse, no se obtuvieron efectos significativos para ninguno de los factores principales analizados. Estos resultados pueden ser interpretados del mismo modo que aquellos obtenidos para el ensayo QDPPH.

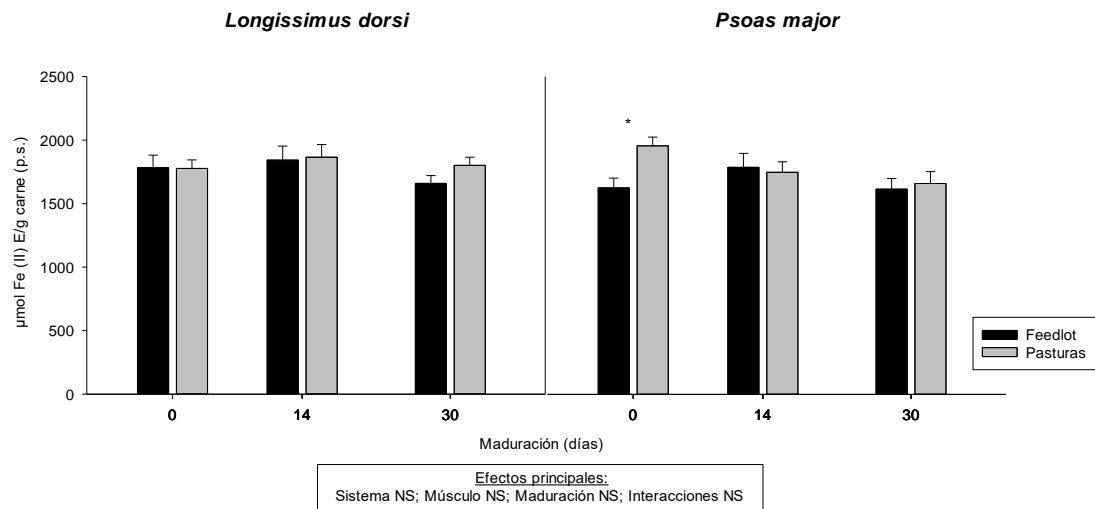


Figura 14. Capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo poder antioxidante de reducción férrica (QFRAP), en carne de novillos Aberdeen Angus provenientes de los sistemas de producción pasturas o feedlot, en los músculos *Longissimus dorsi* y *Psoas major*, madurados al vacío 0, 14 o 30 días. Los valores presentados son medias \pm SEM (n=10). Los * indican diferencias entre los sistemas ($P < 0,05$). NS: no significativo; Fe (II) E: catión hierro (II) equivalente; p.s.: peso seco.

Por otro lado, cada músculo fue analizado individualmente, donde para ambos no se obtuvieron diferencias significativas ni para el sistema de producción ni la maduración. Asimismo, cada uno de los períodos de maduración en cada músculo fue analizado por separado. Los resultados fueron indicados en la Figura 14 (*). El músculo *Psoas major* madurado 0 días, fue la única condición en la cual el sistema de producción presentó un efecto, donde pasturas fue superior a feedlot. Para el resto de los días de maduración y en el músculo *Longissimus dorsi* no se observaron diferencias significativas.

Cuadro 9. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo y tiempo de maduración sobre la capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del catión radical ABTS•+ (QABTS) en carne de novillos Aberdeen Angus.

ENSAYO	SISTEMA		MÚSCULO		MADURACIÓN (días)			P		
	Pasturas	Feedlot	LD	PM	0	14	30	Sistema	Músculo	Maduración
QABTS ($\mu\text{mol TE/g carne (p.s.)}$)	1800,917 ^A	1683,962 ^B	1771,135	1715,197	1514,371 ^B	1809,786 ^A	1898,922 ^A	< 0,01	NS	< 0,0001
	38,849	34,482	41,611	32,764	37,508	37,086	39,210			

Los valores están expresados como medias con su respectivo desvío estándar (SEM) en subíndice (n=10). Medias con letras distintas expresan diferencias significativas con $P < 0,05$ (A, B para sistema; A, B, C para maduración). LD: *Longissimus dorsi*; PM: *Psoas major*; P: probabilidad; NS: no significativo; QABTS: QUENCHER ABTS; TE: Trolox equivalente; p.s.: peso seco.

Cuadro 10. Interacciones de los efectos principales de la capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del catión radical ABTS•+ (QABTS) en carne de novillos Aberdeen Angus.

ENSAYO	Interacciones			
QABTS ($\mu\text{mol TE/g carne (p.s.)}$)	Sistema x Músculo	Sistema x Maduración	Músculo x Maduración	Sistema x Músculo x Maduración
	NS	NS	NS	NS

NS: no significativo; QABTS: QUENCHER ABTS; TE: Trolox equivalente; p.s.: peso seco.

Cuadro 11. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo y tiempo de maduración sobre la capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo poder antioxidante de reducción férrica (QFRAP) en carne de novillos Aberdeen Angus.

ENSAYO	SISTEMA		MÚSCULO		MADURACIÓN (días)			P		
	Pasturas	Feedlot	LD	PM	0	14	30	Sistema	Músculo	Maduración
QFRAP ($\mu\text{mol Fe (II) E/g carne (p.s.)}$)	1801,319	1717,574	1788,090	1731,979	1785,364	1810,722	1683,948	NS	NS	NS
	33,630	37,642	34,454	37,225	42,070	49,127	38,512			

Los valores están expresados como medias con su respectivo desvío estándar (SEM) en subíndice (n=10). LD: *Longissimus dorsi*; PM: *Psoas major*; P: probabilidad; NS: no significativo; QFRAP: QUENCHER FRAP; Fe (II) E: catión hierro (II) equivalente; p.s.: peso seco.

Cuadro 12. Interacciones de los efectos principales de la capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER, utilizando el ensayo poder antioxidante de reducción férrica (QFRAP) en carne de novillos Aberdeen Angus.

ENSAYO	Interacciones			
	Sistema x Músculo	Sistema x Maduración	Músculo x Maduración	Sistema x Músculo x Maduración
QFRAP ($\mu\text{mol Fe (II) E/g carne (p.s.)}$)	NS	NS	NS	NS

NS: no significativo; QFRAP: QUENCHER FRAP; Fe (II) E: catión hierro (II) equivalente; p.s.: peso seco.

3.2. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GRUPOS SULFHIDRILOS TOTALES (SH)

La determinación del contenido de grupos sulfhidrilos en las muestras, se basó en la cuantificación de la capacidad de los grupos SH de reducir el puente disulfuro presente en el reactivo DTNB, formando el compuesto TNB que puede ser monitoreado espectrofotométricamente. En este trabajo se realizó la determinación de los grupos sulfhidrilos totales, es decir, tanto aquellos que se encontraban en su forma reducida como aquellos en su forma oxidada formando puentes disulfuro. Esta determinación se debe a la aplicación de urea como agente desnaturizante de la estructura proteica y el SLS que permite estabilizar las proteínas desnaturizadas.

En la Figura 15 y en el Cuadro 13 se presentan los resultados obtenidos, donde se observa que cada uno de los factores principales analizados presentó efecto significativo sobre el contenido de grupos SH totales.

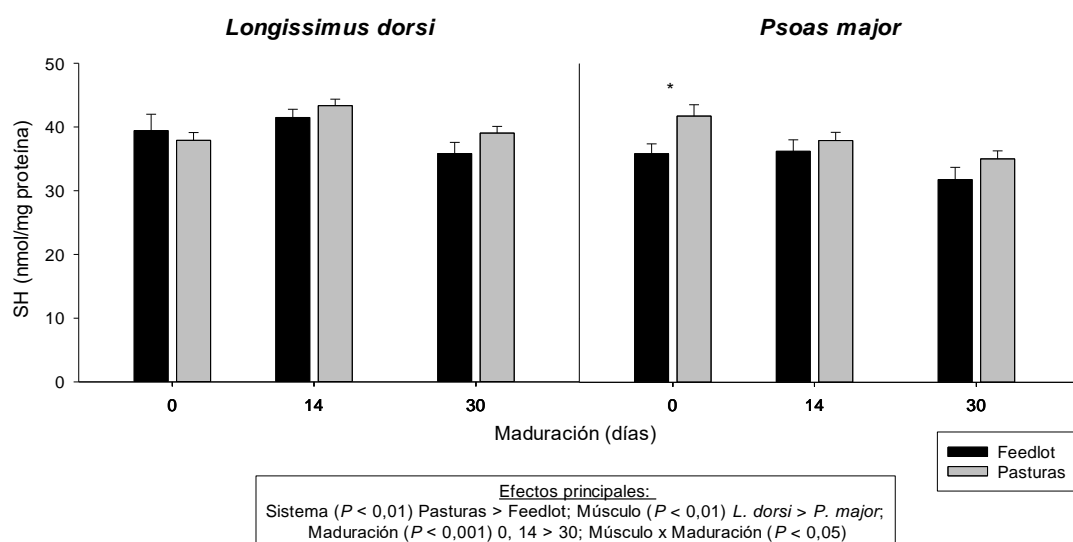


Figura 15. Contenido de grupos sulfhidrilos totales (SH) en carne de novillos Aberdeen Angus provenientes de los sistemas de producción pasturas o feedlot, en los músculos *Longissimus dorsi* y *Psoas major*, madurados al vacío 0, 14 o 30 días. Los valores presentados son medias \pm SEM (n=10). Los * indican diferencias entre los sistemas ($P < 0,05$). NS: no significativo; SH: grupos sulfhidrilos; p.s.; peso seco.

El sistema de producción en base a pasturas presentó mayores niveles de grupos sulfhidrilos totales en comparación a feedlot ($P < 0,01$). En la carne, los grupos SH están presentes en las proteínas formando parte de la cadena lateral de aminoácidos como cisteína y metionina, y compuestos no proteicos como el glutatión (Hofmann y Hamm, 1978). No se observaron diferencias significativas en la cuantificación de proteínas entre ambos grupos, por lo que el mayor contenido de grupos SH totales en la carne proveniente de pasturas puede ser explicado a través del mayor contenido de compuestos antioxidantes conteniendo tioles. Los resultados obtenidos para el contenido de glutatión también avalan esta hipótesis, donde se observó que P presentó mayor contenido de glutatión que FL.

Por otro lado, el tipo de músculo también presentó un efecto significativo ($P < 0,01$), donde se observó que el músculo *Longissimus dorsi* presentó mayores valores que el *Psoas major*. Como fue mencionado anteriormente, estos dos músculos difieren en la composición y relación entre los diferentes tipos de fibras musculares, y por lo tanto en el metabolismo llevado a cabo en cada uno. Mientras que el LD es un músculo mayormente glucolítico, el PM presenta un metabolismo mixto, donde el metabolismo oxidativo es mayor que en el LD. Algunos trabajos han estudiado las diferencias en la terneza alcanzada en estos dos músculos, la cual puede estar influenciada por el pH del músculo y la actividad de las calpaínas, enzimas responsables de la proteólisis. Melody *et al.* (2004) han demostrado, en músculos porcinos, que el PM presenta menor actividad de la μ -calpaína a lo largo del tiempo de maduración que el LD, la cual puede estar influenciada por el pH de este músculo. A su vez, Rowe *et al.* (2004) demuestran que el grado de oxidación del músculo retarda la maduración de la carne y por lo tanto la terneza. Las calpaínas mayormente estudiadas son proteasas que poseen residuos de cisteína, los cuales aportan grupos sulfhidrilos reactivos en el sitio activo de las mismas. Estos grupos son objetivo de la oxidación proteica que ocurre en la matriz muscular, y bajo condiciones oxidativas, estas enzimas pierden su actividad. Esto nos lleva a hipotetizar que el resultado obtenido, donde se observa que el músculo PM presenta menor contenido de grupos SH que el LD, puede deberse a su naturaleza mayormente oxidativa.

En cuanto al tiempo de maduración este presentó un efecto significativo ($P < 0,001$), donde se observó que la carne de 0 y 14 días de maduración presentaron valores superiores que la madurada por 30 días. Como fue mencionado a lo largo del trabajo, la maduración ejerce cambios estructurales sobre la integridad de las células musculares esqueléticas de la carne. Esto nos lleva a hipotetizar que luego de 30 días de maduración las proteínas y sus derivados sufrieron un nivel de degradación tal que se traduce en el descenso de grupos sulfhidrilos totales presentes.

Cuadro 13. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo y tiempo de maduración junto con sus respectivas interacciones sobre el contenido de grupos sulfhidrilos totales (SH) en carne de novillos Aberdeen Angus.

ENSAYO	SISTEMA		MÚSCULO		MADURACIÓN (días)			P		
	Pasturas	Feedlot	LD	PM	0	14	30	Sistema	Músculo	Maduración
SH (nmol/mg proteína)	39,187 ^A 0,616	36,746 ^B 0,817	39,520 ^a 0,678	36,459 ^b 0,743	38,740 ^A 0,933	39,763 ^A 0,801	35,446 ^B 0,843	< 0,01	< 0,01	< 0,001
	Interacciones									
	Sistema x Músculo		Sistema x Maduración			Músculo x Maduración		Sistema x Músculo x Maduración		
	NS		NS			< 0,05		NS		

Los valores están expresados como medias con su respectivo desvío estándar (SEM) en subíndice (n=10). Medias con letras distintas expresan diferencias significativas con $P < 0,05$ (A, B para sistema; a, b, c para músculo; A, B, C para maduración). LD: *Longissimus dorsi*; PM: *Psoas major*; P: probabilidad; NS: no significativo.

A su vez, la interacción tipo de músculo y tiempo de maduración presentó un efecto ($P < 0,05$). El análisis individual para cada uno de los dos músculos indicó que para el *Psoas major* las muestras sin madurar (0 días) presentaron mayores valores de grupos SH totales que aquellas maduras por 30 días ($P < 0,01$), y para el *Longissimus dorsi* la maduración por 14 días fue superior a la carne sin madurar y madurada por 30 días ($P < 0,01$), sin diferencias entre estos dos últimos tiempos. Asimismo, Melody *et al.* (2004) presentaron que en los músculos porcinos PM y LD, la proteólisis del PM se completa en períodos post-mortem más cortos y a medida que transcurre el tiempo de maduración, la actividad de esta enzima decrece y por lo tanto la velocidad de ablandamiento del músculo. Koohmaraie *et al.* (1988) también encontraron resultados similares en músculos bovinos. Mientras que en períodos

tempranos de maduración el PM fue el músculo más tierno en comparación con el LD, a medida que el tiempo de maduración transcurre la terneza del LD se incrementa en mayor medida que en el PM. Por otro lado, se observó que el tipo de músculo ejerció un efecto en el sistema de producción y el tiempo de maduración. El *L. dorsi* presentó valores superiores de grupos SH que el *P. major* tanto bajo el régimen feedlot ($P < 0,01$) como en la carne madurada por 14 ($P < 0,001$) y 30 días ($P < 0,05$). A su vez, se observó únicamente un efecto del sistema de producción a 30 días de maduración ($P < 0,05$), donde las muestras provenientes de P presentaron valores superiores que aquellas de FL.

3.3. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES (CFT)

Se determinó el contenido de compuestos fenólicos totales mediante el ensayo espectrofotométrico de reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu a partir de extractos acuosos de las muestras. En este ensayo, en un entorno básico, el grupo hidroxilo de los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 16 y en el Cuadro 14.

Como puede observarse, tanto el sistema de producción como el tipo de músculo no presentaron un efecto sobre las muestras. A pesar de que los animales fueron terminados en dos sistemas de producción distintos, ambos grupos fueron criados bajo una alimentación en base a pasturas naturales. Por lo tanto, una posible hipótesis por la cual no se observó un efecto del sistema de producción puede deberse a que la alimentación de los animales en las primeras etapas de producción imprimió un efecto sobre ambos grupos que no se diferenció por la dieta recibida en la última etapa de terminación. A su vez, los compuestos fenólicos son de las sustancias más extensamente producidas en las plantas y se encuentran ampliamente distribuidos en sus tejidos (Khoddami *et al.*, 2013), pudiendo ser encontrados tanto en las pasturas como en los granos (Lane y Fraser, 1999). A pesar de que la síntesis y combinación de fenoles y polifenoles sintetizados por las distintas especies de plantas es diferente,

en este ensayo se cuantifica el contenido total de los mismos, por lo que no se determinan diferencialmente unos compuestos frente a otros.

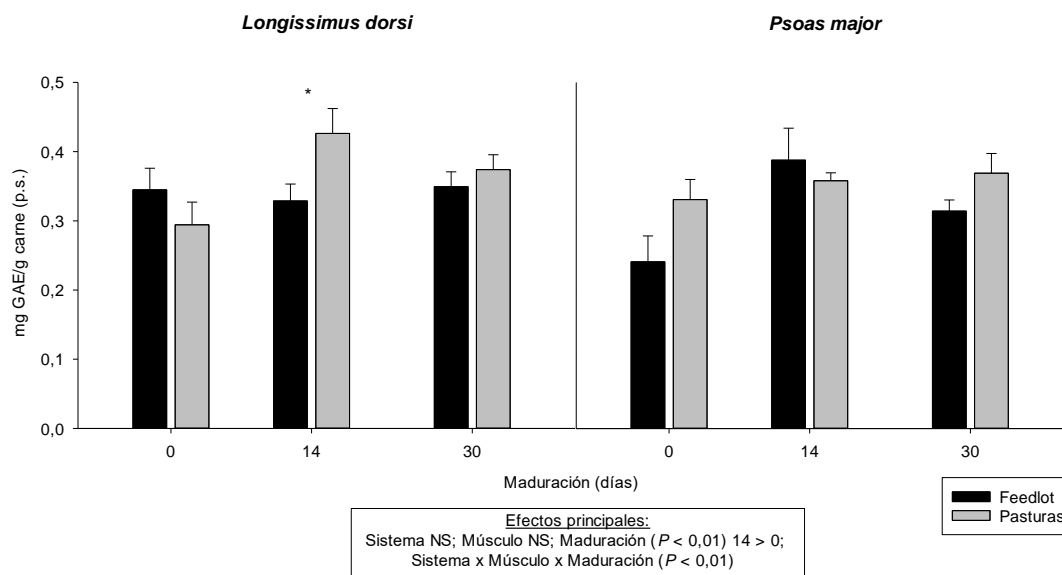


Figura 16. Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) determinado mediante el método de Folin-Ciocalteu, en carne de novillos Aberdeen Angus provenientes de los sistemas de producción pasturas o feedlot, en los músculos *Longissimus dorsi* y *Psoas major*, madurados al vacío 0, 14 o 30 días. Los valores presentados son medias \pm SEM (n=10). Los * indican diferencias entre los sistemas ($P < 0,05$). NS: no significativo; GAE: ácido gálico equivalente; p.s.: peso seco.

Asimismo, se debe tener en cuenta que los resultados obtenidos en este ensayo son un reflejo únicamente de los compuestos que pudieron ser extraídos selectivamente a través del método de extracción seleccionado. Del mismo modo, es importante destacar que el reactivo de Folin-Ciocalteu fue originalmente utilizado para analizar proteínas a través del grupo fenol presente en la tirosina (Singleton *et al.*, 1999), este ensayo no es selectivo para compuestos fenólicos y por lo tanto, siendo que la carne es una matriz con alta concentración de proteínas, pueden existir interferencias que alteren los resultados obtenidos.

Por otro lado, la maduración de las muestras presentó un efecto sobre el contenido de CFT ($P < 0,01$), donde 14 días de maduración presentó valores superiores de CFT en comparación con 0 días. No se observaron diferencias significativas entre los días 14

y 30, y entre 0 y 30 días. Se ha demostrado que los polifenoles son capaces de interaccionar con las proteínas mediante su grupo hidroxilo (OH), formando agregados solubles o insolubles (Bandyopadhyay *et al.*, 2012). Este aumento de la concentración de compuestos fenólicos con la maduración puede deberse a la liberación de estas moléculas debido al cambio estructural que la matriz proteica sufre.

Cuadro 14. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo y tiempo de maduración junto con sus respectivas interacciones sobre el contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) en carne de novillos Aberdeen Angus.

ENSAYO	SISTEMA		MÚSCULO		MADURACIÓN (días)			P		
	Pasturas	Feedlot	LD	PM	0	14	30	Sistema	Músculo	Maduración
CFT (mg GAE/g carne (p.s.))	0,359 0,012	0,329 0,014	0,353 0,012	0,335 0,014	0,302 ^B 0,017	0,376 ^A 0,017	0,352 ^{AB} 0,011	NS	NS	< 0,01
	Interacciones									
	Sistema x Músculo		Sistema x Maduración		Músculo x Maduración		Sistema x Músculo x Maduración			
	NS		NS		NS		< 0,01			

Los valores están expresados como medias con su respectivo desvío estándar (SEM) en subíndice (n=10). Medias con letras distintas expresan diferencias significativas con $P < 0,05$ (A, B, C para maduración). LD: *Longissimus dorsi*; PM: *Psoas major*; P: probabilidad; NS: no significativo; GAE: ácido gálico equivalente; p.s.: peso seco.

Al realizar un análisis individual de cada factor se pudo observar que tanto en el sistema de producción en base pastoril como en el músculo *Psoas major*, se determinó un efecto significativo de la maduración ($P < 0,05$), donde 14 días presentó mayores valores de CFT que 0 días.

3.4. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GLUTATIÓN TOTAL (GSH + GSSG)

En este trabajo se llevó a cabo la determinación del contenido glutatión total, es decir su forma reducida (GSH) y oxidada (GSSG) en conjunto. La técnica utilizada se basó en la capacidad que poseen los grupos SH presentes en la molécula de glutatión de reducir el puente disulfuro presente en el reactivo DTNB, generando un compuesto de color amarillo intenso (TNB) que fue monitoreado espectrofotométricamente. A

esta reacción se acopló un reciclaje enzimático de glutatión mediante la glutatión reductasa (GR) en presencia de NADPH.

Los resultados obtenidos se presentan en la Figura 17 y el Cuadro 15. Para el análisis de los factores principales, se observó únicamente un efecto del sistema de producción, donde la carne proveniente de pasturas presentó valores superiores de glutatión total que aquella proveniente de feedlot ($P < 0,05$). No se observaron efectos significativos ni para el tipo de músculo, ni el tiempo de maduración ni las interacciones entre ellos.

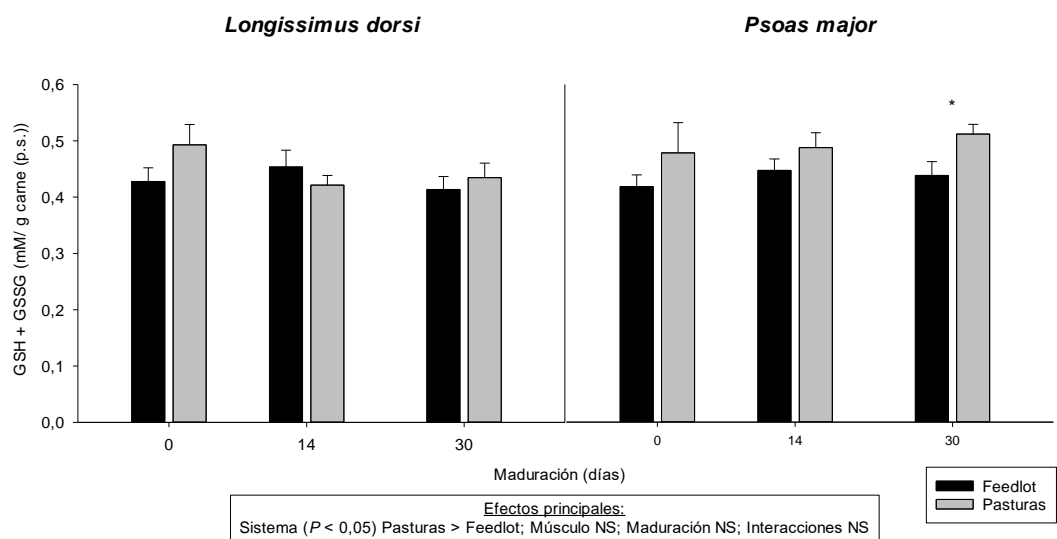


Figura 17. Contenido de glutatión total (GSH + GSSG) en carne de novillos Aberdeen Angus provenientes de los sistemas de producción pasturas o feedlot, en los músculos *Longissimus dorsi* y *Psoas major*, madurados al vacío 0, 14 o 30 días. Los valores presentados son medias \pm SEM (n=10). Los * indican diferencias entre los sistemas ($P < 0,05$). NS: no significativo; p.s.; peso seco.

Descalzo *et al.* (2007) reportaron resultados similares. Bajo el estudio comparativo del estatus antioxidante en el músculo *Psoas major* de novillos cruza alimentados en pasturas naturales versus con concentrado, encontraron que el contenido de glutatión, tanto en su forma reducida (GSH) como oxidada (GSSG), fueron significativamente mayores en los músculos de animales provenientes de pasturas.

El efecto del sistema de producción, el tipo de músculo y el tiempo de maduración fueron analizados de forma independiente. Se observó que únicamente en el músculo *Psoas major* el sistema de producción presentó un efecto significativo ($P < 0,05$), donde pasturas fue superior que feedlot.

Cuadro 15. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo y tiempo de maduración junto con sus respectivas interacciones sobre el contenido de glutatión total (GSH + GSSG) en carne de novillos Aberdeen Angus.

ENSAYO	SISTEMA		MÚSCULO		MADURACIÓN (días)			P		
	Pasturas	Feedlot	LD	PM	0	14	30	Sistema	Músculo	Maduración
GSH (mM/g carne (p.s.))	0,471 ^A 0,013	0,433 ^B 0,010	0,441 0,011	0,463 0,012	0,455 0,018	0,452 0,012	0,450 0,013	< 0,05	NS	NS
	Interacciones									
	Sistema x Músculo		Sistema x Maduración		Músculo x Maduración		Sistema x Músculo x Maduración			
	NS		NS		NS		NS			

Los valores están expresados como medias con su respectivo desvío estándar (SEM) en subíndice (n=10). Medias con letras distintas expresan diferencias significativas con $P < 0,05$ (A, B para sistema). LD: *Longissimus dorsi*; PM: *Psoas major*; P: probabilidad; NS: no significativo; p.s.: peso seco.

Al analizar el efecto de la maduración individualmente, se pudo observar que 30 días fue el único tiempo en el cual se observaron diferencias entre los sistemas de producción y entre los músculos. En este tiempo de maduración se observó que pasturas fue superior que feedlot ($P < 0,05$) y el PM presentó niveles superiores de glutatión que el LD ($P < 0,05$).

3.5. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE α -TOCOFEROL

Se determinó el contenido de α -tocoferol en las muestras frescas de carne. Los resultados preliminares para el músculo *Psoas major* en los tiempos de maduración 0 y 30 días se presentan en el Cuadro 16.

A pesar de no contar con los valores de todos los tratamientos, como puede observarse, el análisis de los factores principales arrojó que únicamente se obtuvo un

efecto significativo del sistema de producción de los animales ($P < 0,01$), donde la carne proveniente de pasturas presentó mayor contenido de α -tocoferol que las muestras de feedlot.

Cuadro 16. Resultados preliminares del contenido de α -tocoferol en el músculo *Psoas major* de novillos Aberdeen Angus provenientes de los sistemas de producción pasturas y feedlot.

Sistema	Maduración (días)	α-tocoferol ($\mu\text{g/g}$ carne fresca)
Feedlot	0	$0,96 \pm 0,12$ B
	30	$0,97 \pm 0,21$ B
Pasturas	0	$1,76 \pm 0,17$ A
	30	$2,30 \pm 0,12$ A

Los valores están expresados como medias con su respectivo desvío estándar de la media (SEM) (n=4-5). Letras distintas (A, B) expresan diferencias significativas entre sistemas de producción con $P < 0,05$.

Estos resultados concuerdan con aquellos reportados en otros trabajos (Insani *et al.*, 2008; Descalzo *et al.*, 2007; Descalzo *et al.*, 2005; Realini *et al.*, 2004), donde se observó que la incorporación de pasturas en la dieta de los animales incrementa el contenido de α -tocoferol en la carne obtenida.

En la Figura 18 se presentan los resultados obtenidos para el estudio del efecto del tipo de músculo y el tiempo de maduración en las muestras provenientes de pasturas, donde se cuentan con todas las condiciones analizadas. No se obtuvieron efectos significativos para ninguno de estos dos factores ($P < 0,05$).

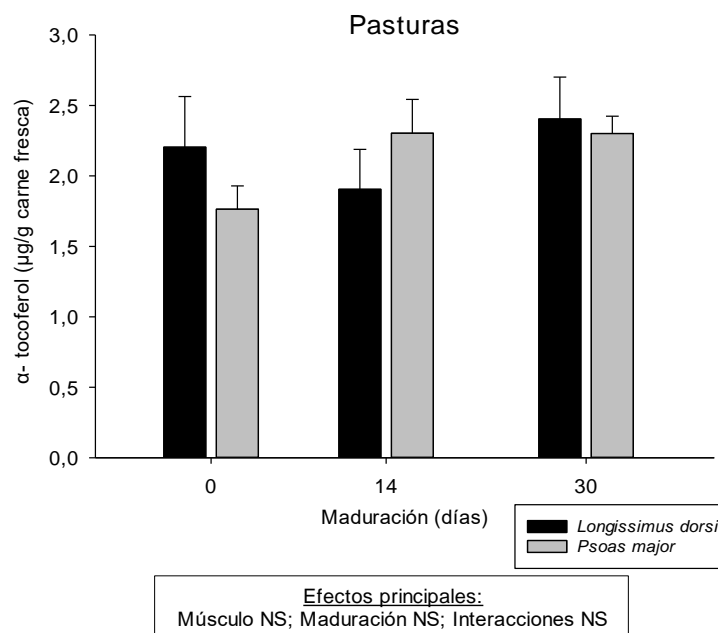


Figura 18. Resultados preliminares para el contenido de α -tocoferol en carne de novillos Aberdeen Angus provenientes del sistema de producción pasturas, en los músculos *Longissimus dorsi* y *Psoas major*, madurados al vacío 0, 14 o 30 días. Los valores presentados son medias \pm SEM (n=4-8) ($P < 0,05$). NS: no significativo

Pouzo *et al.* (2016) estudiaron el efecto de la maduración sobre el contenido de α -tocoferol en carne proveniente de novillos Aberdeen Angus (de aproximadamente 23 meses de edad) terminados sobre pasturas, suplementados con grano de maíz y semillas de lino (70 días). En este estudio observaron que la maduración (0, 14 y 56 días) provocó un descenso en la concentración de este tocoferol a medida que el tiempo de maduración aumenta. Asimismo, Descalzo *et al.* (2008) determinaron el contenido de α -tocoferol en carne de búfalo madurada, donde observaron que la maduración ejerció un efecto negativo, reduciendo casi en un 90 % el contenido de este tocoferol luego de 25 días de maduración. A pesar de que estos estudios no fueron llevados a cabo en las mismas condiciones que el presente trabajo, los resultados preliminares obtenidos parecen no seguir el mismo comportamiento reportado. Sin embargo, no es posible extraer conclusiones respecto al efecto de la maduración sobre las condiciones ensayadas. Se deberán estudiar todos los tratamientos y completar este ensayo preliminar.

3.6. EVALUACIÓN GLOBAL DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

Cada una de las determinaciones realizadas fue analizada en términos de los efectos principales, sistema de producción, tipo de músculo y tiempo de maduración, junto con sus interacciones. En el Cuadro 17 se resumen todos los resultados obtenidos para cada determinación.

Cuadro 17. Resumen de los efectos principales sistema de producción, tipo de músculo y tiempo de maduración ($P < 0,05$) en todas las determinaciones realizadas.

	DPPH	ABTS	FRAP	QDPPH	QABTS	QFRAP	SH	CFT	GSH + GSSG	α -tocoferol
Sistema	P > FL	P > FL	P > FL	P > FL	P > FL	NS	P > FL	NS	P > FL	P > FL
Músculo	LD > PM	NS	NS	PM > LD	NS	NS	LD > PM	NS	NS	NS
Maduración (días)	14 > 30 > 0	14, 30 > 0	14 > 30	NS	14, 30 > 0	NS	0, 14 > 30	14 > 0	NS	NS

DPPH: ensayo de decoloración del radical DPPH•; ABTS: ensayo de decoloración del catión radical ABTS•+; FRAP: ensayo poder antioxidante de reducción férrica; QDPPH: procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del radical DPPH•; QABTS: procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del catión radical ABTS•+; QFRAP: procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo poder antioxidante de reducción férrica; SH: contenido de grupos sulfhidrilos totales; CFT: contenido de compuestos fenólicos totales; GSH + GSSG: contenido de glutatión total; P: pasturas; FL: feedlot; LD: *Longissimus dorsi*; PM: *Psoas major*; NS: no significativo.

En términos generales se pudo observar un efecto significativo del sistema de producción, donde el sistema de producción en base a pasturas fue superior que feedlot. En cuanto al tipo de músculo, únicamente se observó un efecto significativo para los ensayos DPPH, QUENCHER DPPH y contenido de grupos SH totales. Mientras que para los ensayos DPPH y grupos SH el músculo *Longissimus dorsi* presentó valores superiores que el *Psoas major*, en el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo DPPH el resultado fue el contrario. Excepto para el procedimiento QUENCHER DPPH, QUENCHER FRAP y contenido de glutatión total, donde no se observó un efecto significativo, el tiempo de maduración de la carne ejerció un efecto positivo, principalmente a 14 días, donde se obtuvieron los mayores valores en las distintas determinaciones.

En el Cuadro 18 se presenta un resumen de los resultados obtenidos para cada determinación al analizar específicamente para cada sistema de producción, cada músculo y cada tiempo de maduración de forma independiente. En algunos ensayos se obtuvieron diferentes comportamientos y en otros no se observan efectos significativos. A pesar de esto, se puede observar que el tiempo de maduración, principalmente a 14 días, posee un efecto positivo marcado en las variables donde se obtuvo un efecto significativo, tanto en ambos sistemas como en ambos músculos. A su vez, se observa que el músculo *Longissimus dorsi* parece tener una mejor respuesta en términos de su estatus antioxidante bajo el sistema de producción pasturas en comparación con el *Psoas major*. Asimismo, a mayor cantidad de días de maduración el sistema de producción comienza a poseer un efecto significativo, donde se observa que a 30 días la carne proveniente de pasturas posee una mejor respuesta que el sistema feedlot.

Considerando todos los indicadores de estatus antioxidante estudiados junto con los efectos observados, la alimentación en base pastoril parece promover una mejor respuesta antioxidante. Esto permitiría proteger compuestos valiosos, como el hierro, las vitaminas y entre otros macro y micronutrientes de gran importancia y valor tanto en la conservación de la carne como en la salud del consumidor.

Cuadro 18. Resumen de los efectos principales de todas las determinaciones realizadas para el análisis individual de cada sistema de producción, cada músculo y cada tiempo de maduración ($P < 0,05$).

	Variable respuesta	Factor variable	DPPH	ABTS	FRAP	QDPPH	QABTS	QFRAP	SH	CFT	GSH + GSSG	α -tocoferol
SISTEMA	Pasturas	Músculo	LD > PM	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
		Maduración	NS	14, 30 > 0			14, 30 > 0			14 > 0		
	Feedlot	Músculo	PM > LD	NS	LD > PM	PM > LD	NS	NS	LD > PM	NS	NS	NS
		Maduración	NS	14, 30 > 0	14 > 30	NS	14, 30 > 0		NS			
MÚSCULO	<i>Longissimus dorsi</i>	Sistema	P > FL	P > FL	NS	P > FL	P > FL	NS	NS	NS	NS	NS
		Maduración	14 > 30 > 0	30 > 14 > 0		NS	14, 30 > 0		14 > 0, 30	14 > 0		
	<i>Psoas major</i>	Sistema	NS	NS	P > FL	NS	NS	NS	NS	NS	P > FL	NS
		Maduración	14 > 30 > 0	14, 30 > 0	NS	14, 30 > 0	14, 30 > 0		0 > 30	NS		
MADURACIÓN (DÍAS)	0	Sistema	NS	FL > P	NS	P > FL	NS	NS	NS	NS	NS	NS
		Músculo		NS	LD > PM	PM > LD						
	14	Sistema	NS	P > FL	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
		Músculo	LD > PM	NS		PM > LD			LD > PM			
	30	Sistema	NS	P > FL	P > FL	NS	P > FL	NS	P > FL	NS	P > FL	NS
		Músculo		NS	NS	PM > LD	LD > PM		LD > PM		PM > LD	

DPPH: ensayo de decoloración del radical DPPH•; ABTS: ensayo de decoloración del catión radical ABTS•+; FRAP: ensayo poder antioxidante de reducción férrica; QDPPH: procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del radical DPPH•; QABTS: procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del catión radical ABTS•+; QFRAP: procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo poder antioxidante de reducción férrica; SH: contenido de grupos sulfhidrilos totales; CFT: contenido de compuestos fenólicos totales; GSH + GSSH: contenido de glutatión total; P: pasturas; FL: feedlot; LD: *Longissimus dorsi*; PM: *Psoas major*; NS: no significativo.

4. CONCLUSIONES

Un sistema de producción con mayor inclusión de pasturas demostró que, para la mayoría de las determinaciones realizadas, imprime un mejor estatus antioxidante sobre la carne de novillos Aberdeen Angus que la terminación con concentrado y en encierro (feedlot). El sistema en base pastoril brinda una mejor aptitud a la carne, aportando mejores cualidades tecnológicas para extender su vida útil, como nutricionales para brindar al consumidor.

La maduración de la carne ejerció un efecto sobre el estatus antioxidante de la misma. A pesar de que en algunos ensayos no es posible encontrar diferencias entre la carne sin madurar (0 días) y la madurada por 14 días, y en otros no es posible diferenciar la madurada por 14 de 30 días, se observa que la maduración ejerce un efecto positivo, principalmente a 14 días.

No se pueden extraer conclusiones concretas con respecto al efecto del tipo de músculo sobre su estatus antioxidante de la carne. A pesar de que en algunos ensayos realizados este parámetro presentó un efecto significativo, en la mayoría de las determinaciones realizadas, los dos músculos analizados no parecen poseer diferencias marcadas en cuanto a su estatus antioxidante.

Asimismo, en todas las determinaciones en donde se observó un efecto del sistema de producción en la carne madurada por 30 días, el sistema en base pastoril aportó un mejor estatus antioxidante. Por lo tanto, la carne proveniente de pasturas brinda una mejor aptitud a la carne en maduraciones prolongadas.

5. BIBLIOGRAFÍA

AACS (The Aberdeen-Angus Cattle Society). 2019. World Aberdeen-Angus Breeders Gather in Uruguay in March 2019. Official Journal of the Aberdeen-Angus Cattle Society, 101: 29 [En línea]. Consultado 22 mayo 2020. Disponible en: <https://www.aberdeen-angus.co.uk/wp-content/uploads/attachments/AACS-TheReview-2019-web-1.pdf>

Alam MN, Bristi NJ, Rafiquzzaman M. 2013. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal, 21 (2): 143-152. doi: 10.1016/j.jsps.2012.05.002.

Andersen HJ, Oksbjerg N, Young JF, Therkildsen M. 2005. Feeding and meat quality-a future approach. Meat science, 70 (3): 543-554. doi: 10.1016/j.meatsci.2004.07.015.

Atmaca G. 2004. Antioxidant effects of sulfur-containing amino acids. Yonsei Medical Journal, 45 (5): 776-788. doi: 10.3349/ymj.2004.45.5.776.

Bandyopadhyay P, Ghosh AK, Ghosh C. 2012. Recent developments on polyphenol-protein interactions: effects on tea and coffee taste, antioxidant properties and the digestive system. Food & Function, 3 (6): 592-605. doi: 10.1039/c2fo00006g.

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): 1-23. doi: 10.1007/s12013-009-9054-7.

Benzie IF, Devaki M. 2018. The ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay for non-enzymatic antioxidant capacity: Concepts, procedures, limitations and

applications. En: Apark R, Capanoglu E, Shahidi F. (Eds.). Measurement of the Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends and Applications. Oxford: John Wiley & Sons. (Functional Food Science and Technology). 77-106.

Benzie IF, Strain JJ. 1999. [2] Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version of simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic concentration. *Methods in enzymology*, 299: 15-27. doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99005-5.

Benzie IF, Strain JJ. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": the FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239 (1): 70-76. doi: 10.1006/abio.1996.0292.

Bervejillo J. 2019. Comportamiento del sector de la carne vacuna. En: Anuario 2019 OPYPA (Oficina de Programación y Política Agropecuaria). MGAP (Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca) Análisis sectorial y cadenas productivas; Temas de política; Estudios [En línea]. Consultado 25 mayo 2020. Disponible en: <https://descargas.mgap.gub.uy/OPYPA/Anuarios/Anuario%202019/ORIGINAL%202019%20OPYPA%20INTERACTIVO%20agregado%2018-12-2019.pdf>

Biesalski HK. 2005. Meat as a component of a healthy diet-are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet?. *Meat science*, 70 (3): 509-524. doi: 10.1016/j.meatsci.2004.07.017.

Biswas S, Chida AS, Rahman I. 2006. Redox modifications of protein-thiols: emerging roles in cell signaling. *Biochemical Pharmacology*, 71 (5): 551-564. doi: 10.1016/j.bcp.2005.10.044.

- Bowker BC, Eastridge JS, Paroczay EW, Callahan JA, Solomon MB. 2010. Aging/Tenderization Mechanisms. En: Toldrá F. (Ed.). Handbook of Meat Processing. Iowa: Wiley-Blackwell. 87-104.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset CLWT. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Science and Technology, 28 (1): 25-30. doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
- Briviba K, Sies H. 1993. Nonenzymatic Antioxidant Defense Systems. En: Frei B. (Ed.). Natural Antioxidants in Human Health and Disease. Nueva York: Academic Press. 107-128.
- Cabrera MC, Saadoun A. 2014. An overview of the nutritional value of beef and lamb meat from South America. Meat Science, 98: 435-444. doi: 10.1016/j.meatsci.2014.06.033.
- Cabrera MC, Terevinto A, Zaccari F, Saadoun A. 2015. Creatina, carnosina y anserina en el músculo *Longissimus dorsi* de novillos Aberdeen Angus alimentados a pasto versus concentrado. En: Congreso de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal/ Congreso de la Sociedad Chilena de Producción Animal, Sochipa A.G. (XXIV/XL, 2015, Puerto Varas, Chile). Sochipa A.G. 179.
- Caputi P. 2017. Políticas que contribuyen con la seguridad alimentaria y nutricional: Comercio internacional de la carne uruguaya: un caso de interés para el desarrollo económico con equidad. En: Clegg M, Bianchi E, McNeil J, Herrera Estrella L, Vammen K. (Eds.). Retos y oportunidades de la seguridad alimentaria y nutricional en las Américas. El punto de vista de las Academias de Ciencias. México: Red Interamericana de Academias de Ciencias (IANAS). 586- 587.

- Carocho M, Ferreira ICFR. 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology*, 51, 15-25. doi: 10.1016/j.fct.2012.09.021.
- Carrillo C, Barrio Á, del Mar Cavia M, Alonso-Torre S. 2017. Global antioxidant response of meat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97 (8): 2358-2365. doi: 10.1002/jsfa.8047.
- Cerretani L, Bendini A. 2010. Rapid assays to evaluate the antioxidant capacity of phenols in virgin olive oil. En: Preedy VR, Watson RR. (Eds.). *Olives and olive oil in health and disease prevention*. Londres: Academic Press. 625-635.
- Chan KM, Decker EA, Feustman C. 1994. Endogenous skeletal muscle antioxidants. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 34 (4), 403-426. doi: 10.1080/10408399409527669.
- Chen W, Zhao Y, Seefeldt T, Guan X. 2008. Determination of thiols and disulfides via HPLC quantification of 5-thio-2-nitrobenzoic acid. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48(5): 1375-1380. doi: 10.1016/j.jpba.2008.08.033.
- Choi YM, Kim BC. 2009. Muscle fiber characteristics, myofibrillar protein isoforms, and meat quality. *Livestock Science*, 122 (2-3): 105-118. doi: 10.1016/j.livsci.2008.08.015.
- Cobos Á, Díaz O. 2015. Chemical composition of meat and meat products. En: Cheung PCK, Mehta BM. (Eds.). *Handbook of Food Chemistry*. Springer-Verlag: Heidelberg. 1-32.

- Codex Alimentarius. 2005. Code of hygienic practice for meat CAC/RCP 58-2005 [En línea]. Consultado 25 mayo 2020. Disponible en: http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/meat/backgr_composition.html
- Colombo ML. 2010. An update on vitamin E, tocopherol and tocotrienol— perspectives. *Molecules*, 15 (4): 2103-2113. doi: 10.3390/molecules15042103.
- D'Agata M, Preziuso G, Russo C, Gatta D. 2009. Oxidation and antioxidant status: effects on shelf-life of meat from Limousine cattle fed with supplements of α -tocopherol. *Italian Journal of Animal Science*, 8 (3): 405-415. doi: 10.4081/ijas.2009.405.
- Davies KJ. 1995. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochemical Society Symposia*, 61: 1-31. doi: 10.1042/bss0610001.
- De la Fuente J, Diaz MT, Alvarez I, Oliver MA, i Furnols MF, Sañudo C, Campo MM, Montossi F, Nute GR, Caneque V. 2009. Fatty acid and vitamin E composition of intramuscular fat in cattle reared in different production systems. *Meat Science*, 82 (3): 331-337. doi: 10.1016/j.meatsci.2009.02.002.
- de Oliveira SD, Alves de Souza G, Rodrigues Eckert C, Alves Silva T, Silva Sobral E, Fávero OA, Pena Ferreira JP, Romanoff P, Baader WJ. 2014. Evaluation of antiradical assays used in determining the antioxidant capacity of pure compounds and plant extracts. *Química Nova*, 37(3): 497-503. doi: 10.5935/0100-4042.20140076.
- Decker EA, Crum AD, Shantha NC, Morrissey PA. 1993. Catalysis of lipid oxidation by iron from an insoluble fraction of beef diaphragm muscle. *Journal of Food Science*, 58 (2): 233-236. doi: 10.1111/j.1365-2621.1993.tb04244.x.

- Deneke SM. 2000. Thiol-based antioxidants. En: Stadtman ER, Boon Chock P. (Eds.). *Current Topics in Cellular Regulation*, volume 36. San Diego: Academic Press. 151-180.
- 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 (3): 423-436. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.12.006.
- Descalzo AM, Rossetti L, Sancho AM, García PT, Biolatto A, Carduza F. 2008. Antioxidant consumption and development of oxidation during ageing of buffalo meat produced in Argentina. *Meat Science*, 79 (3), 582-588. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.10.020.
- 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 (2): 299-307. doi: 10.1016/j.meatsci.2006.07.015.
- Descalzo AM, Insani EM, Biolatto A, Sancho AM, García 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 (1): 35-44. doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.11.018.
- Di Mascio P, Murphy ME, Sies H. 1991. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53 (1): 194S-200S. doi: 10.1093/ajcn/53.1.194S.
- Dorta E, Fuentes-Lemus E, Speisky H, Lissi E, López-Alracón C. 2018. Evaluation of the antioxidant capacity of food samples: a chemical examination of the oxygen radical absorbance capacity assay. En: Apark R, Capanoglu E, Shahidi F. (Eds.). *Measurement of the Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends and Applications*. Oxford: John Wiley & Sons. 39-52.

- Estévez M. 2017. What's New in Meat Oxidation?. En: Purslow PP. (Ed.). *New Aspects of Meat Quality: From Gene to Ethics*. Duxford: Woodhead Publishing. (Series in Food Science, Technology and Nutrition). 91-109.
- Estévez M. 2011. Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat science*, 89 (3): 259-279. doi: 10.1016/j.meatsci.2011.04.025.
- Falowo AB, Fayemi PO, Muchenje V. 2014. Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 64: 171-181. doi: 10.1016/j.foodres.2014.06.022.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2020. *Meat Market Review, Overview of global meat market developments in 2019*, April 2020 [En línea]. Consultado 25 mayo 2020. Disponible en: <http://www.fao.org/3/ca8819en/ca8819en.pdf>
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2019. *Meat Market Review, March 2019 (CA3880EN/1/03.19)* [En línea]. Consultado 6 mayo 2020. Disponible en: <http://www.fao.org/3/ca3880en/ca3880en.pdf>
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), New Zealand Agricultural Greenhouse Gas Research Centre. 2017. *Low emissions development of the beef cattle sector in Uruguay-reducing enteric methane for food security and livelihoods* [En línea]. Consultado 25 mayo 2020. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i6749e.pdf>
- Feidt C, Petit A, Bruas-Reignier F, Brun-Bellut J. 1996. Release of free amino-acids during ageing in bovine meat. *Meat science*, 44 (1-2): 19-25. doi: 10.1016/S0309-1740(96)00088-5.

- Forman HJ, Zhang H, Rinna A. 2009. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Molecular Aspects of Medicine*, 30 (1-2): 1-12. doi: 10.1016/j.mam.2008.08.006.
- 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 (3): 385-394. doi: 10.1016/j.meatsci.2003.11.009.
- Gaucher C, Boudier A, Bonetti J, Clarot I, Leroy P, Parent M. 2018. Glutathione: antioxidant properties dedicated to nanotechnologies. *Antioxidants*, 7(5): 62. doi: 10.3390/antiox7050062.
- Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. 2000. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radical Biology and Medicine*, 29 (11): 1106-1114. doi: 10.1016/S0891-5849(00)00394-4.
- Gökmen V, Serpen A, Fogliano V. 2009. Direct measurement of the total antioxidant capacity of foods: the 'QUENCHER' approach. *Trends in Food Science & Technology*, 20(6-7): 278-288. doi: 10.1016/j.tifs.2009.03.010.
- Gray JI, Goma EA, Buckley DJ. 1996. Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, 43 (1): 111-123. doi: 10.1016/0309-1740(96)00059-9.
- Greaser ML. 2001. Postmortem muscle chemistry. En: Hui YH, Nip W-K, Rogers RW, Young OA. (Eds.). *Meat Science and Applications*. Nueva York: Marcel Dekker, Inc. 21-37.
- Gülcin I. 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of toxicology*, 86 (3): 345-391. doi: 10.1007/s00204-011-0774-2.

- Guo W, Greaser ML. 2017. Muscle Structure, Proteins, and Meat Quality. En: New Aspects of Meat Quality. En: Purslow PP. (Ed.). New Aspects of Meat Quality: From Genes to Ethics. Duxford: Woodhead Publishing. (Series in Food Science, Technology and Nutrition). 13-31.
- Guyon C, Meynier A, de Lamballerie M. 2016. Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on high-pressure treatments. Trends in Food Science & Technology, 50: 131-143. doi: 10.1016/j.tifs.2016.01.026.
- Halliwell B. 2006. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?. Journal of Neurochemistry, 97 (6): 1634-1658. doi: 10.1111/j.1471-4159.2006.03907.x.
- Halliwell B. 1994. Free radicals and antioxidants: a personal view. Nutrition reviews, 52 (8): 253-265. doi: 10.1111/j.1753-4887.1994.tb01453.x.
- Halliwell B. 1990. How to characterize a biological antioxidant. Free radical research communications, 9 (1): 1-32. doi.org/10.3109/10715769009148569.
- Harborne JB. 1984. Phenolic compounds. En: Harborne JB. (Ed.). Phytochemical methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. Dordrecht: Springer. 37-99.
- Henrion M, Servaes M, Thielecke F, Fogliano V. 2018. Application of the QUENCHER methodology to the food industry. Food chemistry, 240 (1): 951-958. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.07.119.
- Hofmann K, Hamm R. 1978. Sulfhydryl and disulfide groups in meats. Advances in Food Research, 24: 1-111. doi: 10.1016/S0065-2628(08)60156-1.

Huang D, Ou B, Prior RL. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (6): 1841-1856. doi: 10.1021/jf030723c.

INAC (Instituto Nacional de Carnes). 2020. Manual de Carnes Bovina y Ovina [En línea]. Consultado 5 mayo 2020. Disponible en: https://www.inac.uy/innovaportal/file/2043/1/manual_corregido_2a_edicion.pdf

INAC (Instituto Nacional de Carnes). 2018. Anuario estadístico 2018 [En línea]. Consultado 5 mayo 2020. Disponible en: https://www.inac.uy/innovaportal/file/17271/1/anuario-estadistico-2018_web.pdf

INAC (Instituto Nacional de Carnes). 2017. Anuario Estadístico 2017 [En línea]. Consultado 22 mayo 2020. Disponible en: <http://www.inac.uy/innovaportal/file/15920/1/anuario-estadistico-2017.pdf>

INAC (Instituto Nacional de Carnes), Dirección de Control y Desarrollo de Calidad. 2012. Algunas definiciones prácticas: Glosario recopilado y redactado por Ricardo Robaina. Presentado en el 2º Congreso del Campo al Plato (2002) y con actualizaciones en el 2009 y 2012 [En línea]. Consultado 25 mayo 2020. Disponible en: https://www.inac.uy/innovaportal/file/6351/1/algunas_definiciones_practicas.pdf

Insani EM, Eyherabide A, Grigioni G, Sancho AM, Pensel NA, Descalzo AM. 2008. Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated retail display of beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79 (3): 444-452. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.10.017.

- Irshad M, Chaudhuri PS. 2002. Oxidant-antioxidant system: role and significance in human body. *Indian Journal of Experimental Biology*, 40 (11): 1233-1239.
- Jeong JY, Hur SJ, Yang HS, Moon SH, Hwang YH, Park GB, Joo ST. 2009. Discoloration characteristics of 3 major muscles from cattle during cold storage. *Journal of Food Science*, 74 (1): C1-C5. doi: 10.1111/j.1750-3841.2008.00983.x.
- Jongberg S, Tørngren MA, Gunvig A, Skibsted LH, Lund MN. 2013. Effect of green tea or rosemary extract on protein oxidation in Bologna type sausages prepared from oxidatively stressed pork. *Meat science*, 93(3): 538-546. doi: 10.1016/j.meatsci.2012.11.005.
- Kedare SB, Singh RP. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48 (4): 412-422. doi: 10.1007/s13197-011-0251-1.
- Khan MI, Jung S, Nam KC, Jo C. 2016. Postmortem aging of beef with a special reference to the dry aging. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36 (2): 159-169. doi: 10.5851/kosfa.2016.36.2.159.
- Khoddami A, Wilkes MA, Roberts TH. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18 (2): 2328-2375. doi: 10.3390/molecules18022328.
- Klont RE, Brocks L, Eikelenboom G. 1998. Muscle fibre type and meat quality. *Meat Science*, 49 (1): S219-S229. doi: 10.1016/S0309-1740(98)90050-X.

- Koohmaraie M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat science*, 43 (1): 193-201. doi: 10.1016/0309-1740(96)00065-4.
- Koohmaraie M, Seideman SC, Schollmeyer JE, Dutson TR, Babiker AS. 1988. Factors associated with the tenderness of three bovine muscles. *Journal of Food Science*, 53 (2): 407-410. doi: 10.1111/j.1365-2621.1988.tb07717.x.
- Kumar Y, Yadav DN, Ahmad T, Narsaiah K. 2015. Recent trends in the use of natural antioxidants for meat and meat products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14 (6): 796-812. doi: 10.1111/1541-4337.12156.
- Kurutas EB. 2016. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutrition Journal*, 15 (1): 71. doi.org/10.1186/s12937-016-0186-5.
- Lane GA, Fraser K. 1999. A comparison of phenol and indole flavour compounds in fat, and of phenols in urine of cattle fed pasture or grain. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 42 (3): 289-296. doi.org/10.1080/00288233.1999.9513378.
- Lattanzio V, Kroon PA, Quideau S, Treutter D. 2008. Plant phenolics—secondary metabolites with diverse functions. En: Daayf F, Lattanzio V. (Eds.) *Recent advances in polyphenol research*, volume 1. Oxford: Blackwell Publishing. 1-35.
- Laville E, Sayd T, Morzel M, Blinet S, Chambon C, Lepetit J, Renand G, Hocquette JF. 2009. Proteome changes during meat aging in tough and tender beef suggest the importance of apoptosis and protein solubility for beef aging and

- tenderization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (22): 10755-10764. doi: 10.1021/jf901949r.
- Lawrie RA, Ledward DA. 2006. The conversion of muscle to meat. En: *Lawrie's meat science*, seventh edition. Cambridge: Woodhead Publishing Limited. 128-155.
- Lefaucheur L. 2010. A second look into fibre typing-Relation to meat quality. *Meat Science*, 84 (2): 257-270. doi: 10.1016/j.meatsci.2009.05.004.
- Liu Q, Lanari MC, Schaefer DM. 1995. A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *Journal of Animal Science*, 73 (10): 3131-3140. doi: 10.2527/1995.73103131x.
- Lloyd PJ, van Wyk J. 2012. Introduction to extraction in food processing. En: *Lebovka N, Vorobiev E, Chemat F. (Eds.). Enhancing Extraction Processes in the Food Industry*. Boca Ratón: CRC Press (Contemporary Food Engineering Series). 1-24.
- Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4 (8): 118-126. doi: 10.4103/0973-7847.70902.
- Lonergan EH, Zhang W, Lonergan SM. 2010. Biochemistry of postmortem muscle—Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Science*, 86 (1): 184-195. doi: 10.1016/j.meatsci.2010.05.004.
- Luciano G, Moloney AP, Priolo A, Röhrle FT, Vasta V, Biondi L, López-Andrés P, Grasso S, Monahan FJ. 2011. Vitamin E and polyunsaturated fatty acids in bovine muscle and the oxidative stability of beef from cattle receiving grass or

- concentrate-based rations. *Journal of Animal Science*, 89 (11): 3759-3768. doi: 10.2527/jas.2010-3795.
- Lushchak VI. 2012. Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. *Journal of Amino Acids*, 2012: 1-26. doi: 10.1155/2012/736837.
- MacDonald-Wicks LK, Wood LG, Garg ML. 2006. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86 (13): 2046-2056. doi.org/10.1002/jsfa.2603.
- Mahecha L, Nuernberg K, Nuernberg G, Martin J, Hubbermann EM, Knoeller S, Claeys E, De Smet S, Dannenberger D. 2011. Antioxidant enzyme activities and antioxidant capacity in longissimus muscle from bulls fed diets rich in polyunsaturated fatty acids. *Food Chemistry*, 127 (2): 379-386. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.12.117.
- Martínez J, Nieto G, Ros G. 2014. Total antioxidant capacity of meat and meat products consumed in a reference 'Spanish standard diet'. *International Journal of Food Science & Technology*, 49 (12): 2610-2618. doi: 10.1111/ijfs.12577.
- Matarneh SK, England EM, Scheffler TL, Gerrard DE. 2017. The conversion of muscle to meat. En: Toldrá F. (Ed.). *Lawrie's Meat Science*. Duxford: Woodhead Publishing. 159-185.
- Melody JL, Lonergan SM, Rowe LJ, Huiatt TW, Mayes MS, Lonergan HE. 2004. Early postmortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. *Journal of Animal Science*, 82 (4): 1195-1205. doi: 10.2527/2004.8241195x.

- 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 (2): 467-473. doi: 10.1016/S0309-1740(03)00135-9.
- Miller NJ, Rice-Evans CA. 1997. Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS•+ radical cation assay. *Free Radical Research*, 26 (3): 195-199. doi.org/10.3109/10715769709097799.
- Min B, Ahn DU. 2005. Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products- A review. *Food Science and Biotechnology*, 14 (1): 152-163.
- Montossi F, Cazzuli F. 2016. Beef Marketing and Quality in Uruguay. En: *Simpósio de Produção de Gado de Corte* (10, 2016, Universidade Federal de Viçosa). *Simcorte*. Viçosa, Brasil. Editora UFV. 41-66.
- Morrissey PA, Sheehy PJA, Galvin K, Kerry JP, Buckley DJ. 1998. Lipid stability in meat and meat products. *Meat science*, 49 (1): S73-S86. doi: 10.1016/S0309-1740(98)90039-0.
- Nassu RT, Dugan MER, Juarez M, Basarab JA, Baron VS, Aalhus JL. 2011. Effect of α -tocopherol tissue levels on beef quality. *Animal*, 5 (12): 2010-2018. doi: 10.1017/S1751731111001182.
- OECD-FAO (The Organization for Economic Co-operation and Development-Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2019. *OECD-FAO Agricultural Outlook 2019-2028, Special focus: Latin America* [En línea]. Consultado 22 mayo 2020. Disponible en: https://www.oecd-ilibrary.org/agriculture-and-food/oecd-fao-agricultural-outlook-2019-2028_agr_outlook-2019-en

- Oliver MA, Nute GR, Font i Furnols M, San Julián R, Campo MM, Sañudo C, Cañeque V, Guerrero L, Álvarez I, Díaz MT, Branscheid W, Wicke M, Montossi F. 2006. Eating quality of beef, from different production systems, assessed by German, Spanish and British consumers. *Meat Science*, 74 (3): 435-442. doi: 10.1016/j.meatsci.2006.03.010.
- Oroian M, Escriche I. 2015. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, 74: 10-36. doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.018.
- 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 (1): 44-58. doi: 10.1016/j.meatsci.2006.05.010.
- Ouali A. 1990. Meat tenderization: Possible causes and mechanisms. A review. *Journal of Muscle Foods*, 1 (2): 129-165. doi: 10.1111/j.1745-4573.1990.tb00360.x.
- Pacifico S, Scognamiglio M, D'Abrosca B, Monaco P, Fiorentino A. 2012. Tocopherols, Tocotrienols and Their Bioactive Analogs. En: Nollet LML, Toldrá F. (Eds.). *Handbook of Analysis of Active Compounds in Functional Foods*. Boca Raton: CRC Press. 165- 194.
- Pereira PMDCC, Vicente AFDRB. 2013. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat Science*, 93 (3): 586-592. doi: 10.1016/j.meatsci.2012.09.018.
- Picard M, Hepple RT, Burrelle Y. 2012. Mitochondrial functional specialization in glycolytic and oxidative muscle fibers: tailoring the organelle for optimal

function. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 302 (4): C629-C641. doi: 10.1152/ajpcell.00368.2011.

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. doi: 10.1016/j.meatsci.2015.07.026.

Prior RL, Wu X, Schaich K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (10): 4290-4302. doi.org/10.1021/jf0502698.

Purslow PP. 2017. Introduction. En: Purslow PP. (Ed.). *New Aspects of Meat Quality: From Genes to Ethics*. Duxford: Woodhead Publishing. (Series in Food Science, Technology and Nutrition). 1-9.

Raes K, De Smet S, Demeyer D. 2004. Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Animal feed science and technology*, 113 (1-4): 199-221. doi: :10.1016/j.anifeedsci.2003.09.001.

Rahman I, Kode A, Biswas SK. 2006. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. *Nature Protocols*, 1 (6): 3159-3165. doi: 10.1038/nprot.2006.378.

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (9-10): 1231-1237. doi: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3.

- Realini CE, Duckett SK, Brito G, Dalla Rizza M, De Matos 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 (3): 567-577. doi: 10.1016/S0309-1740(03)00160-8.
- Röhrle FT, Moloney AP, Black A, Osorio MT, Sweeney T, Schmidt O, Monahan FJ. 2011. α -Tocopherol stereoisomers in beef as an indicator of vitamin E supplementation in cattle diets. *Food Chemistry*, 124 (3): 935-940. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.07.023.
- Roginsky V, Lissi EA. 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92 (2): 235-254. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.08.004.
- Rossi R, Milzani A, Dalle-Donne I, Giustarini D, Lusini L, Colombo R, Di Simplicio P. 2002. Blood glutathione disulfide: in vivo factor or in vitro artifact?. *Clinical Chemistry*, 48 (5): 742-753. doi: 10.1093/clinchem/48.5.742.
- Rowe LJ, Maddock KR, Lonergan SM, Lonergan HE. 2004. Oxidative environments decrease tenderization of beef steaks through inactivation of μ -calpain. *Journal of Animal Science*, 82 (11): 3254-3266. doi: 10.2527/2004.82113254x.
- Royo Pallarés O, Berretta EJ, Maraschin GE. 2005. The South American Campos ecosystem. En: Suttie JM, Reynolds SG, Batello C. (Eds.). *Grasslands of the world*. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations. (Plant Production and Protection Series; No 34). 171-120.
- Saha S, Walia S, Kundu A, Pathak N. 2013. Effect of mobile phase on resolution of the isomers and homologues of tocopherols on a triacontyl stationary phase. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405 (28): 9285-9295. doi: 10.1007/s00216-013-7336-9.

Sattler SE, Cahoon EB, Coughlan SJ, DellaPenna D. 2003. Characterization of tocopherol cyclases from higher plants and cyanobacteria. Evolutionary implications for tocopherol synthesis and function. *Plant Physiology*, 132 (4): 2184-2195. doi: 10.1104/pp.103.024257.

SCAAU (Sociedad de Criadores de Aberdeen Angus del Uruguay). 2020. Programa [En línea]. Consultado 22 mayo 2020. Disponible en: <https://angusuruguay.com/programa>

SCAAU (Sociedad de Criadores Aberdeen Angus del Uruguay). 2019. Anuario 2019 Edición Especial Secretariado Mundial Angus [En línea]. Consultado 22 mayo 2020. Disponible en: <https://angusuruguay.com/wp-content/uploads/2019/09/anuario2019.pdf>

Scollan N, Hocquette JF, Nuernberg K, Dannenberger D, Richardson I, Moloney A. 2006. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat science*, 74 (1): 17-33. doi: 10.1016/j.meatsci.2006.05.002.

Sentandreu MA, Coulis G, Ouali A. 2002. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends in Food Science & Technology*, 13 (12): 400-421. doi: 10.1016/S0924-2244(02)00188-7.

Serpen A, Gökmen V, Fogliano V. 2012a. Total antioxidant capacities of raw and cooked meats. *Meat Science*, 90 (1): 60-65. doi: 10.1016/j.meatsci.2011.05.027.

Serpen A, Gökmen V, Fogliano V. 2012b. Solvent effects on total antioxidant capacity of foods measured by direct QUENCHER procedure. *Journal of Food Composition and Analysis*, 26 (1-2): 52-57. doi: 10.1016/j.jfca.2012.02.005.

- Serpen A, Capuano E, Fogliano V, Gökmen V. 2007. A new procedure to measure the antioxidant activity of insoluble food components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (19): 7676-7681. doi: 10.1021/jf071291z.
- Serrano J, Goñi I, Saura-Calixto F. 2007. Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. *Food Research International*, 40 (1): 15-21. doi : 10.1016/j.foodres.2006.07.010.
- Shacter E. 2000. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug metabolism reviews*, 32 (3-4): 307-326. doi: 10.1081/DMR-100102336.
- Shahidi F, Ambigaipalan P. 2015. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. *Journal of Functional Foods*, 18 (Part B): 820-897. doi: 10.1016/j.jff.2015.06.018.
- Shahidi F, Zhong Y. 2010a. Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society Reviews*, 39 (11): 4067-4079. doi: 10.1039/B922183M.
- Shahidi F, Zhong Y. 2010b. Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112 (9): 930-940. doi: 10.1002/ejlt.201000044.
- Sies H. 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology: Translation and Integration*, 82 (2): 291-295. doi: 10.1113/expphysiol.1997.sp004024.

- Sies H, Stahl W. 1995. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 62 (6): 1315S-1321S. doi: 10.1093/ajcn/62.6.1315S.
- Simeone A, Beretta V, Franco J, Elizalde JC. 2008. El engorde a corral (feedlot) en los sistemas pastoriles. En: *Jornada Anual de la Unidad de Producción Intensiva de Carne (10ª, 2008, Facultad de Agronomía EEMAC). Una década de investigación para una ganadería más eficiente. Unidad de Producción Intensiva de Carne (UPIC).* 42-47.
- Singh S, Singh RP. 2008. *In vitro* methods of assay of antioxidants: an overview. *Food Reviews International*, 24 (4): 392-415. doi: 10.1080/87559120802304269.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. 1999. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152-178. doi: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1.
- Smith RD, Nicholson KL, Nicholson JDW, Harris KB, Miller RK, Griffin DB, Savell JW. 2008. Dry versus wet aging of beef: Retail cutting yields and consumer palatability evaluations of steaks from US Choice and US Select short loins. *Meat Science*, 79 (4): 631-639. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.10.028.
- Srdic-Rajic T, Konic Ristic A. 2016. Antioxidants: Role on Health and Prevention. En: Caballero B, Finglas P, Toldrá F. (Eds.). *Encyclopedia of Food and Health*. Oxford: Academic Press. 227-233.
- Sun Y, Yang C, Tsao R. 2018. Nomenclature and general classification of antioxidant activity/capacity assays. En: Apark R, Capanoglu E, Shahidi F. (Eds.). *Measurement of the Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends*

and Applications. Oxford: John Wiley & Sons. (Functional Food Science and Technology). 1-15.

Terevinto A, Cabrera MC, Saadoun A. 2019. Oxidative stability, fatty acid composition and health lipid indices of *Longissimus dorsi* muscle from Aberdeen Angus steers produced in different feeding systems. *Ciência Rural*, 49 (12). doi.org/10.1590/0103-8478cr20190537.

Terevinto A, Cabrera MC, Saadoun A. 2015. 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*, 3 (9): 581-586. doi: 10.12691/jfnr-3-9-4.

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 Magíster en Ciencias Agrarias. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Disponible en: <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/handle/20.500.12008/1815>

Unión Europea. Reglamento de ejecución (UE) No 481/2012 de la comisión. Diario Oficial de la Unión Europea, 7 de junio de 2012 [En línea]. Consultado 22 mayo 2020. Disponible en: <https://www.inac.uy/innovaportal/file/8631/1/reg. ue 593-2013.pdf>

Uruguay XXI, Promoción de Inversiones y Exportaciones. 2019. Informe Anual de Comercio Exterior [En línea]. Consultado 5 mayo 2020. Disponible en: <https://www.uruguayxxi.gub.uy/uploads/informacion/c67ca170296d8f8f6801add452e31e936d569ff3.pdf>

Uruguay XXI, Promoción de Inversiones y Exportaciones. 2018. Informe Anual de Comercio Exterior [En línea]. Consultado 5 mayo 2020. Disponible en: <https://www.uruguayxxi.gub.uy/es/centro-informacion/articulo/informe-de-comercio-exterior-de-uruguay-2018/>

USDA-FAS (United States Department of Agriculture- Foreign Agricultural Service). 2019. Livestock and Poultry: World Markets and Trade, October 2019 [En línea]. Consultado 22 mayo 2020. Disponible en: https://downloads.usda.library.cornell.edu/usda-esmis/files/73666448x/g445ct12h/ff365k146/Livestock_poultry.pdf

USDA (United States Department of Agriculture), Foreign Agricultural Service. 2018. Livestock and Poultry: World Markets and Trade [En línea]. Consultado 21 mayo 2020. Disponible en: <https://downloads.usda.library.cornell.edu/usda-esmis/files/73666448x/jm214p55j/8049g558s/livestock-poultry-ma-04-10-2018.pdf>

Venskutonis PR. 2014. Natural Antioxidants in Food Systems. En: Bartosz G. (Ed.). Food Oxidants and Antioxidants: Chemical, Biological, and Functional Properties. Boca Ratón: CRC Press. 235-302.

Williams P. 2007. Nutritional composition of red meat. *Nutrition & Dietetics*, 64: S113-S119. doi: 10.1111/j.1747-0080.2007.00197.x.

Winther JR, Thorpe C. 2014. Quantification of thiols and disulfides. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1840 (2): 838-846. doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.03.031.

Yang A, Brewster MJ, Lanari MC, Tume RK. 2002. Effect of vitamin E supplementation on α -tocopherol and β -carotene concentrations in tissues from

pasture-and grain-fed cattle. *Meat Science*, 60 (1): 35-40. doi: 10.1016/S0309-1740(01)00102-4.

Zhang W, Xiao S, Ahn DU. 2013. Protein oxidation: basic principles and implications for meat quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53 (11): 1191-1201. doi: 10.1080/10408398.2011.577540.

6. ANEXOS

6.1. ANEXO 1: LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

6.1.1. Cuadros

	página
Cuadro 1. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo, tiempo de maduración y tiempo de incubación del ensayo sobre la capacidad antioxidante determinada mediante el ensayo de decoloración del radical DPPH• (DPPH)	49
Cuadro 2. Interacciones de los efectos principales de la capacidad antioxidante determinada mediante el ensayo de decoloración del radical DPPH• (DPPH).....	49
Cuadro 3. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo, tiempo de maduración y tiempo de incubación del ensayo sobre la capacidad antioxidante determinada mediante el ensayo de decoloración del catión radical ABTS•+ (ABTS)	53
Cuadro 4. Interacciones de los efectos principales de la capacidad antioxidante determinada mediante el ensayo de decoloración del catión radical ABTS•+ (ABTS)	53
Cuadro 5. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo, tiempo de maduración y tiempo de incubación del ensayo sobre la capacidad antioxidante determinada mediante el ensayo poder antioxidante de reducción férrica (FRAP).....	57
Cuadro 6. Interacciones de los efectos principales de la capacidad antioxidante determinada mediante el ensayo poder antioxidante de reducción férrica (FRAP)...	57
Cuadro 7. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo y tiempo de maduración sobre la capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del radical DPPH• (QDPPH) ...	62
Cuadro 8. Interacciones de los efectos principales de la capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del radical DPPH• (QDPPH)	62
Cuadro 9. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo y tiempo de maduración sobre la capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del catión radical ABTS•+ (QABTS).....	66

Cuadro 10. Interacciones de los efectos principales de la capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del catión radical ABTS•+ (QABTS).....	66
Cuadro 11. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo y tiempo de maduración sobre la capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo poder antioxidante de reducción férrica (QFRAP)	67
Cuadro 12. Interacciones de los efectos principales de la capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo poder antioxidante de reducción férrica (QFRAP)	67
Cuadro 13. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo y tiempo de maduración junto con sus respectivas interacciones sobre el contenido de grupos sulfhidrilos totales (SH) en carne de novillos Aberdeen Angus	70
Cuadro 14. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo y tiempo de maduración junto con sus respectivas interacciones sobre el contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) en carne de novillos Aberdeen Angus.....	73
Cuadro 15. Efecto del sistema de producción, tipo de músculo y tiempo de maduración junto con sus respectivas interacciones sobre el contenido de glutatión total (GSH + GSSG) en carne de novillos Aberdeen Angus	75
Cuadro 16. Resultados preliminares del contenido de α -tocoferol en el músculo <i>Psoas major</i> de novillos Aberdeen Angus provenientes de los sistemas de producción pasturas y feedlot.....	76
Cuadro 17. Resumen de los efectos principales sistema de producción, tipo de músculo y tiempo de maduración ($P < 0,05$) en todas las determinaciones realizadas	78
Cuadro 18. Resumen de los efectos principales de todas las determinaciones realizadas para el análisis individual de cada sistema de producción, cada músculo y cada tiempo de maduración ($P < 0,05$)	80

6.1.2. Figuras

	página
Figura 1. Ensayo DPPH	17
Figura 2. Ensayo ABTS	18
Figura 3. Ensayo FRAP	19
Figura 4. Esquema de las posibles localizaciones y formas de encontrar los compuestos antioxidantes en una matriz alimentaria.....	20
Figura 5. Estructuras moleculares del glutatión.....	23
Figura 6. Estructura molecular del α -tocoferol.....	24
Figura 7. Cortes bovinos utilizados junto con su correspondiente ubicación anatómica	31
Figura 8. Ensayo de reciclaje enzimático del glutatión	40
Figura 9. Capacidad antioxidante en el tiempo determinada mediante el ensayo de decoloración del radical DPPH• (DPPH) a partir de extractos	45
Figura 10. Capacidad antioxidante en el tiempo determinada mediante el ensayo de decoloración del radical ABTS• ⁺ (ABTS) a partir de extractos.....	50
Figura 11. Capacidad antioxidante en el tiempo determinada mediante el ensayo de poder antioxidante de reducción férrica (FRAP) a partir de extractos.....	54
Figura 12. Capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del radical DPPH• (QDPPH) ...	59
Figura 13. Capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo de decoloración del catión radical ABTS• ⁺ (QABTS).....	63
Figura 14. Capacidad antioxidante determinada mediante el procedimiento QUENCHER utilizando el ensayo poder antioxidante de reducción férrica (QFRAP)	65

Figura 15. Contenido de grupos sulfhidrilos totales (SH)	68
Figura 16. Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT).....	72
Figura 17. Contenido de glutatión total (GSH + GSSG)	74
Figura 18. Resultados preliminares para el contenido de α -tocoferol en el sistemas pasturas.....	77

6.2. ANEXO 2: ABREVIATURAS

ABTS - 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)
ANOVA - análisis de la varianza
ATP - adenosín trifosfato
BSA - seroalbúmina bovina
CA - capacidad antioxidante
CFT - compuestos fenólicos totales
DPPH - 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl
DTNB - 5,5-ditio-bis- (ácido 2-nitrobenzoico)
Ensayo DPPH - ensayo de decoloración del radical DPPH•
Ensayo ABTS - ensayo de decoloración del radical ABTS•+
Ensayo FRAP - ensayo poder antioxidante reductor del hierro
FL - feedlot
GLM - modelo lineal generalizado
GR - glutatión reductasa
GSH - glutatión reducido
GSSG - glutatión oxidado
HAT - transferencia de átomo de hidrógeno (del inglés: hydrogen atom transfer)
HPLC - cromatografía líquida de alta eficacia
LD - *Longissimus dorsi*
MS - materia seca
NADPH - dihidronicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NAFTA - tratado de libre comercio de América del Norte
P - pasturas
P - probabilidad
PM - *Psoas major*
PBS - buffer fosfato salino
QUENCHER - QUick, Easy, New, CHEap and Reproducible
RNS - especies reactivas del nitrógeno
ROS - especies reactivas del oxígeno
SEM - error estándar de la media (del inglés: Standard Error of Mean)
SET - transferencia de un electrón (del inglés: Single Electron Transfer)
SH - grupo sulfhidrilo o tiol
SLS - laurilsulfato sódico
SM - media estándar (del inglés: Standard Mean)
TEAC - capacidad antioxidante equivalente a Trolox (del inglés: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)
TCA - ácido tricloroacético
TNB - ácido 5-tio-2- nitrobenzoico
TPTZ - 2,4,6-tripiridil-s-triazina