



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Trabajo de Tesis Doctoral

**“Estrategias para mejorar el perfil de ácidos grasos en
carne vacuna y su impacto sobre la estabilidad
oxidativa”**

Laura Beatriz Pouzo

Director:

Dr. Enrique Pavan

Codirectora:

Dra. Noemi Elisabet Zaritzky

2015

El presente trabajo de Tesis para optar al título de Doctora en Ciencias Exactas fue realizado en el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, organismo descentralizado dependiente del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, y en el CIDCA (Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos), Conicet-Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP, bajo la dirección del Dr. Enrique Pavan y la co-dirección de la Dra. Noemi Zaritzky.



UNLP



CONICET



INTA



CIDCA

A Pablo; a Mamá, Luis, Hugo y Alicia.

Agradecimientos

Deseo expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas e instituciones que con su ayuda han colaborado y participado para que pueda realizar esta Tesis Doctoral.

En especial, mi mayor agradecimiento es para mis directores de Tesis, el Dr. Enrique Pavan y la Dra. Noemi Zaritzky, quienes me orientaron, apoyaron, motivaron y me dieron ánimo tanto a nivel académico como personal. Les agradezco de corazón la confianza que depositaron en mí para realizar el trabajo, el tiempo que destinaron siempre para responder a mis consultas y dudas, la paciencia, los buenos consejos y el cariño que día a día me demuestran.

A las siguientes instituciones y entidades que en distintas formas posibilitaron la realización del presente trabajo de Tesis, al CONICET, a la Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce, al Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA) del INTA Castelar, a la Universidad Nacional de La Plata (UNLP), al Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA, CONICET- UNLP).

A la Dra. Adriana Descalzo por su inmensa guía y colaboración científica en gran parte de esta Tesis; especialmente quiero expresarle mi más profundo agradecimiento y todo mi aprecio, por haberme dado tanto afecto cuando lo necesité y por ayudarme a no flaquear en los momentos más difíciles, gracias Adri!!!!

A la Lic. Luciana Rossetti, al Ing. Sergio Rizzo, a la Ing. Gabriela Diaz, a la Dra. Carolina Pérez y a todo el personal del ITA por enseñarme a realizar las técnicas, utilización de equipamiento, por su innumerable colaboración en esta Tesis, por todo su cariño y apoyo en todo momento, por compartir asados de fin de año, festejos, congresos y hacerme sentir en todo momento una más del grupo, mil gracias!!

A todo el personal técnico del INTA Balcarce por su ayuda en el campo, en el frigorífico, etc.; a Mirtu por ayudarme a procesar las muestras cada vez que lo necesitaba. A mis compañeras y amigas Mai, Yani, Mini, Albita, Lau, Sonyi, y Jose por compartir tantos momentos conmigo, aconsejarme y apoyarme todo el tiempo y por todos los lindos momentos que pasamos juntas, las quiero!!

A mis amigas del alma e incondicionales siempre Vivi, Yani, Gui, An, Jota, Flor, Pame, Lu, Clo, Marian, Majo. A Lulita, Chechu, Caro, amigas del alma, gracias por estar siempre.

A mis hermanos Luis, Hugo y Ali por apoyarme en todo momento, gracias por bancarme tanto en Baires!

Y especialmente agradezco y dedico esta esta Tesis con todo mi amor a mi mamá y a Pablo, que siempre me guían con un cariño incondicional y me dan fuerzas para seguir adelante. Gracias ma, me enseñaste a descubrir mi pasión por la investigación. Gracias por todo el apoyo y cariño que me das. Gracias Pablo mi amor, por apoyarme con todo el amor y paciencia, por ayudarme a no bajar los brazos, por acompañarme a medir hasta en Navidad!!.

A todos, muchas gracias.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|-----|
| DEDICATORIA | iii |
| AGRADECIMIENTOS | iv |
| INDICE GENERAL | vi |
| RESUMEN | 1 |
| <u>CAPITULO I</u> | |
| INTRODUCCIÓN GENERAL | 3 |
| I.1 La ganadería, comercialización y consumo de carne | 4 |
| I.2 Composición e importancia nutritiva de la carne | 8 |
| I.3 Componentes funcionales de los alimentos | 9 |
| I.3.1 Los alimentos funcionales | 9 |
| I.3.2 Los lípidos alimentarios | 11 |
| I.3.3 Los lípidos dietarios y la salud | 17 |
| I.3.4 Consumo de AGPI _n -3 y AGPI _n -6 en la dieta | 19 |
| I.3.5 Ácido linoleico conjugado (CLA) | 22 |
| I.3.6 Fracción lipídica de la carne vacuna | 24 |
| I.4 Modificación del perfil de ácidos grasos de la carne | 25 |
| I.4.1 Proceso digestivo de rumiantes | 25 |
| I.4.2 Deposición de grasa intramuscular | 30 |
| I.4.3 Forrajes y composición de ácidos grasos de la carne | 32 |
| I.4.4 Suplementación con granos en la dieta | 37 |
| I.4.5 Suplementación con fuentes ricas en AGPI _n -3 | 38 |
| I.5 Deterioro oxidativo de la carne | 40 |
| I.5.1 Oxidación lipídica | 41 |
| Mecanismos de oxidación de los lípidos | 42 |
| I.5.2 Oxidación de Pigmentos | 45 |
| I.5.3 Oxidación de proteínas | 48 |
| I.5.4 Antioxidantes | 50 |
| Antioxidantes naturales en alimentos | 51 |
| Mecanismos antioxidantes en alimentos | 54 |
| I.5 Modificación del perfil de antioxidantes de la carne | 55 |
| I.6 Almacenamiento | 60 |

CAPITULO II

| | |
|--------------------------------------|----|
| OBJETIVOS..... | 63 |
| Objetivo general y específicos | 64 |

CAPITULO III

| | |
|--|----|
| CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE CATEGORÍAS VACUNAS DE FAENA CRIADAS EN SISTEMA PASTORIL: analisis de los lípidos totales y neutros de dos músculos de elevado valor comercial | 65 |
| III.1 Incremento del peso de animales en pastoreo | 66 |
| III.2 Materiales y métodos | 68 |
| III.2.1 Animales y tratamientos | 68 |
| III.2.2 Recolección de muestras | 69 |
| III.2.3 Determinación del contenido de humedad | 70 |
| III.2.4 Extracción de lípidos intramusculares | 70 |
| III.2.5 Separación de la fracción lipídica neutra | 71 |
| III.2.6 Determinación del perfil de ácidos grasos en carne y pasturas | 72 |
| III.2.7 Análisis estadístico de los datos | 74 |
| III.3 Resultados y discusión..... | 75 |
| III.3.1 Contenido de lípidos y perfil de ácidos grasos en los lípidos totales y neutros del músculo <i>Longissimus Dorsi</i> | 75 |
| III.3.2 Contenido de lípidos y perfil de ácidos grasos en los lípidos totales y neutros del músculo <i>Gluteus Medius</i> | 86 |
| III.4 Conclusiones..... | 92 |

CAPITULO IV

| | |
|---|-----|
| PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE NOVILLOS EN PASTOREO SUPLEMENTADOS CON GRANO DE MAÍZ Y CANTIDADES CRECIENTES DE SEMILLA DE LINO EN ANIMALES DE DOS PESOS | 93 |
| IV.1 Suplementación de animales en pastoreo | 94 |
| IV.2 Materiales y métodos | 95 |
| IV.2.1 Animales y Tratamientos | 95 |
| IV.2.2 Determinación del consumo de ácidos grasos | 96 |
| IV.2.3 Recolección de muestras | 96 |
| IV.2.4 Determinación del contenido de humedad y lípidos en carne y componentes dietarios | 98 |
| IV.2.5 Determinación del perfil de ácidos grasos en carne y componentes dietarios | 98 |
| IV.2.6 Análisis estadístico de los datos..... | 98 |
| IV.3 Resultados y discusión..... | 99 |
| IV.3.1 Consumo de ácidos grasos | 99 |
| IV.3.2 Perfil de ácidos grasos del músculo <i>longissimus</i> | 102 |
| IV.4 Conclusiones..... | 108 |

CAPITULO V**ESTADO ANTIOXIDANTE Y ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE DE NOVILLOS EN PASTOREO SUPLEMENTADOS CON GRANO DE MAÍZ Y CANTIDADES**

| | |
|---|-----|
| CRECIENTES DE SEMILLA DE LINO: EFECTO DEL ALMACENAMIENTO | 109 |
| V.1. Estabilidad oxidativa de la carne..... | 110 |
| V.2 Materiales y métodos | 112 |
| V.2.1 Animales y tratamientos | 112 |
| V.2.2 Determinación del consumo de vitaminas antioxidantes..... | 112 |
| V.2.3 Recolección del plasma sanguíneo | 113 |
| V.2.4 Procesamiento de las muestras cárnicas y tratamientos <i>post-mortem</i> : maduración al vacío y exposición en bandeja | 113 |
| V.2.5 Determinación del contenido de vitaminas antioxidantes en componentes dietarios, plasma y carne..... | 114 |
| <i>Extracción de vitaminas</i> | 114 |
| <i>Detección y cuantificación de vitaminas por HPLC</i> | 116 |
| V.2.6 Capacidad antioxidante: Ensayo del poder antioxidante/ reducción férrica (FRAP) | 118 |
| V.2.7 Estabilidad oxidativa de lípidos: Ensayo TBARS | 119 |
| V.2.8 Color | 121 |
| V.2.9 Determinación de compuestos fluorescentes: espectroscopía de fluorescencia | 122 |
| Mediciones de fluorescencia | 122 |
| V.2.10 Ensayo de aceptabilidad por consumidores | 123 |
| V.2.11 Análisis estadístico de los datos..... | 127 |
| V.3 Resultados y discusión..... | 127 |
| V.3.1 Consumo de vitaminas antioxidantes y estado antioxidante en plasma..... | 127 |
| V.3.2 Vitaminas antioxidantes en carne..... | 130 |
| V.3.3 Poder reductor férrico (FRAP) o capacidad antioxidante total de la carne | 136 |
| V.3.4 Estabilidad oxidativa (TBARS) de los lípidos de la carne..... | 138 |
| V.3.5 Evolución del color rojo (parámetro a^*) de la carne | 144 |
| V.3.6 Detección de compuestos fluorescentes | 148 |
| V.3.7 Ensayo de aceptabilidad por consumidores | 160 |
| V.4 Conclusiones..... | 161 |

CAPITULO VI

| | |
|------------------------------|-----|
| CONCLUSIONES GENERALES | 163 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 167 |

RESUMEN

El presente trabajo de tesis tuvo como objetivo principal evaluar estrategias productivas del ganado vacuno que permitan mejorar el perfil de ácidos grasos de la carne. Asimismo se evaluó el efecto que esta mejora genera sobre la estabilidad oxidativa de la carne en almacenamiento y el efecto de protección de los antioxidantes liposolubles naturalmente incorporados al tejido. La carne proveniente de animales en pastoreo presenta un mejor perfil de ácidos grasos en lo que respecta a la salud humana respecto a la proveniente de animales alimentados con altos niveles de concentrados. Dada la elevada demanda de carne tanto a nivel nacional como internacional, Argentina está utilizando diferentes estrategias productivas que le permiten incrementar los índices productivos, entre las más importantes se encuentran el incremento en el peso de los animales y la suplementación de animales en pastoreo con granos en la dieta. Sin embargo estas estrategias podrían impactar directamente en el perfil de ácidos grasos de la carne, un importante aspecto de calidad de creciente interés entre los consumidores de hoy en día. Es necesario encontrar estrategias que permitan cubrir las demandas de carne, manteniendo o mejorando la calidad por la cual Argentina ha logrado posicionarse en el mercado internacional de la carne.

El presente trabajo se ordenó en los siguientes Capítulos:

El Capítulo I corresponde a la Introducción, y en ella se abordan, en primer lugar, aspectos generales de la ganadería, comercialización y consumo de carne, la composición e importancia nutritiva de la carne. Posteriormente se desarrollaron los temas relacionados con alimentos funcionales, tales como: la relación entre los lípidos dietarios y la salud, recomendaciones de consumo, los lípidos intramusculares. Luego se abordaron temas relativos a la modificación del perfil de ácidos grasos de la carne, como la deposición de grasa, la utilización de pasturas y suplementos en las dietas, deterioro

oxidativo de la carne, protección de antioxidantes naturalmente incorporados y almacenamiento.

En el Capítulo 2 se definen los objetivos generales y específicos de este trabajo de Tesis.

El Capítulo 3 comprende el análisis del perfil de ácidos grasos en los lípidos totales y neutros de dos músculos de elevado valor comercial de cuatro categorías de animales (asignadas según el sexo y el peso/edad de faena) provenientes de sistemas pastoriles.

El Capítulo 4 comprende el estudio del efecto de la suplementación con grano de maíz y cantidades crecientes de semilla de lino a novillos pesados y livianos provenientes de sistemas pastoriles sobre la composición de ácidos grasos de la carne. Se estudiaron asimismo los consumos de ácidos grasos de estos animales.

El Capítulo 5 estudia el efecto de la suplementación de animales en pastoreo con maíz y niveles crecientes de semilla de lino sobre el estado antioxidante y la estabilidad oxidativa de la carne madurada y expuesta a condiciones aeróbicas. Efecto de protección de los antioxidantes liposolubles naturalmente incorporados en el tejido.

El Capítulo 6 comprende las conclusiones generales de este trabajo de Tesis tomando en cuenta los resultados presentados en los Capítulos anteriores.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

I.1. La ganadería, comercialización y consumo de carne

Argentina es conocida en el ámbito internacional por su economía ganadera y agrícola. Estas actividades constituyen dos pilares fundamentales en la economía nacional y es por ello que desde hace muchos años el país se ha caracterizado por seguir, dentro de una gama de variantes, un modelo económico, básicamente agroexportador. Existe en éste país una fuerte tradición de producción y consumo de carne vacuna, que cuenta con una histórica presencia exportadora y que se encuentra enfrentando importantes desafíos para mejorar su posición en el comercio mundial de carnes.

La ganadería vacuna argentina ha visto reducida su superficie a causa de una importante expansión de la agricultura. En los últimos 12 años el incremento en la superficie sembrada con cosecha gruesa superó los 10 millones de hectáreas. Este incremento tuvo al cultivo de soja como principal protagonista que en dicho período paso de los 12.6 a 20.1 millones de hectáreas (MAGYP, 2014).

A pesar de la reducción ganadera estimada en unas 10 millones de hectáreas, el stock ganadero se ha mantenido estabilizado alrededor de las 50 millones de cabezas. El mantenimiento del stock ante la reducción de la superficie ganadera ha sido acompañado de un reordenamiento territorial de la ganadería con un desplazamiento de la Región Pampeana hacia las demás regiones del país, principalmente hacia el noreste argentino; de todas formas aquella región continúa siendo la principal contenedora de hacienda de nuestro país. Según informes del SENASA, (2014) la mayor parte de la ganadería vacuna se concentra en departamentos del Centro de Buenos Aires, centro norte de Entre Ríos, Sur este de Corrientes y Centro oeste de Santa Fe (Figura I-1).

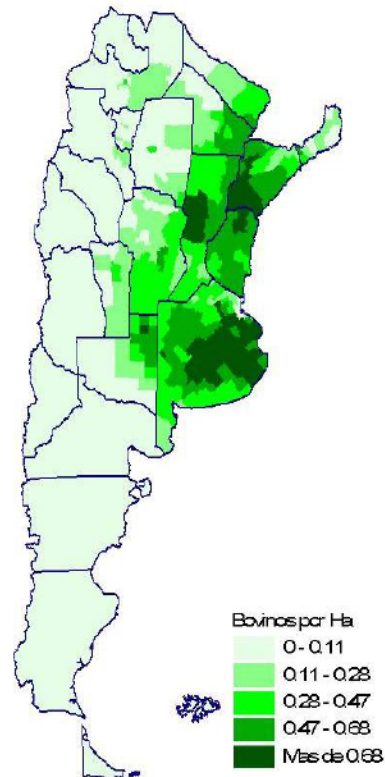


Figura I-1. Densidad bovina por departamento ó partido. Información según el Sistema de Gestión Sanitaria/SIGSA al día 31/03/2013.

La producción mundial de carne vacuna es de 58.9 millones tn (Toneladas) de res con hueso, según datos estimados por el USDA (MAGyP, 2014). Estados Unidos lidera la producción mundial con 11.2 millones de tn, siguiendo en orden de importancia, Brasil, la Union Europea, China, India y Argentina con alrededor de 9.920, 7.580, 5.760, 4.000 y 2.900 millones de tn respectivamente.

Brasil es el principal país exportador de carne vacuna, con un total de 2.03 millones de tn de res con hueso correspondiendo al 21.3% del total exportado. En orden de importancia le sigue India, con un total de 1.875 millones de tn, que representan el 19.7% de las exportaciones mundiales, seguidos por Australia y Estados Unidos (USDA-MAGyP, 2014). Argentina exporta 195.000 tn de res con hueso (6.8% de su producción)

(CICCRA, 2013). Uruguay, por su parte, exporta 385.000 tn siendo, siendo después de Brasil, el segundo país líder dentro del Hemisferio Sur.

En los últimos años, Argentina sufrió un marcado descenso en lo que respecta al mercado de exportación, registrándose una disminución del 73.9 % del volumen exportado de res con hueso para período comprendido entre 2005-2013 (CICCRA, 2013). Actualmente, Argentina ocupa el sexto lugar como productor y el onceavo lugar como exportador de carne (USDA-MAGyP 2014). El arraigo de este producto en el país hace que más del 90% de la producción total sea consumida localmente y el resto se exporte.

Entre los principales mercados de destino de la carne argentina se encuentran Chile, Rusia, Israel, China, Alemania y Brasil (CICCRA, 2013). Rusia es el segundo importador mundial de carne vacuna después de Estados Unidos, lo que representa un mercado de gran importancia y potencialidad para Argentina, tanto en carnes congeladas como en carnes enfriadas.

Como muestra la tabla I.1, los principales productos exportados en volumen en los últimos años fueron los cortes Hilton, carne fresca y res con hueso con un precio promedio por tonelada de 15.058, 6.987 y 5.315 dólares respectivamente (MAGyP, 2014). La carne fresca representa uno de los principales productos en el valor de las exportaciones cárnicas argentinas, representando un total 612.524 millones de dólares para el año 2012 (MAGyP, 2014). Los principales países compradores de estos productos son Chile seguidos por Rusia y Turquía (CICCRA, 2013)

Tabla I-1. Exportaciones en volumen de carne vacuna argentina, por período y por producto

| Período | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 |
|---------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Producto | | | | | | | | |
| Carne vacuna* | 483147 | 353975 | 335519 | 264911 | 419337 | 191759 | 156614 | 117794 |
| Cocida y congelada | | | | | | | | |
| Corned Beef | 18829 | 12623 | 14792 | 14013 | 14531 | | | |
| Cortes Hilton | 26588 | 25869 | 27044 | 18884 | 22380 | 25639 | 20041 | 21821 |
| Cortes congelados | | | | | | | | |
| Cortes enfriados | 231291 | 168847 | 137016 | 108949 | 201727 | | | |
| En cuartos | 127803 | 87189 | 122682 | 81661 | 108979 | | | |
| Especialidades | 73559 | 60468 | 36894 | 39381 | 72795 | | | |
| Fresca | 5411 | 4824 | 4563 | 4181 | 4948 | | | |
| Procesada | 406065 | 290635 | 269548 | 211107 | 361064 | 140626 | 118484 | 87518 |
| Res con hueso | 50494 | 37471 | 38927 | 34920 | 35836 | 25494 | 18090 | 8455 |
| | 771426 | 565056 | 539011 | 429359 | 661377 | 309874 | 250892 | 183817 |

Valores expresados en toneladas (tn) (*). Se considera la suma total de cortes Hilton, carne fresca y carne procesada. Fuente: MAGYP (2014).

Según datos oficiales de la FAO, el consumo mundial de carne fue para el 2009 de 63 millones de toneladas, mostrando un crecimiento para el período 2002-2009 del 19%. El mayor consumidor mundial en términos absolutos es Estados Unidos seguido de la Unión Europea. Pero si se considera el consumo anual por habitante, Argentina encabeza la lista con 64,1 Kg/hab/año, para el año 2013 (CICCRA, 2013). Si bien, se ha observado un incremento en el consumo de otro tipo de carnes (pollo, cerdo) en las últimas décadas desplazando en cierta medida al consumo de la carne vacuna, el consumo mundial de carne de origen bovino, sigue aun siendo elevado y muestra un tendencia creciente, particularmente para los países en desarrollo (Observatorio Ganadero, 2012).

La Argentina se ha propuesto ser líder en la producción de bienes agroalimentarios con valor agregado (en particular en origen), asegurando simultáneamente la provisión de alimentaria nacional y la demanda internacional en cantidad y calidad. Para alcanzar este objetivo Argentina debe incrementar la producción de carnes manteniendo o mejorando la calidad de los productos por la cual ha logrado diferenciarse en el mercado internacional. Esto no solo permitirá satisfacer al consumidor local con productos de alta calidad, sino que permitirá competir en el mercado global con un producto diferenciado por su calidad. Lograr esto último permitirá captar una mayor porción del mercado que podrá ser redistribuida en los distintos actores de la cadena de carnes. El efecto que los alimentos tienen sobre la salud del consumidor es una característica de calidad de creciente preocupación entre los consumidores y sobre la cual se debe trabajar si se desea obtener productos de alta calidad.

I.2. Composición e importancia nutritiva de la carne

La composición química promedio del tejido muscular bovino, libre de grasa subcutánea, consiste en agua (70-73%), proteínas (20-22%), lípidos (4-8%), carbohidratos (0.5-1.5%) y cenizas (1%) (Fennema, 2000). La relación proteína/agua se mantiene bastante constante a pesar de la variación de grasa de los diferentes músculos de una misma especie. Esto significa que las variaciones en el contenido de grasa de la carne afecta en proporciones equivalentes a los contenidos de agua y proteínas.

Las carnes son muy pobres en glúcidos ó hidratos de carbono, tanto que por lo general se desprecia en la práctica, de modo que la carne como alimento sólo se estima por su contenido en proteínas y materias grasas.

La carne representa una importante fuente de proteínas de elevado valor biológico en la dieta humana, ésta contiene las clases y proporciones relativas de aminoácidos necesarias para el mantenimiento y desarrollo de los tejidos humanos (Fennema, 2000; Warris, 2000). Del contenido total de nitrógeno del músculo, aproximadamente el 95% es

proteína y el 5% son péptidos pequeños, aminoácidos y otros compuestos (Fennema, 2000). La carne también es una importante fuente de vitaminas del complejo B particularmente B1 (tiamina), ácido nicotínico (niacina), B2 (riboflavina), B6 y B12 (cianocobalamina), y vitamina A (Retinol), vitaminas liposolubles A, D y E y de minerales como hierro, cobre, zinc, selenio y fósforo. Por su contenido en hierro de alta biodisponibilidad, la carne se considera una fuente inestimable de este mineral en la dieta humana, que no puede ser reemplazado por otras fuentes como los cereales y leguminosas; el hierro hemo de la carne presenta una excelente absorción y, además, incrementa la absorción del hierro procedente de otras fuentes alimenticias (Baech y col., 2003). La carne es relativamente pobre en calcio con aproximadamente 4mg/g y contiene generalmente 40 a 90 mg de sodio y unos 250- 420 mg de potasio cada 100 g de tejido magro (Fennema, 2000).

I.3. Componentes funcionales de los alimentos

I.3.1. Los alimentos funcionales

Tradicionalmente, los alimentos han sido elementos de una dieta encaminada a proveer cantidades adecuadas de nutrientes esenciales capaces de satisfacer los requerimientos metabólicos necesarios, y proporcionar satisfacción y bienestar al consumidor. Sin embargo, en los últimos años la situación está cambiando, entre otras razones, por la cada vez más evidente relación entre la salud y la dieta (Silveira Rodriguez, Monereo Megías y Molina Baena, 2003).

Actualmente, los consumidores demandan alimentos que además de actuar como nutrientes, aporten algún beneficio extra a la salud. En respuesta a esta demanda han nacido los denominados alimentos funcionales, que son aquellos alimentos que se consumen como parte de la dieta normal y que contienen componentes biológicamente activos, los cuales ofrecen beneficios para la salud y reducen el riesgo de sufrir

determinadas enfermedades. Por este motivo, las investigaciones se centran en forma creciente en la identificación de componentes biológicamente activos y su interacción con otros componentes del alimento.

Hay tres requerimientos básicos para que un alimento pueda ser considerado funcional, deben ser (Goldberg, 1994):

- ✓ Un alimento derivado de ingredientes que se producen naturalmente, es decir no son cápsulas, polvo ó tabletas
- ✓ Alimentos que deben consumirse como parte de la dieta diaria
- ✓ Alimentos que cumplen un papel específico en las funciones del ser humano, incluyendo:
 - mejora de los mecanismos de defensa biológica
 - prevención o recuperación del paciente de una enfermedad específica
 - control de las condiciones físicas y mentales
 - retardo en el proceso de envejecimiento

La carne puede ser considerada per sé un alimento funcional, un ingrediente o una matriz para la elaboración de alimentos funcionales (Arihara, 2006). Por ser una importante fuente de proteína de alto valor biológico, vitaminas y minerales en la dieta humana, el valor nutricional de la carne vacuna es solo cuestionado por su contenido graso. Esto ha llevado a que, como otros productos alimenticios, la carne esté sufriendo una imagen negativa debido a la relación que realizan los consumidores del presumible elevado contenido graso y la consecuente vinculación de su consumo con cuestiones específicas de la salud relativas al cáncer, enfermedades coronarias y obesidad (Demeyer, Honikel y De Smet, 2008). Si bien, es cierto que en ocasiones y en

determinados ámbitos, la información manejada de la carne en la salud no siempre resulta correcta. Por ello, son adecuadas medidas como la reducción o modificación del contenido graso de la carne o la incorporación de compuestos bioactivos para mejorar sus propiedades funcionales.

En general, un alimento funcional se puede obtener incorporando ciertos ingredientes bioactivos que no contiene de forma natural (o tiene en baja proporción) y que científicamente se consideran de probada eficacia para la salud y, por otro lado, reduciendo los componentes teóricamente negativos. Otra posible transformación es la modificación de la naturaleza o biodisponibilidad de uno o más componentes encaminados a producir efectos beneficiosos (Vidal Carou, 2008). Estas transformaciones se llevan a cabo mediante procedimientos tecnológicos. Para el caso de producción de carne estos procedimientos involucran cambios en las tecnologías del manejo animal, como lo es el manejo nutricional del ganado.

I.3.2. Los lípidos alimentarios

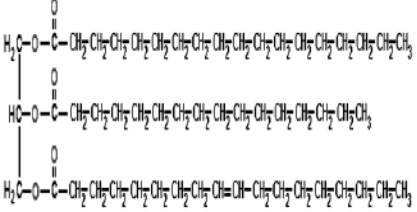
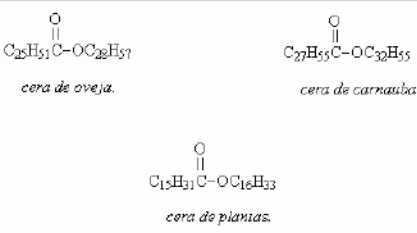
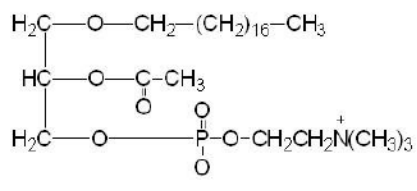
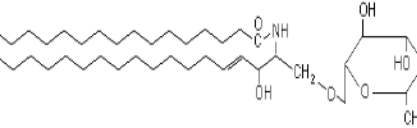
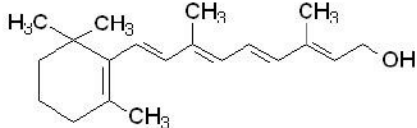
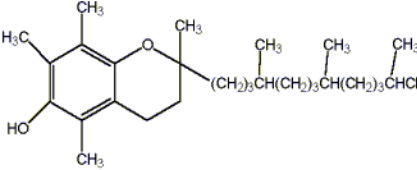
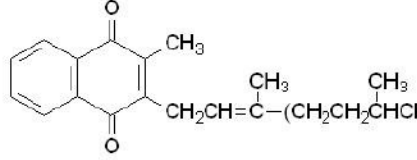
Las grasas alimentarias incluyen todos los lípidos de los tejidos vegetales y animales que se ingieren con los alimentos. Son un conjunto de sustancias orgánicas que tienen en común su insolubilidad en agua y solubilidad en solventes orgánicos (como éter ó cloroformo). Como el resto de los macronutrientes, las sustancias lipídicas contienen los tres elementos: carbono, hidrógeno y oxígeno. Por tener mayor cantidad de carbono e hidrógeno, la grasa libera más energía; en concreto, su oxidación produce 2.25 veces, o más, energía por unidad de peso, en comparación a la obtenida a partir de carbohidratos y proteínas; por ello, este macro nutriente es la fuente más concentrada de energía.

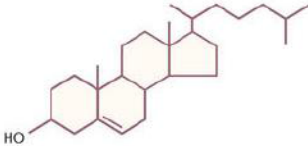
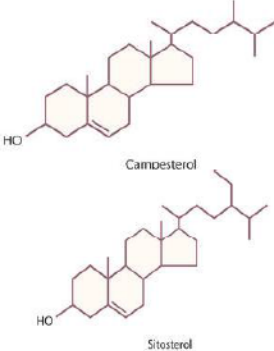
Los lípidos son un grupo muy heterogéneo de moléculas que usualmente se clasifican de diversas maneras. Una clasificación los divide en dos grupos, dependiendo de que posean en su composición lípidos saponificables o lípidos no saponificables.

Dentro de los lípidos saponificables se encuentran dos subgrupos, el de los lípidos simples, que son moléculas que solo contienen carbono, hidrógeno, oxígeno, y el de los lípidos complejos, que además de contener en sus moléculas carbono, hidrógeno y oxígeno, también contienen otros elementos como nitrógeno, fósforo, azufre u otra molécula como un glúcido (Tabla I-2). A los lípidos complejos se les denominan lípidos de membrana pues son los principales compuestos que forman las membranas celulares, son anfipáticos y se los denominan también “lípidos polares” para diferenciarlos de los triglicéridos y ceras que se denominan “lípidos neutros”. Desde el punto de vista alimentario, los componentes lipídicos cualitativamente y cuantitativamente más importantes y característicos son los triglicéridos. Estos compuestos son ésteres de glicerol unido a tres ácidos grasos iguales (triglicéridos simples) o distintos (triglicéridos mixtos) y forman parte de todos los aceites y grasas que se conocen. La mayor parte de las grasas naturales son mezclas complejas de triglicéridos. El tipo de ácidos grasos y la posición en la cual se esterifican con el glicerol determinan las características de los mismos.

Los ácidos grasos (AG) son constituyentes importantes en la nutrición humana. Proporcionan 35 - 40 % del valor calórico de la dieta en naciones industrializadas con alto nivel de vida, siendo un 10 - 15 % menor en pueblos de bajos recursos (FAO, 1997). Aportan 9 kcal/g consumido, actúan como transportadores de vitaminas A, D, E y K y provitaminas como los carotenos. En la alimentación de los recién nacidos son fundamentales, ya que aportan suficiente energía en un volumen reducido, correspondiente a la capacidad de sus estómagos. En los alimentos en general dan mayor saciedad, influyen en la textura, en la sensación de suavidad, palatabilidad y también en el sabor y el aroma

Tabla I-2. Lípidos, clasificación y estructura química

| Clasificación de los lípidos | | Estructura Química |
|------------------------------|---|--|
| Saponificables | <p>Simples</p> <p>Incluyen en su molécula C, H y O. Son ésteres de ácidos grasos con alcoholes de estructura química variable</p> | <p>Triglicéridos Manteca Sebos Aceites</p>  |
| | | <p>Ceras De origen vegetal: Carnauba De origen animal: cera de abeja</p>  |
| | <p>Compuestos Compuestos por C, H, O, N y P y/o S. Son ésteres o amidas complejas formados por ácidos, alcoholes y bases diversas</p> | <p>Fosfolípidos</p> <p>Base nitrogenada (colina, serina, inositol) y un ácido fosfórico</p>  |
| No saponificables | <p>Terpenos</p> <p>Formado por 1 a 8 unidades de isopreno (formado por cinco unidades de C). Pertencen a este grupo:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Retinoides (Vit A) • Tocoferoles (Vit E) • Naftoquinonas (Vit K) • Dolicoles | <p>Glucolípidos</p>  |
| | <p>Vitamina A</p> |  |
| | <p>Vitamina E</p> |  |
| <p>Vitamina K</p> |  | |

| | |
|---|--|
| <p>Esteroides</p> <p>Cíclicos, derivados del núcleo ciclopentafenantreno.</p> <p>Pertenecen a este grupo:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Esteroles <ul style="list-style-type: none"> • Colesterol • Fitoesterol 2. Hormonas esteroideas | <p>Colesterol</p>  |
| | <p>Fitoesteroles</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sitoesterol • Campesterol • β-Sitoesterol  |

Los ácidos grasos son cadenas lineales y generalmente están formados por un número par de átomos de carbono. El largo de la cadena varía entre 4 y 30 átomos de carbono. Por otra parte, los ácidos grasos pueden ser saturados (AGS), tener un doble enlace (monoinsaturados; AGMI) o más dobles enlaces (poliinsaturados; AGPI). El punto de fusión de los ácidos grasos con un número par de átomos de carbono se incrementa con la longitud de la cadena y disminuye de acuerdo con la insaturación. Los lípidos de membrana deben estar líquidos a temperatura ambiente, por lo que son más insaturados que los lípidos de almacenamiento.

Los ácidos grasos naturales presentan un tipo de isomería geométrica, la disposición espacial de los hidrógenos en los dobles enlaces adoptan casi siempre una configuración de tipo *cis*, lo que origina un ángulo de aproximadamente 120° en dicha posición. Al aumentar el número de dobles enlaces, se origina una importante curvatura en la molécula del ácido graso con relevantes repercusiones en los triglicérido y fosfolípidos que contienen a estos ácidos grasos. En la tabla I-3 se detalla la nomenclatura de los ácidos grasos más frecuentes en alimentos de consumo habitual. Los dobles enlaces están en configuración *Cis*.

Tabla I-3. Nomenclatura de los principales ácidos grasos.

| Nombre Común | Nombre sistemático | Abreviatura | Familia de ácido graso |
|------------------------------|---|--------------------|-------------------------------|
| Caprílico | Octanoico | 8:0 | |
| Cáprico | Decanoico | 10:0 | |
| Láurico | Dodecanoico | 12:0 | |
| Mirístico | Tetradecanoico | 14:0 | |
| Palmítico | hexadecanoico | 16:0 | |
| Estéarico | octadecanoico | 18:0 | |
| Araquídico | eicosanoico | 20:0 | |
| Behénico | docosanoico | 22:0 | |
| Lignocérico | tetracosanoico | 24:0 | |
| Palmitoleico | 9-hexadecenoico | 16:1 | n-7 |
| Oleico | 9-octadecenoico | 18:1 | n-9 |
| Gadoleico | 11-eicosaenoico | 20:1 | n-9 |
| Cetoleico | 11-docosaenoico | 22:1 | n-11 |
| Erúcico | 13-docosaenoico | 22:1 | n-9 |
| Nervórico | 15-tetracosanoico | 24:1 | n-9 |
| Linoleico (LA) | 9, 12 octadecadienoico | 18:2 | n-6 |
| α -linolénico (ALA) | 9, 12, 15- octadecatrienoico | 18:3 | n-3 |
| Γ -linolénico (GLA) | 6, 9, 12- octadecatrienoico | 18:3 | n-6 |
| Dihomo- γ -linolénico | 8, 11, 14- eicosatrienoico | 20:3 | n-6 |
| | 5, 8, 11- eicosatrienoico | 20:3 | n-9 |
| Araquidónico (ARA) | 5, 8, 11, 14- eicosatetraenoico | 20:4 | n-6 |
| EPA | 5, 8, 11, 14, 17- eicosapentaenoico | 20:5 | n-3 |
| Adrénico | 7, 10, 13, 16- docosatetraenoico | 22:4 | n-6 |
| | 7, 10, 13, 16, 19- docosapentaenoico | 22:5 | n-3 |
| DPA | 4, 7, 10, 13, 16- docosapentaenoico | 22:5 | n-6 |
| DHA | 4, 7, 10, 13, 16, 19- docosahexaenoico | 22:6 | n-3 |

Aunque no son mayoritarios, también hay ácidos grasos con dobles enlaces en configuración *trans*. Éstos son ácidos grasos monoinsaturados ó poliinsaturados que presentan al menos una de sus isaturaciones en posición *trans*, la cual da lugar a un ángulo de enlace mayor que la configuración *cis*. Los ácidos grasos *trans* se encuentran de manera natural en la grasa de la carne y de la leche de los rumiantes formados por la microbiota de estos animales, aunque en su mayoría se originan por transformación química de los ácidos grasos naturales en determinados procesos tecnológicos.

Existen algunos ácidos grasos poli-insaturados en donde alguno ó más de sus dobles enlaces migran tanto en su posición en el número de carbono como en su posición geométrica como ocurre por ejemplo en los isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico (CLA). El ácido linoleico es un ácido graso insaturado de 18 carbonos con dos dobles ligaduras en las posiciones 9 y 12, ambas en la configuración *cis*, su nombre químico es ácido octadecadienoico *cis*-9, *cis*-12, su fórmula condensada es 18:2^{Δ9,12} [CH₃(CH₂)₄CH=CHCH₂CH=CH(CH₂)₇COOH]. Los conjugados son una mezcla de isómeros cuyas dobles ligaduras cambiaron de lugar en el número de carbono de la cadena en las posición 7 y 9, 8 y 10, 9 y 11, 10 y 12, u 11 y 13 ó de forma geométrica de “*cis*” a “*trans*” o viceversa. En el caso de los isómeros mas investigados del ácido linoleico, cambian de *cis*-9, *cis*-12 a *cis*-9, *trans*-11, así como de *cis*-9, *cis*-12 a *trans*-10 y *cis*-12 (Figura I-2).

Los CLA se forman porque en el rumen de los rumiantes existen bacterias celulolíticas como *Butyrivibrio fibrisolvens* que tienen la capacidad de hidrogenar a los ácidos grasos insaturados provenientes de la dieta (Kepler y Tove, 1967), y una enzima llamada delta 9- desaturasa capaz de sintetizar a los CLA; esta enzima se encuentra principalmente en bacterias del rumen, tejido adiposo y glándula mamaria, proceso que será detallado posteriormente. Pueden existir 28 conjugados y se han identificado casi la

mitad; solo los isómeros *cis*-9, *trans*-11y el *trans*-10, *cis*-12 han probado tener actividad biológica.

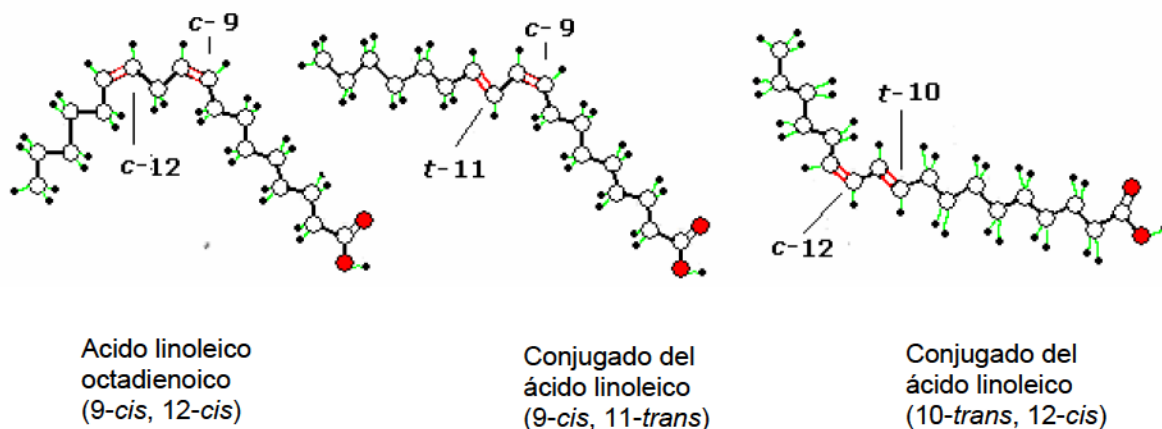


Figura I-2. Estructura química del ácido linoleico y sus dos principales isómeros.

I.3.3. Los lípidos dietarios y la salud.

La comunidad de nutricionistas apoya la hipótesis que un desbalance del colesterol y de las grasas en la dieta son la principal causa de arteriosclerosis y enfermedades cardiovasculares (ECV) (Griel y Kris-Etheron, 2006). Los profesionales de la salud de todo el mundo recomiendan una reducción del consumo total de grasas en la dieta, especialmente de ácidos grasos saturados, ácidos grasos trans y colesterol, mientras que enfatizan en la necesidad de incrementar el consumo de grasas poliinsaturadas de la serie n-3 (Griel y Kris-Etheron, 2006).

Estas recomendaciones con respecto al consumo de grasas se deben mayormente a estudios epidemiológicos que muestran una fuerte correlación positiva entre el consumo de AGS y la incidencia de ECV, una condición que se cree que resulta del aumento concomitante del colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (LDL, ó colesterol

malo) en plasma a medida que incrementa el consumo de AGS (Hu y col., 1997; Posner y col 1991); generalmente es aceptado que por cada 1% del incremento en la energía en AGS, los niveles de colesterol LDL aumentan en 1.3 a 1.7 mg/dL (0.034 a 0.044 mmol/L) (Mensink y Katan., 1992; Mensink y col., 2003).

Como ha sido señalado, una amplia promoción correlativa a estos datos, impulsó una campaña anti-AGS que redujo el consumo de grasas en la dieta, incluyendo la mayoría de las proteínas de origen animal como la carne, productos lácteos y huevos en las últimas tres décadas (Putnam y col., 2002), atribuido a su relativamente alto contenido de AGS y colesterol.

Sin embargo, investigaciones más recientes sugieren que no todos los AGS tienen el mismo impacto en el colesterol sérico. Por ejemplo, el ácido laúrico (C12:0) y el ácido mirístico (C14:0), tienen mayor efecto hiper colesterolémico que el ácido palmítico (C16:0), mientras que el ácido esteárico (C18:0) tiene un efecto neutro sobre la concentración total del colesterol sérico, sin impacto aparente sobre el LDL ó HDL. El ácido laúrico incrementa el colesterol sérico total, aunque este disminuye la relación de colesterol total:HDL debido al incremento preferencial del colesterol bueno ó HDL (Mensink y Katan., 1992; Kris-Etherton y Yu, 1997; Mensink y col., 2003). Por otra parte, un meta-análisis de estudios epidemiológicos más recientes ha puesto en duda las evidencias que apoyan la asociación entre los AGS y las enfermedades cardiovasculares (Siri-Tarino, Sun, Hu, y Krauss, 2010).

Con respecto al consumo de AGMI, se ha observado una asociación inversa entre el consumo de los mismos y las tasas de mortalidad debido a ECV (Hu y col., 1997). El consumo de AGMI, particularmente de ácido oleico, promueve efectos de disminución del colesterol, disminuye el riesgo de accidentes cerebro-vasculares y reduce significativamente la presión sanguínea en poblaciones susceptibles (Kris-Etherton, 1999)

La organización mundial de la salud en su informe del año 2003 (WHO, 2003) ha dado una serie de directrices con respecto al consumo de grasas en la dieta, señalado que el consumo de grasa total, de AGS, ácidos grasos trans, AGPI de la serie omega-6 (AGPI n-6) y AG de la serie omega-3 (AGPI n-3) deberían representar 15-30%, <10%, <1%, 5-8% y 1-2% respectivamente de la energía total consumida en la dieta. Por otra parte, la relación entre AGPI y AGS recomendada se debería encontrar entre 0.4 y 1.0 (Jimenez-Colmenero, 2007). El mayor énfasis en el consumo de AGPI se debe a que un gran número de estudios epidemiológicos han relacionado su consumo, especialmente los de la serie n-3, con una menor incidencia de ECV y otras cuestiones relacionadas con la salud humana.

1.3.4. Consumo de AGPI n-3 y AGPI n-6 en la dieta

Existen dos ácidos grasos esenciales en la nutrición humana: el α -linolénico (α LA), un ácido graso omega 3 (n-3), y el ácido linoleico (LA), un ácido graso omega 6 (n-6). El cuerpo humano no puede sintetizar los ácidos grasos esenciales, aunque estos son críticos para la salud humana; por esta razón estos deben ser aportados por la dieta. Tanto el α LA como el LA son ácidos grasos poliinsaturados y sirven como precursores de otros importantes compuestos. El α LA es el precursor para la ruta de los omega-3. Del mismo modo, el LA es el antecesor en la ruta de los omega-6.

Si bien, los ácidos grasos omega-3 y omega-6, son dos familias distintas y separadas, hay que tener en cuenta que en este proceso los ácidos linoleico y linolénico comparten los mismos sistemas enzimáticos y que la primera enzima en actuar, la delta-6-desaturasa tendría mayor afinidad por el linolénico que por el linoleico. Un exceso de una de las familias puede interferir con el metabolismo de la otra reduciendo su incorporación dentro de los tejidos lipídicos, alterando sus efectos biológicos globales (Figura I-3).

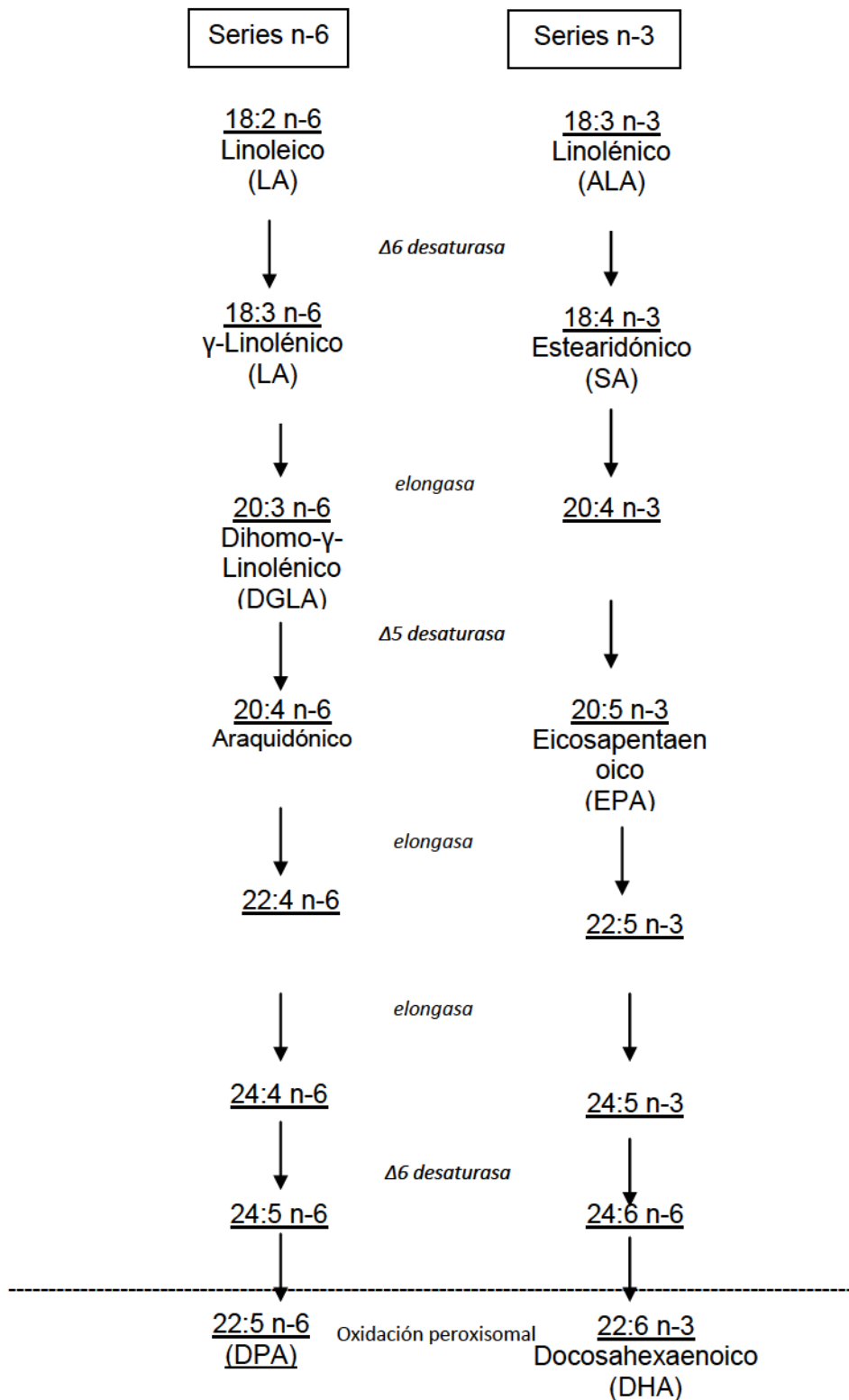


Figura I-3. metabolismo esquemático de los n-6 y n-3 y la elongación dentro del cuerpo

Una dieta saludable consistiría en una relación n-6/n-3 de 5/1 a 10/1 según recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2004). Sin embargo, en la mayoría de los países de Occidente se consume una dieta muy desequilibrada a favor de los n-6 (relación n-6/n-3 = 20/1), como es el caso de nuestro país, con un elevado consumo de aceite de girasol (PROPIA, 2005). Según Jiménez-Colmenero, (2007), dicha relación no debería superar el valor de 4. Como no existe competencia metabólica entre los ácidos grasos n-3 y los insaturados no esenciales representados principalmente por el ácido oleico (18:1, n-9), la sustitución parcial de aceites ricos en ácido linoleico (aceite de girasol) por aceites ricos en ácido oleico contribuiría a restablecer el balance n-6/n-3 necesario.

El consumo de AGPI, especialmente aquellos de la serie n-3, es beneficioso. Los AGPI n-3, a diferencia de los AGPI de la serie n-6, no sólo disminuyen los niveles plasmáticos de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad sino que también, aumentan aquel asociado a lipoproteínas de alta densidad (Ulbricht y Southgate, 1991). Los principales AGPI n-3 usados por el cuerpo incluyen el C18:3n-3 (α LA), el C20:5n-3 (EPA), C22:5n-3 (DPA) y el C22:6n-3 (DHA). Una vez consumidos, el cuerpo convierte el α -LA a EPA, DPA y DHA, aunque con baja eficiencia. Los estudios generalmente concuerdan que la conversión total del cuerpo de α -LA a DHA es menor al 5% en humanos, la mayoría de estos ácidos grasos de cadena larga son consumidos en la dieta (Thomas, 2002).

Los ácidos grasos omega-3 fueron descubiertos por primera vez cuando médicos daneses observaron que los esquimales de Groenlandia tenían una excepcionalmente baja incidencia de enfermedades cardíacas y artritis a pesar de que consumían una dieta alta en grasas. Estos estudios tempranos establecieron al pescado como una fuente rica en AGPI n-3. Más recientemente las investigaciones han establecido que el EPA y el DHA juegan un rol crucial en la prevención de arteriosclerosis, ataques cardíacos, depresión y

cancer (Simopoulos, 1991; Connor, 2000). Asimismo, se ha observado que el consumo de omega-3 reduce la inflamación causada por artritis reumatoidea (DiGiacomo, 1989).

El cerebro humano tiene un alto requerimiento de DHA; bajos niveles de DHA han sido ligados a bajos niveles de serotonina en el cerebro, que se encuentra relacionado a un incremento en la tendencia a la depresión y suicidio. Un elevado consumo de ácidos grasos omega-3 se encuentra típicamente asociado a una menor incidencia a la depresión, una disminución en la prevalencia a la pérdida de memoria relacionada a la edad y a un bajo riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer (Kalmijn, 1997; Morris y col., 2003)

La carne, el pescado, el aceite de pescado y los huevos son importantes fuentes de AGPI n-3 para el hombre. Sin embargo, la oportunidad de incrementar el consumo de ácidos grasos n-3 de cadena larga a partir de la carne de pescado o su aceite es limitada debido al bajo consumo per capita de estos productos en muchos países del mundo (incluida la Argentina) y a la preocupación por la futura sustentabilidad de esta fuente de AGPI (Williams y Burdge, 2006); por lo que el aporte de AGPI n-3 que realiza la carne adquiere especial relevancia para la dieta de estas poblaciones (Sinclair, y col., 1994), especialmente si esta proviene de sistemas pastoriles (McAfee y col., 2011). Por su efecto favorable sobre la salud humana, el ácido linoleico conjugado, ha cobrado especial interés en las últimas décadas.

I.3.5. Ácido Linoléico Conjugado (CLA)

Los conjugados del ácido linoleico fueron por primera vez encontrados cuando se investigaba la grasa de leche de bovinos pastoreando en primavera (Booth y col., 1935). Investigaciones en carne vacuna molida, encontraron a un factor anticarcinogénico que consistía en una serie de isómeros del ácido linoleico (Pariza y Hargraves, 1985; Ha y col., 1987). Trabajos subsecuentes mostraron que los CLA contenidos en la dieta, eran capaces de reducir la incidencia de tumores en animales (Ip y col., 1991; Belury y col.,

1997; Banni y Martin, 1998; Vander Heuvel et al., 1999). La singularidad de estos efectos fue reconocida en el reporte Carcinogen and Anticarcinogens in the Human Diet de la Academia Nacional de Ciencias, la cual establece que el “CLA es el único ácido graso que inequívocamente muestra inhibición de la carcinogénesis en animales experimentales” (NRC, 1996). El rango de efectos positivos sobre la salud asociados con CLA en diferentes modelos experimentales se ha extendido e incluyen a la acción antioxidante (Ip y col., 1991); promotor del desarrollo a nivel muscular (Chin y col., 1994); reducción en la deposición de grasa corporal y alteración en la partición de nutrientes, (Pariza y col., 1997; Delany y col., 1999; Park y col., 1999); reducción en el desarrollo de arterioesclerosis (Belury y col., 1997; Doyle, 1998); inhibidor de la metástasis de células de cáncer (Doyle, 1998); efectos antidiabéticos (Houseknecht y col., 1998; Belury, 2003); modulación del sistema inmune (Hayek y col., 1999; Cook y col., 2000); efectos benéficos contra asma y alergias (Cook et al., 2000). Por estos motivos, los CLA son compuestos fascinantes de interés para los nutricionistas de animales y de humanos, así como de la comunidad médica. Particularmente, dos de los isómeros del CLA han sido ampliamente reconocidos por sus efectos biológicos, el efecto anti carcinogénico y antiaterogénico del CLA *cis*-9, *trans*-11 y el efecto anti obesidad del CLA *trans*-10, *cis*-12 (Dilzer y Parck 2012; Mitchell y col., 2012).

El consumo óptimo de CLA aun no ha sido establecido. Se ha presumido que 95mg de CLA/día es suficiente para mostrar efectos positivos en la reducción del cáncer de mamas en mujeres utilizando datos epidemiológicos que asocian al incremento de consumo de leche de rumiantes con una reducción del cáncer de mamas (Knekt y col., 1996). Ha y col (1989) realizaron una estimación mucho más conservadora declarando que 3g/día de CLA es requerida para promover beneficios en la salud humana. Ritzenthaler y col (2001) estimaron que son necesarios consumos de CLA de 620 mg/día en hombres y 441 mg/día en mujeres para la prevención del cáncer. Indudablemente,

todos estos valores representan aproximaciones estimadas y son mayormente extrapoladas de datos en animales. Actualmente, los estudios realizados en humanos muestran datos inconsistentes (Dilzer y Parck., 2012; Mitchell y col., 2012).

Se ha reportado que el consumo de ácido trans-vaccénico (precursor del CLA) incrementa los niveles de CLA en humanos. La tasa de conversión de TVA a CLA ha sido estimada en un rango del 5 al 12% en roedores y del 19 al 30% en humanos (Turpeinen y col., 2002). Por lo que el verdadero consumo de CLA en la dieta debería considerar el CLA *cis*-9, *trans*-11 nativo (actual CLA) así como el ácido trans-vaccénico (potencial CLA) en los alimentos (Adlof y col., 2000; Turpeinen y col., 2002). La obtención de alimentos enriquecidos con cantidades suficientes de estos ácidos grasos potencialmente benéficos para la salud humana constituye un desafío para el desarrollo de “nuevos alimentos con características saludables”.

I.3.6. Fracción lipídica de la carne vacuna

Los lípidos son el componente más variable de la carne. Su composición se puede dividir en lípidos del tejido muscular y los propios del tejido adiposo. Los primeros se depositan en dos compartimientos diferentes. Algunos lípidos lo hacen dentro de la fibra muscular (intracelulares), pero la mayoría se localiza dentro del tejido adiposo asociado a los septos de tejido conectivo laxo que se encuentra entre los haces musculares; este último tipo de depósito graso se le conoce como veteado, marmoleo o “marbling”.

La grasa de marmóreo es una importante característica de calidad de la carne en relación a la jugosidad, aroma y terneza (Jeremiah y col., 2003; O’Quinn y col., 2012); constituye el depósito graso más importante en relación a la composición de ácidos grasos y la salud humana y se encuentra estrechamente vinculado al contenido de grasa intramuscular. El score o puntuación en el sabor incrementa marcadamente con el incremento del contenido de grasa intramuscular por encima del 4-5% (Goutefongea y Valin, 1978). Si la terneza es controlada, los scores de sabor y jugosidad muestran una

relación curvilínea positiva con el contenido de grasa intramuscular hasta el 14-20% (Thompson, 2004).

La composición en ácidos grasos de la grasa intramuscular, con un considerable efecto sobre la relación dieta/salud, usualmente contiene entre un 40 y un 50% de AGS, de un 40 a 50% de AGMI y de un 5 a 10% de AGPI (Banskalieva y col., 2000). Entre los AGS predominantes se encuentra el C14:0, C16:0 y C18:0, este último considerado neutro para la salud, representa un 30% del total de AGS. El ácido linoleico y α -linolénico son los AGPI predominantes mientras que el C18:1n-9 es el principal representante de los AGMI, aunque también contiene pequeñas proporciones de C16:1n-9 y C14:1n-9. La carne también contiene ácidos grasos *trans* de los cuales predomina el ácido trans-vaccénico (TVA; C18:1, *trans*-11). A diferencia de los ácidos grasos *trans* de origen industrial, los ácidos grasos *trans* producidos por los rumiantes ha cobrado un mayor interés debido al potencial efecto protector contra el desarrollo de enfermedades coronarias (Salter, 2013; Wang, Jacome-Sosa, y Proctor, 2012). La carne también contiene pequeñas cantidades de ácidos grasos de cadena larga AGPI C20/C22, EPA y DHA y hay trabajos que han demostrado que la carne roja es una importante fuente de estos ácidos grasos para el humano (Howe, Meyer, Record, y Baghurst, 2006). A su vez, se han reportado un total de 10 isómeros del CLA en carne, representando el CLA *cis*-9, *trans*-11 aproximadamente el 70% del total de estos isómeros (Dannenberger y col., 2004).

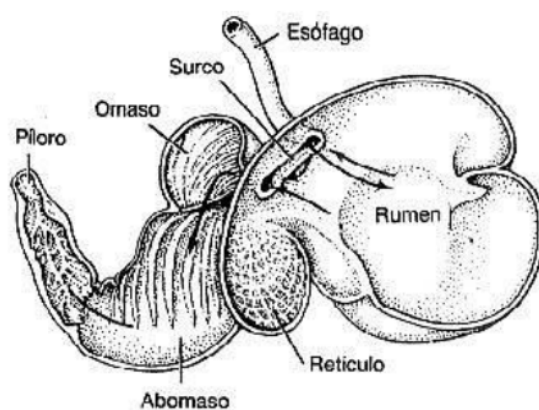
I.4. Modificación del perfil de ácidos grasos de la carne

I.4.1. Proceso digestivo de rumiantes

Los rumiantes son animales en los que el proceso digestivo presenta grandes diferencias respecto a los otros animales. Estas diferencias generan que la composición

de lípidos dietarios consumidos por los rumiantes no se vean exactamente reflejados en la composición de sus tejidos.

Por ser poligástricos los rumiantes tienen una estructura estomacal compleja que está formada por 4 compartimientos: el retículo, el rumen, omaso y abomaso. En la figura I-4 se muestra cual es la localización de cada uno. Los tres primeros se denominan comúnmente prestómagos y tienen una mucosa con un epitelio que no es capaz de producir jugos con función digestiva. El último, el abomaso, es el que posee una estructura glandular equivalente al del estómago simple en los monogástricos (Relling y Mattioli, 2013)



| | |
|-----------------|--|
| RETÍCULO | -Situado en la parte anterior de la cavidad abdominal -Separado del rumen por el pliegue |
| RUMEN | -Compartimiento más voluminoso. Su volumen es aproximadamente el 75% de los 4 compartimientos -Situado en el flanco izquierdo de la cavidad abdominal -Está dividido en un saco dorsal y otro ventral por una serie de proyecciones musculares |
| OMASO | -Situado en la parte derecha de la cavidad abdominal -Conectado con el retículo (orificio retículo omasal) y con el abomaso |
| ABOMASO | -Situado en la parte derecha de la cavidad abdominal -Forma de saco alargado. Es el único de los 4 con función glandular |

Figura I-4. Representación de los cuatro estómagos de los rumiantes

Se puede afirmar que son seis las fases de digestión de los rumiantes:

1. La primera comprende la rumia. Gracias a la masticación se reduce el tamaño de los alimentos consumidos y se produce saliva, la que debido a su composición tendrá un papel esencial en las primeras fases de la digestión. Este proceso se

repite durante varias horas después de consumir el alimento, ya que éste una vez introducido en los pre-estómagos se regurgita y se sigue masticando.

2. La segunda es el paso del alimento a los dos primeros pre-estómagos, el retículo y el rumen. En esta fase, como resultado de la fermentación microbiana (bacterias, hongos y protozoos) de los hidratos de carbono del alimento, se forman ácidos grasos volátiles (AGV) que en su mayoría son absorbidos a través de las paredes del rumen. En esta etapa también se produce la lipólisis y biohidrogenación de los AG de los alimentos.
3. La tercera fase transcurre en el omaso, en el que se absorbe agua, sodio, fósforo y los AGV residuales.
4. A continuación, en el abomaso, se secretan ácidos fuertes y enzimas digestivas para digerir los compuestos no fermentados en el rumen, como algunas proteínas y lípidos.
5. La quinta fase ocurre en el intestino delgado, donde, al igual que en los no rumiantes, se secretan mas enzimas y sales biliares, y se produce la digestión enzimática del resto de carbohidratos, proteínas y lípidos y se absorben los nutrientes obtenidos.
6. Finalmente, en el ciego e intestino grueso también ocurre una segunda fermentación microbiana, se forman las heces y se absorbe parte del agua utilizada en la digestión.

Digestión ruminal de lípidos: *Hidrólisis y biohidrogenación*

Los componentes lipídicos del forraje están formados en su mayoría por glicolípidos y fosfolípidos, conteniendo principalmente ácidos grasos insaturados como el linoleico y el linolénico. En contraste, los compuestos de lípidos que predominan en semillas

oleaginosas usados en concentrados de cereales son los triglicéridos conteniendo ácido linoleico y principalmente ácido oleico.

Cuando son consumidos los lípidos de las dietas, sufren dos importantes transformaciones en el rumen. La primera, es la hidrólisis de los enlaces ésteres catalizados por las lipasas bacterianas; este paso es básico para el segundo, que consiste en la biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados efectuado por las bacterias del rumen, principalmente *Butyrivibrio fibrisolvens*; los protozoarios también actúan pero en mucho menor importancia. Esta hidrogenación no es completa, afecta entre el 70 y el 90 % de los ácidos grasos y queda un remanente que en parte es incorporado al propio soma bacteriano, pasando a ser una fuente de ácidos grasos esenciales e insaturados para el rumiante al ser absorbidos en el intestino (Relling y Matioli, 2013).

La biohidrogenación tiene varios pasos bioquímicos. Investigaciones con cultivos puros sugieren que no hay una sola especie de bacteria del rumen que catalice la secuencia completa de biohidrogenación. Las bacterias se dividen en dos grupos basados en las reacciones y en los productos finales. En el grupo (A) se encuentran bacterias que son capaces de hidrogenar al ácido linoleico y α -linolénico siendo el principal producto final el C18:1 *trans*-11. El grupo (B) está constituido por bacterias que usan al C18:1, *trans*-11 como uno de sus principales sustratos, siendo el producto final al ácido esteárico (C18:0).

La isomerización del doble enlace de *cis*-12 a configuración *trans*-11 representa el paso inicial de la biohidrogenación de los ácidos grasos que contienen un doble enlace *cis*-9-, *cis*-12. La linoleato isomerasa es la enzima responsable de formar las dobles ligaduras conjugadas a partir de la estructura del ácido linoleico, así como también de los ácidos α y γ -linolénico. La enzima está ligada a la membrana de la célula bacteriana y demuestra un requerimiento absoluto del sustrato *cis*-9, *cis*-12 y un grupo carboxilo libre. La segunda reacción es una reducción en la cual el CLA *cis*-9, *trans*-11 es convertido a

C18:1, *trans*-11. Estudios *in vitro* usando al ácido linoleico en contenido ruminal demostraron que la isomerización de la doble ligadura *cis*-12 fue seguida de una conversión rápida del CLA *cis*-9, *trans*-11 a C18:1 *trans*-11. La reducción al C18:1 *trans*-11, parece ser el que limita la tasa en la secuencia de biohidrogenación del ácido esteárico. Como una consecuencia, este penúltimo intermediario se acumula en el rumen y está más disponible para su absorción. Parte del CLA *cis*-9, *trans*-11 frecuentemente escapa de la biohidrogenación ruminal completa y es absorbido a nivel intestinal. Similar mecanismo ocurre con la biohidrogenación del ácido linolénico (C18:3) (Bauman, 2003). En la figura I-5 se muestra el proceso de digestión de lípidos y obtención de TVA y CLA en los tejidos.

El C18:1, *trans*-11 y el CLA *cis*-9, *trans*-11 son los intermediarios clave en la biohidrogenación ruminal y están presentes en cantidades apreciables en la grasa de rumiantes, en una relación de aproximadamente 3:1. Esta diferencia se debe a que la mayoría del CLA *cis*-9, *trans*-11 presente en la grasa de rumiantes, es primordialmente originado en la glándula mamaria y tejido adiposo a través de la síntesis endógena mediada por la enzima delta 9 desaturasa (Stearoil CoA desaturasa, SCD), cuyo principal sustrato es el TVA derivado del rumen (Bauman y col., 2003). Debido a que esta enzima está presente en todos los tejidos de los mamíferos inclusive el humano, existen estudios que investigan la viabilidad de usar al ácido *trans*-vaccénico como precursor en la síntesis endógena del CLA *cis*-9, *trans*-11 para proteger contra cáncer (Loock y Bauman, 2003). Paradójicamente, la biohidrogenación de los lípidos en el rumen es la responsable de los altos niveles de ácidos grasos saturados en la grasa de rumiantes, que es una característica considerada desagradable por aspectos de salud humana. Pero, también es responsable del contenido de CLA *cis*-9, *trans*-11 en la grasa de rumiantes con muchos efectos benéficos para la salud humana.

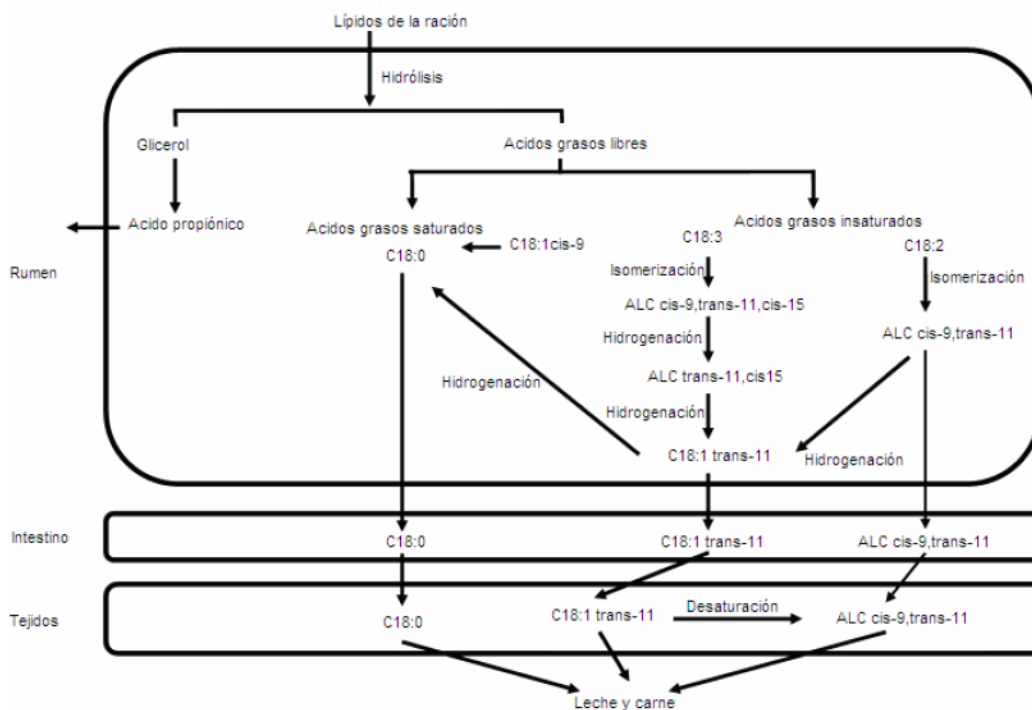


Figura I-5. Digestión de los lípidos en el rumen y origen del CLA *cis-9, trans-11* de la carne y leche de los rumiantes. Adaptado de Tanaka (2005). ALC (CLA).

I.4.1. Deposición de grasa intramuscular

La deposición de grasa se encuentra determinada por la síntesis de ácidos grasos de novo y por el consumo exógeno de ácidos grasos (Vernon y Flint 1988). Se ha observado que factores como la nutrición, raza, el peso/edad y el sexo de los animales pueden afectar el nivel de grasa depositada sobre la res (Duckett y col., 2013; Barton y col., 2011; Moreno y col., 2008)

El crecimiento y engorde de los animales para carne está asociado con un incremento en la deposición de grasa, primero en el tejido subcutáneo y luego en la grasa

intramuscular (Vernon y Flint, 1988). La grasa intramuscular es depositada a una menor tasa que el crecimiento muscular durante los primeros períodos de la vida postnatal del animal cuando el promedio de la ganancia diaria de peso es la más alta. En contraposición, la grasa intramuscular es depositada en una mayor tasa que la del crecimiento muscular cuando el promedio de la ganancia diaria de peso de los animales es reducida, es decir, cuando los animales tienen mayor edad. En este período (correspondiente al período de finalización de los animales), el nivel de grasa intramuscular inevitablemente incrementa ya que los nutrientes son utilizados en menor cantidad para el crecimiento muscular (Pethick y col., 2004).

El contenido total de grasa dentro de los músculos generalmente depende de la cantidad de triglicéridos, mientras que la cantidad de fosfolípidos, como bloques constructores de las membranas celulares, es relativamente constante. Por lo tanto, hay una fuerte relación entre el contenido de grasa intramuscular y el contenido de triglicéridos, ambos altamente dependientes del grado de engrasamiento global del cuerpo del animal, la raza y el tipo de músculo. Los AGS C16:0 y C18:0 y el AGMI C18:1n-9 representan aproximadamente el 80% del total de ácidos grasos de los triglicéridos, mientras que el C18:2n-6 y C18:3n-3, representan aproximadamente el 2% (Scollan y col., 2006). En animales rumiantes, los ácidos grasos en los triglicéridos son influenciados por la dieta, aunque como fue previamente mencionado, en una menor extensión que en los monogástricos debido a la biohidrogenación de los ácidos grasos dietarios en el rumen. La proporción de AGPI en los fosfolípidos es mucho mayor que en los triglicéridos, los mismos contienen no sólo los ácidos grasos esenciales C18:2n-6 y C18:3n-3 si no también sus derivados de cadena larga. Dannenberg y col., (2004) reportaron que la proporción de AGPI en el músculo de toros Holstein de 630kg de peso vivo fue del 37-41% relativo al 2% en los triglicéridos. Los fosfolípidos juegan roles

centrales en las funciones de la membrana celular y la composición de los AGPI es estrictamente controlada por el complejo de enzimas responsables de la conversión del C18:2n-6 y C18:3n-3 en sus derivados de cadena larga. Los fosfolípidos son menos influenciados por la dieta, sin embargo pueden ocurrir diferencias en el contenido de los ácidos grasos poliinsaturados. Por ejemplo, la alimentación con pasturas puede producir acumulación de ácidos grasos n-3 tanto en los fosfolípidos como en triglicéridos comparado con la alimentación con concentrados (Dannemberger y col., 2004).

Se ha reportado que el contenido de AGS y AGMI incrementa rápidamente con el incremento de los niveles de grasa intramuscular, mientras que el contenido de AGPI lo hace lentamente, llevando a una disminución en la proporción relativa de AGPI y consecuentemente de la relación AGPI/AGS en la carne (Scollan y col., 2006; Barton y col., 2011). Por lo tanto los animales más magros podrían tener una mayor relación AGPI:AGS que los animales con mayor nivel de grasa intramuscular.(De Smet y col., 2004).

I.4.2. Forrajes y composición de ácidos grasos de la carne

El creciente interés por la relación entre dieta y salud por parte de los consumidores principalmente de países desarrollados, ha tenido un claro impacto en la demanda de productos alimenticios que se caractericen por ser saludables; lo que ha determinado notables cambios en los sistemas de producción animal, dirigidos hacia la obtención de productos que sean seguros, pero que al mismo tiempo posean efectos benéficos para la salud humana, es decir alimentos con características funcionales. Como consecuencia, la demanda de estos alimentos es cada vez mayor, por lo que la competitividad en el sector de la producción de carne habrá que ligarla a la capacidad de producir nuevos productos diferenciados, con características especiales. En el caso de la carne, el principal foco de atención se ha puesto en mejorar el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular.

En la actualidad se han realizado numerosos trabajos que tienen por objetivo la manipulación de los ácidos grasos tanto de la leche (Chibisa, Christensen, y Mutsvangwa, 2013), como de los huevos (Shinn y col, 2014) y de la carne (Duckett y col., 2013; Mapye y col., 2013; Pavan y Duckett, 2013) a través del manejo nutricional de los animales. El principal objetivo se ha centrado en reducir su proporción de AGS e incrementar la de AGPI, especialmente aquellos de la serie n-3, y la de CLA *cis*-9, *trans*-11.

Los forrajes como el pasto y trébol contienen altas proporciones (50-75%) de sus ácidos grasos totales como ácido α -linolénico (Dewhurst y col., 2006). En climas templados, el pasto, tanto fresco (pastoreo) como conservado, es usualmente la forma más económica de alimentación del ganado. La explotación del potencial del forraje como una alternativa a las fuentes marinas de AGPI constituye una importante estrategia nutricional dirigida a aumentar el contenido de AGPI n-3 en carne.

La carne proveniente de animales terminados con dietas a base de forraje no sólo presentaría un menor contenido total de grasa si no también un mejor perfil que la carne proveniente de animales terminados con altos niveles de concentrados (Pavan y Duckett, 2007; Duckett y col., 2013; Alfaia y col., 2009; Leheska y col., 2008; García y col., 2008; Nuremberg y col., 2005). Este mejor perfil de ácidos grasos se debería a una menor proporción de los ácidos grasos saturados que son más perjudiciales para la salud humana (C14:0 y C16:0) y a una mayor proporción de AGPI n-3. Esto generaría en la carne pastoril una mayor proporción de AGS considerados neutros para la salud humana (C18:0) y una menor relación AGPI n-6: AGPI n-3 respecto a la proveniente de sistemas de engorde a corral; en los cuales dicha relación podría incluso llegar a situarse por encima del valor de 4 recomendado por los organismos de salud (Daley y col., 2010).

La carne de animales terminados en pastoreo presentaría, a su vez, una mayor proporción del isómero *cis*-9, *trans*-11 del ácido linoleico conjugado, respecto a los

terminados a corral. Si bien, los precursores del CLA pueden encontrarse tanto en pasturas frescas como en los granos, los rumiantes en pastoreo han mostrado tener una producción de CLA 2 ó 3 veces superior a la producida en rumiantes en confinamiento a corral o granos. Estas diferencias se deberían principalmente al pH generado en el rumen de los animales que se relaciona directamente a la actividad de la principal bacteria responsable de la biohidrogenación ruminal. La incorporación de granos en la dieta disminuye el pH ruminal, reduciendo la actividad del *B. fibrisolvens*; contrariamente las dietas basadas en pasturas generan un ambiente más favorable en el rumen para la subsecuente síntesis bacteriana (Bessa y col., 2000). En los animales alimentados con altos niveles de concentrado la acumulación de CLA en la carne es limitada por la baja producción de ácido *trans*-vaccénico en el rumen (Duckett y col., 2002; Sackmann y col., 2003). En contraposición, la disponibilidad del precursor no es limitante en animales en condiciones de pastoreo, pero sí lo es su conversión a CLA por la SCD (Daniel y col., 2004). Una mayor actividad de esta enzima explicaría los mayores niveles de AGMI depositados en la carne de animales terminados a corral (Smith y col., 2006). En la tabla I-4 y I-5 se detallan los resultados de estudios comparativos entre una dieta a base de pasto y otra a base de concentrados (granos) sobre la composición de ácidos grasos de la carne

Tabla I-4. Comparación de la composición media de ácidos grasos saturados (expresados como % de lípidos totales) y el contenido total de lípidos entre ganado vacuno alimentado con pasto y grano.

| Ácidos grasos | | | | | | | | |
|---|-------|------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|----------------|---|
| Autor | Dieta | C12:0 Laurico | C14:0 Mirístico | C16:0 Palmitico | C18:0 Estearico | C20:0 Araquidónico | AGS totales | Lípidos totales (unidades como se especifica) |
| Duckett y col., 2013 novillos Angus | Pasto | Na | 2.43* | 25.38 | 16.88* | Na | 44.74 | 2.19* g/100g AG |
| | Grano | Na | 2.76* | 26.61 | 13.05* | Na | 42.43 | 6.08* g/100g AG |
| Alfaia y col.,2009 novillos cruza | Pasto | 0.05 | 1.24* | 18.42* | 17.54* | 0.25* | 38.76 | 9.76* mg/g musculo |
| | Grano | 0.06 | 1.84* | 20.79* | 14.96* | 0.19* | 39.27 | 13.03* mg/g músculo |
| Leheska y col., 2008 ganado mixto | Pasto | 0.05 | 2.84* | 26.9 | 17.0* | 0.13* | 48.8* | 2.8* % de músculo |
| | Grano | 0.07 | 3.45* | 26.3 | 13.2* | 0.08* | 45.1* | 4.4* % de músculo |
| García y col., 2008 novillos Angus | Pasto | Na | 2.19 | 23.1 | 13.1* | Na | 38.4* | 2.86* % grasa intramuscular |
| | Grano | Na | 2.44 | 22.1 | 10.8* | Na | 35.3* | 3.85* % grasa intramuscular |
| Nuremberg y col.,2005 toros Simmental | Pasto | 0.04 | 1.82 | 22.56* | 17.64* | Na | 43.91 | 1.41* % de músculo |
| | Grano | 0.05 | 1.96 | 24.26* | 18.80* | Na | 44.49 | 2.61* % de músculo |

*indica diferencias significativas ($P < 0.05$) entre dietas dentro de cada estudio reportado respectivamente "Na" indica que el valor medio no fue reportado en el estudio original.

Tabla I-5. Comparación de la composición media de ácidos grasos poliinsaturados (expresados como % de lípidos totales) entre ganado vacuno alimentado con pasto y grano.

| | | Ácidos grasos | | | | | | | | | | | |
|--|-----------|------------------------|-----------------------|--------------|------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------|---------------|--------------|--------------|---------------------|
| Autor | Dieta | C18:1 t11 vaccénico | C18:2n-6 Linoleico | CLA total | C18:3n-3 Linolénico | C20:5 n-3 EPA | C22:5 n-3 DPA | C22:6 n-3 DHA | AGPI total | AGMI total | n-6 total | n-3 total | Relación n-6/n-3 |
| Duckett y col., 2013 novillos | Pasto | 3.48* | 2.62 | 0.97* | 1.20* | 0.55* | 0.85* | 0.09* | Na | 35.93* | 3.18 | 2.67* | 1.33* |
| | Angus | 0.15* | 2.67 | 0.35* | 0.24* | 0.09* | 0.21* | 0.03* | Na | 45.91* | 3.51 | 0.56* | 6.01* |
| Alfaia y col., 2009 novillos cruza | Pasto | 1.35 | 12.55 | 0.51* | 5.53* | 2.13* | 2.56* | 0.20* | 28.99* | 24.69* | 17.97 | 10.41* | 1.77* |
| | Grano | 0.92 | 11.95 | 0.26* | 0.48* | 0.47* | 0.91* | 0.11* | 19.06* | 34.99* | 17.08 | 1.97* | 8.99* |
| Leheska y col., 2008 ganado mixto | Pasto | 2.95* | 2.01 | 0.85* | 0.71* | 0.31 | 0.24* | Na | 3.41 | 42.5* | 2.30 | 1.07* | 2.78* |
| | Grano | 0.51* | 2.38 | 0.48* | 0.13* | 0.19 | 0.06* | Na | 2.77 | 46.2* | 2.58 | 0.19* | 13.6* |
| García y col., 2008 novillos | Pasto | 3.22* | 3.41 | 0.72* | 1.30* | 0.52* | 0.70* | 0.43* | 7.95 | 37.7* | 5.00* | 2.95* | 1.72* |
| | Angus | 2.25* | 3.93 | 0.58* | 0.74* | 0.12* | 0.30* | 0.14* | 9.31 | 40.8* | 8.05* | 0.86* | 10.38* |
| Nuremberg y col.,2005 toros | Pasto | Na | 6.56 | 0.87* | 2.22* | 0.94* | 1.32* | 0.17* | 14.29* | 56.09 | 9.80 | 4.70* | 2.04* |
| | Simmental | Na | 5.22 | 0.72* | 0.46* | 0.08* | 0.29* | 0.05* | 9.07* | 55.51 | 7.73 | 0.90* | 8.34* |

*indica diferencias significativas ($P < 0.05$) entre dietas dentro de cada estudio reportado respectivamente "Na" indica que el valor medio no fue reportado en el estudio original.

I.4.3. Suplementación con granos en la dieta

Los sistemas de producción de carne Argentina tradicionalmente han sido basados en el uso extensivo de pasturas naturales e implantadas. Sin embargo, dada la necesidad de incrementar los índices productivos, estos sistemas han sido forzados a intensificarse a través del uso de suplementaciones energéticas con grano de maíz (rico en C18:2n-6), durante distintos períodos del engorde para suplir déficits o desbalances nutricionales. Este tipo de estrategias impactan directamente en el perfil de ácidos grasos de la carne producida (Schor y col., 2008; García y col., 2008) pudiendo afectar negativamente el perfil de ácidos grasos por los cuales es reconocida la carne de los sistemas de producción tradicionales en Argentina.

Existen estudios que han reportado una modificación en el perfil de ácidos grasos de animales provenientes de sistemas pastoriles suplementados con granos en la dietas para su terminación. Duckett, Pratt y Pavan, (2009) reportaron un incremento en las proporciones de C14:0 y C16:0 en carne de novillos en pastoreo suplementados con 0.52% del peso vivo con grano de maíz. Asimismo, estos autores observaron un fuerte impacto negativo de la suplementación sobre la relación AGPI n-6:n-3, que incrementó en más de un 70% en aquellos novillos suplementados con maíz respecto a los alimentados exclusivamente sobre pasturas, este incremento fue principalmente generado por la mayor proporción de C18:2n-6 de los animales suplementados, pero no observaron modificación en el contenido de CLA en carne. En similar dirección, García y col., (2008) reportaron un aumento de la relación AGPI n-6:n-3 pero también una disminución de la proporción de CLA, C18:3n-3 y sus derivados de cadena larga en la carne de animales provenientes de sistemas pastoriles suplementados con 0.7% y 1% de grano de maíz partido, todos estos estudios utilizaron períodos de más de 100 días de suplementación. Chicatún y col., (2006) por su parte, observaron un incremento lineal en la relación

AGPI n -6: n -3 en carne cuando los animales fueron suplementados con 1 y 2% de grano de maíz por 60 días de terminación.

Estos antecedentes plantean la necesidad de encontrar alguna estrategia productiva que permita reducir estos impactos negativos sobre el perfil de ácidos grasos de la carne pastoril. La suplementación con AGPI n -3 a partir de fuentes ricas en dichos ácidos grasos constituye una herramienta sumamente interesante para poder incrementar el nivel de estos ácidos grasos en carne.

I.4.4. Suplementación con fuentes ricas en AGPI n -3

A pesar de la biohidrogenación ruminal una parte de los AGPI de la dieta pueden pasar intactos a través del rumen, absorbiéndose y depositándose en el tejido adiposo del animal como fue previamente mencionado.

Es así que diversos estudios han demostrado la posibilidad de incrementar el contenido de AGPI n -3 y por lo tanto mejorar la composición de ácidos grasos de la carne, a través de la utilización de suplementos dietarios enriquecidos en AGPI n -3 (Maddock, 2006; Nute y col., 2007; Mapye y col., 2013). El lino representa una fuente de gran interés para ser utilizado como suplemento dietario. Su semilla es única debido a su excepcionalmente alto contenido en ácido linolénico. La misma contiene de 35 a 45% de aceite, de los cuales del 45 al 52% es ácido linolénico (Snigh, et al., 2011). Por lo tanto, en animales alimentados con semilla de lino o su aceite, sería posible incrementar el contenido de AGPI n -3, especialmente el de C18:3 n -3 en los tejidos y disminuir la relación AGPI n -6: n -3. Se ha observado que la inclusión de C18:3 n -3 en la dieta de los animales también incrementa la concentración de EPA y la concentración de DHA en algunos (Herdmann y col., 2010) pero no en todos (Corazzin y col., 2013; Juárez y col., 2011) los estudios. Asimismo, en un estudio realizado por Noci y col., (2007) encontraron a través

de la suplementación de animales con aceite de lino sería posible incrementar substancialmente el contenido de CLA *cis*-9, *trans*-11 y de ácido trans-vaccénico en el músculo de vaquillonas en pastoreo. Juárez y col., (2011) por su parte, lograron incrementar en casi un 300% el contenido de C18:3n-3 de animales en el músculo de novillos en feedlot a través de la suplementación con el 10% de semilla de lino molida, lo que se tradujo en una disminución de la relación AGPI n-6: n-3 desde valores que superaban el valor de 4 a valores menores de 2. Sin embargo, estos autores no observaron efectos sobre la proporción de CLA o su precursor.

Para que la incorporación de los ácidos grasos n-3 sea más eficaz actualmente se están investigando nuevos métodos para proteger las grasas incluidas en la dieta de la fermentación ruminal. Por ahora, el procedimiento más efectivo para proteger los aceites consiste en utilizar formaldehído. Sin embargo, esto no está implantado a nivel comercial ni permitido por la normativa de muchos países. Por este motivo, se están estudiando nuevos procedimientos que conllevan a tratamientos térmicos o químicos de las semillas, incorporación de aceites en capsulas proteicas o simplemente añadir las semillas intactas a la dieta.

Las suplementaciones estratégicas con AGPI n-3, proporcionan la posibilidad de manipular y/o mejorar la composición de ácidos grasos de la grasa intramuscular de la carne de los rumiantes sin un incremento excesivo de la grasa total. Sin embargo, en ausencia de niveles adecuados de antioxidantes, un incremento excesivo en el contenido de AGPI en carne podría ser perjudicial en términos de estabilidad oxidativa durante el almacenamiento de la misma.

I.5. Deterioro oxidativo de la carne

Desde el descubrimiento del oxígeno en el temprano siglo XVIII y su inevitable rol en plantas y animales, la necesidad del control de sus niveles y su impacto en los alimentos y productos alimenticios, especialmente durante el procesamiento, empaque y distribución, ha constituido uno de los mayores desafíos para la industria de los alimentos. Básicamente, la oxidación involucra la pérdida de al menos un electrón cuando los compuestos químicos presentes en el alimento son expuestos al oxígeno del aire. El daño oxidativo de la carne constituye el principal factor no microbiológico responsable del deterioro de la calidad en carne y/o productos cárnicos durante su procesamiento. Esto se debe a que los lípidos y proteínas de la carne son muy susceptibles a sufrir daño oxidativo debido a la rápida disminución de los antioxidantes endógenos que ocurre después de la muerte del animal (Xiao y col., 2013). Se ha encontrado que la susceptibilidad a la oxidación de la carne también podría estar influenciada por la raza y la especie de los animales, el tipo de músculo y la localización anatómica del animal (Min y col., 2008). Los hallazgos de Faustman y Cassens (1991) realizados sobre dos razas de ganado vacuno revelaron que la carne de la raza pura Holstein mostraron una mayor oxidación lipídica (TBARS) que la carne proveniente de animales cruce. Dichos autores también reportaron que la carne proveniente del músculo *Gluteus medius* tuvo un mayor nivel de oxidación que la proveniente del músculo tipo *Longissimus*.

El tipo de dieta consumida por los animales durante la fase de producción tiene una gran influencia sobre la susceptibilidad de la carne a sufrir procesos de oxidación *post-mortem*. Nute y col., (2007) observaron que la inclusión de aceite de pescado a la dieta produjo carne con menor estabilidad en términos de oxidación, con reducida vida útil del color y estabilidad lipídica comparado con el uso de lino. Otros autores (Juárez y col., 2012) observaron una estabilidad oxidativa reducida en carne de novillos criados a feedlot luego de la suplementación con semilla de lino molida. La exposición de la carne al

oxígeno, luz y temperatura así como las técnicas de preservación y procesamiento, como la refrigeración, la congelación, aditivos (sal, nitritos, especias), cocción, irradiación, altas temperaturas y empaque, pueden influenciar la extensión de la oxidación. Actualmente, el daño oxidativo de la carne constituye uno de los principales problemas de la industria de la carne y productos cárnicos. Dicho factor compromete la calidad nutricional, limita la vida en estante, incrementa la toxicidad y disminuye el valor en el mercado de la carne y productos cárnicos (Sample, 2013). Sin embargo, la velocidad y la extensión de la oxidación puede ser retardada, reducida o prevenida a través de la incorporación de antioxidantes naturales al tejido muscular.

I.5.1. Oxidación lipídica.

Como ha sido explicado, los lípidos están ampliamente distribuidos en el espacio intra y extracelular de la carne como triglicéridos, fosfolípidos y esteroides. Sin embargo, los lípidos son químicamente inestables y, por lo tanto, fácilmente susceptibles a la oxidación, especialmente durante la manipulación y el almacenamiento *post-mortem*.

La oxidación lipídica, es una reacción química en cadena que requiere de tres etapas (Iniciación, Propagación, Terminación). Y como resultado final se producen sustancias, algunas de las cuales, presentan sabores y olores desagradables. Estos olores y sabores son muy característicos e inmediatamente se los asocia con el gusto a "rancio", incluso algunas pueden ser tóxicas para el ser humano. Algunas de estas reacciones también pueden contribuir a cambios de textura mediante uniones covalentes a las proteínas musculares.

Mecanismos de oxidación de los lípidos

En alimentos, los lípidos pueden oxidarse por medios de mecanismos enzimáticos y no enzimáticos. La oxidación por **vía no enzimática** es un proceso no espontáneo, primero se deben formar radicales libres de los sustratos lipídicos. La misma puede tener lugar mediante dos mecanismos que implican diferentes formas de oxígeno: la autooxidación, con la participación del oxígeno triplete ($^3\text{O}_2$, estado fundamental y más estable del oxígeno), y la fotooxidación, con la participación del oxígeno singulete ($^1\text{O}_2$, estado excitado y más reactivo del oxígeno). En ambos mecanismos se forman los mismos productos finales pero lo hacen de forma distinta ya que la reacción directa de los AGPI con el oxígeno triplete está termodinámicamente impedida. Así, para que tenga lugar la autooxidación debe formarse un radical alquilo del AGPI, el cual ya puede reaccionar con el oxígeno triplete. En cambio, en la fotooxidación, al reaccionar el oxígeno triplete con un fotosensibilizador en estado excitado pasa a oxígeno singulete, el cual puede reaccionar directamente con los AGPI sin necesidad de formar radicales alquilo. Aunque ambos mecanismos pueden tener lugar de forma simultánea, la auto-oxidación (oxidación en presencia de oxígeno molecular) es la más habitual y es la responsable primera de la alteración de las características nutritivas y sensoriales de los alimentos.

La auto-oxidación, después de su etapa de iniciación, se transforma en una reacción en cadena de difícil control, aumentando su velocidad muy rápidamente en un corto espacio de tiempo. En la Figura I - 6 se presentan las diferentes reacciones químicas que se producen a lo largo la oxidación de los lípidos.

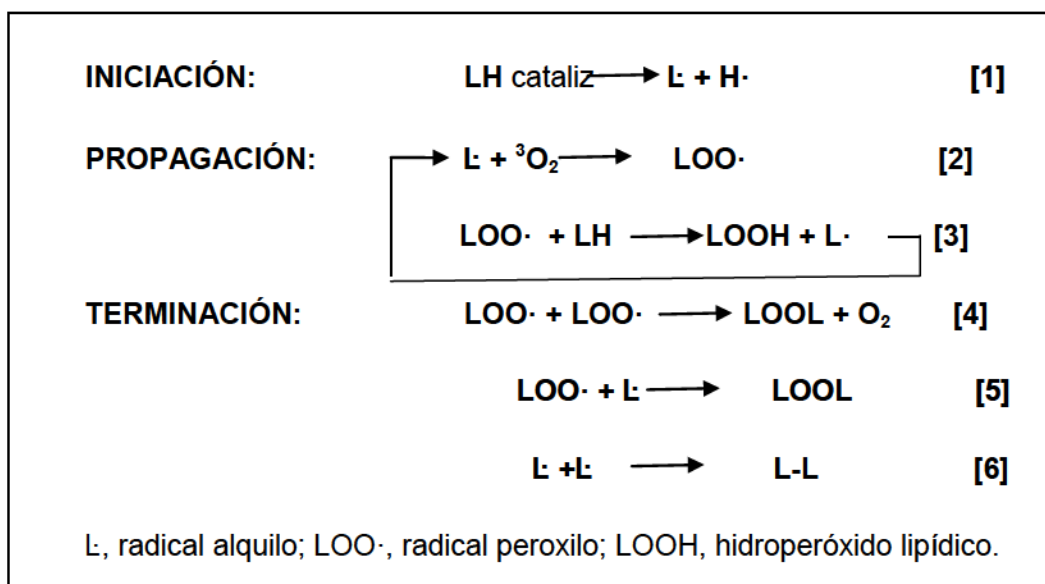


Figura I-6. Mecanismo de auto-oxidación. [1]Iniciación; [2] y [3] Propagación, [4] [5] [6] Terminación

Iniciación

En un comienzo, debido a la inestabilidad de algunas moléculas orgánicas y a la presencia de uno o más factores catalizadores, se forma el primer radical libre. A partir que una molécula de ácido graso pierde un protón (reacción 1, figura I-6). Los factores que más influyen en la formación de los radicales libres y que catalizan el proceso de oxidación son, entre otros: la presencia de iones metálicos en el producto (por ejemplo el hierro), el calor o la luz, la presencia de enzimas, un medio alcalino, la presencia de moléculas con alto nivel de insaturaciones en su estructura y la disponibilidad de oxígeno para reaccionar.

Propagación

Después de la etapa inicial, continua la de Propagación, donde el radical libre (muy reactivo por contener un electrón desapareado), es atacado por una molécula de oxígeno (tripleto) y se forma otro radical libre, el radical peróxido (LOO•). Este radical peróxido ataca a una nueva molécula de ácido graso, que también pierde un átomo de hidrógeno,

formando un hidroperóxido y un nuevo radical libre, iniciando un proceso en cadena. Si el oxígeno disponible es suficiente y ningún antioxidante está presente en el producto, esta etapa continuará degradando el producto (Reacciones 2 y 3, Figura I-6).

Terminación

Es la última etapa del proceso, durante la cual, dos radicales libres interaccionan entre sí formando un producto estable (reacciones 4-6, Figura 1-6). Los peróxidos se combinan, formando moléculas más estables y los hidroperóxidos forman diversas moléculas con funciones ácidas, aldehídicas, alcohólicas, cetónicas, etc. En esta etapa, todo el material es degradado irreversiblemente, llevando a la descomposición total del producto, generando olor rancio y cambio de color, demostrando la oxidación. El desagradable olor rancio es el resultado de la formación de varias moléculas volátiles, algunas de las cuales poseen sabor desagradable y son potencialmente tóxicas.

La susceptibilidad de las sustancias orgánicas a la auto-oxidación depende de la capacidad de donar hidrogeno. Los ácidos grasos más insaturados son más susceptibles a iniciar la auto-oxidación que los saturados. Por lo tanto la susceptibilidad de la oxidación de los lípidos dependerá de la cantidad de AGPI presentes en la carne.

En la **fotooxidación** de un alimento, el pasaje de oxígeno triplete a oxígeno singulete ocurre mediante la reacción con un fotosensibilizador en estado excitado (S^*) en la molécula del alimento (Figura I-7). Estas sustancias fotosensibilizadoras son moléculas con elevado número de dobles enlaces en su estructura como lo son por ejemplo la clorofila, ó hematoporfirina, como la mioglobina en carne, pueden pasar a un estado excitado mediante la absorción de luz (principalmente uv, aunque también la visible) y generar por lo tanto oxígeno singulete (Decker, Fausman y Lopez-Bote, 2000).

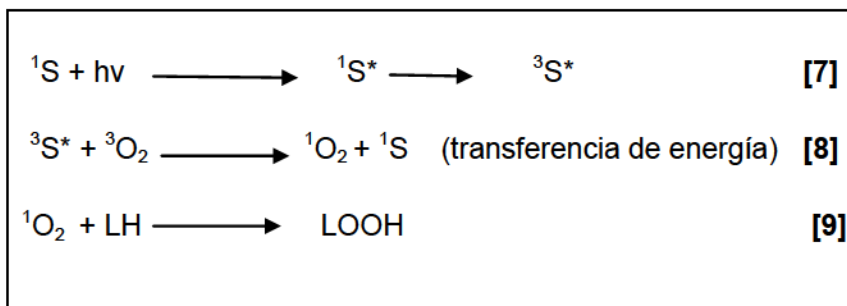


Figura I-7. Mecanismo de Foto-oxidación. Formación fotosensibilizador excitado [7]; transformación de oxígeno triplete a singlete [7]; Reacción del oxígeno singlete con el AG [8]

I.5.2. Oxidación de pigmentos

Desde el punto de vista sensorial, el deterioro oxidativo de la carne está relacionado con la oxidación de pigmentos. Este hecho es de suma importancia ya que el color de la carne representa la principal propiedad organoléptica que los consumidores utilizan al momento de definir su compra (Biffaretti, 2008; Troy y Kerry, 2010)

El principal pigmento responsable del color de la carne es la Mioglobina, cuya molécula consta de un grupo proteico, la globina, y de un grupo prostético hemo, con un átomo de hierro y un anillo de porfirina que consta de cuatro grupos pirrólicos (Figura I-8). El átomo de hierro presenta seis enlaces de coordinación, cuatro de los cuales están ocupados por el anillo de porfirina, y con el quinto se une al nitrógeno imidazólico de la histidina de la cadena polipeptídica. El sexto enlace de coordinación queda libre para unirse al oxígeno o a otras moléculas, determinando las propiedades y el color del complejo (Fennema, 2000).

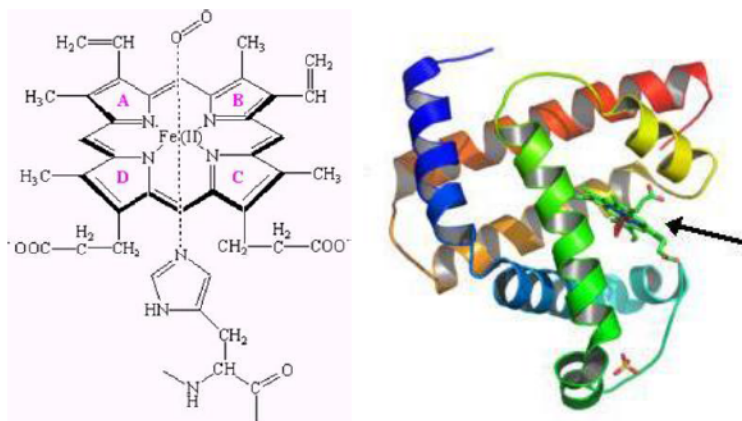


Figura 1-8. Izquierda. Esquema bidimensional del grupo hemo. Derecha. Esquema tridimensional de la mioglobina (la flecha señala al grupo hemo)

La mioglobina, en la carne fresca, está presente en tres formas diferentes que se intercambian constantemente (Kropf, 1993), el color de la carne está determinado por el estado que predomine en cada momento (Eagerman et al., 1977), (figura 1-9). La mioglobina reducida o deoximioglobina, de color rojo púrpura, contiene el hierro en estado ferroso (Fe^{+2}) y es caracterizado por la ausencia de un ligando en el sexto enlace de coordinación, la generación de deoximioglobina ocurre cuando la presión parcial de oxígeno es baja, como por ejemplo en el interior de la carne o en la carne almacenada al vacío (Renner, 1990). La Mioglobina oxigenada u oximioglobina, de color rojo brillante, con hierro ferroso (Fe^{+2}), se forma rápidamente después de la exposición de la deoximioglobina al oxígeno. En las carnes rojas la oximioglobina imparte el color rojo que los consumidores asocian con el estado de fresca de la carne (Faustman y Casens, 1990). El pigmento debe estar en estado ferroso para que la oxigenación pueda ocurrir y el oxígeno ocupe el sexto enlace de coordinación. Y por último, la mioglobina oxidada o metamioglobina, de color pardo, con hierro en estado férrico (Fe^{+3}); asociado con la falta de frescura de la carne. Ocurre cuando la carne se expone por un tiempo prolongado al medio ambiente. En este estado el sexto enlace de coordinación se encuentra ocupado

por el agua. La metamioglobina es incapaz de ligar oxígeno y por lo tanto, es fisiológicamente inactiva (Faustman y Cassens, 1990).

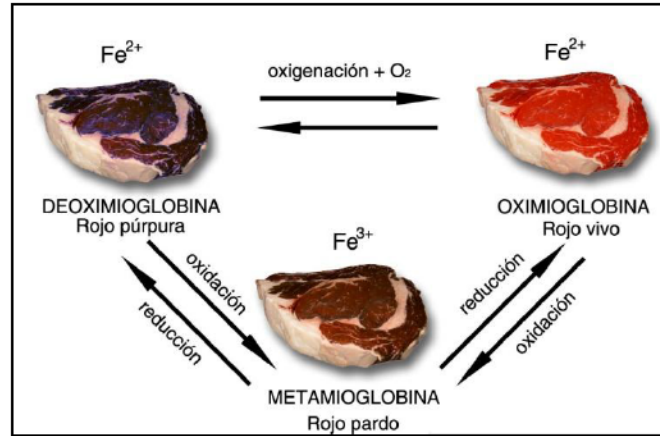


Figura I-9. Transformaciones de la mioglobina de la carne.

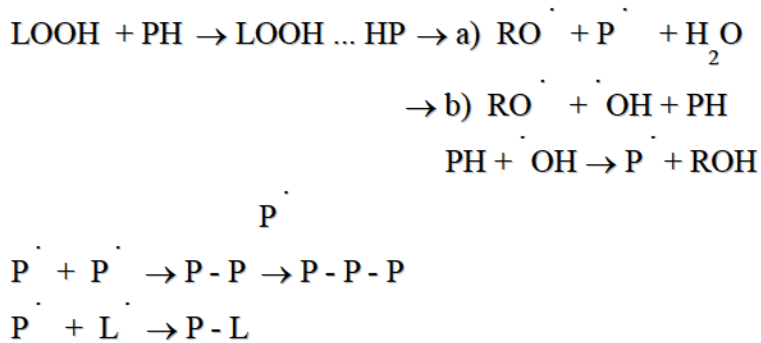
La formación de metamioglobina y la oxidación de los lípidos representan uno de los principales problemas de estabilidad durante la exposición en bandeja de la carne para ser comercializada en mercado minorista. La pérdida del color de la carne durante las condiciones de exhibición en bandeja puede ser considerada una función combinada de la oxidación de pigmentos musculares y la oxidación de los lípidos presentes en los fosfolípidos de membrana (Sherbeck y col., 1995). Es así que hay autores que han reportado una correlación positiva entre el incremento en el nivel de oxidación lipídica (TBARS), la formación de metamioglobina y la reducción del color rojo (valor a^*) en carne vacuna almacenada en condiciones de simulación comercial (vida en bandeja, con film PVC, exposición a la luz y $4^{\circ}C$) (Insani y col., 2007). Es decir, una mayor oxidación lipídica induciría una mayor oxidación de la mioglobina, generando metamioglobina (Lanari y col., 1996). Esta estrecha relación se puede generar porque los radicales libres producidos durante la oxidación lipídica actúan directamente como promotores de la oxidación hemínica y/o indirectamente alterando los sistemas de reducción de los pigmentos

(Renner, 1990). Por otra parte, la oxidación de los pigmentos también puede actuar como catalizador de la oxidación lipídica (Gatellier y col., 1995)

I.5.3. Oxidación de proteínas

La oxidación de proteínas representa una de las cuestiones más novedosas en la evaluación de la calidad de la carne. Esto es debido a que el tejido muscular contiene elevadas cantidades de proteínas que juegan roles centrales en la calidad de la carne respecto a las propiedades sensoriales, nutricionales y físico-químicas de la carne y productos cárnicos. La oxidación proteica puede ser generada por la interacción entre proteínas, especialmente los centros de nitrógeno, sulfuro o grupos aromáticos de los residuos de aminoácidos reactivos de las proteínas (PH) y los hidroperóxidos lipídicos (LOOH) ó productos secundarios de la oxidación lipídica como aldehídos o azúcares reductores (Baron, 2010). En la figura I-10. se muestran las reacciones de interacción lípido oxidado-proteínas. Se ha encontrado que estos productos de interacción tienen la capacidad de emitir fluorescencia, lo que permite su detección por técnicas espectroscópicas (espectroscopía de fluorescencia) (Gatellier y col., 2007).

Reacciones por radicales libres



Reacciones de Condensación (Browning no enzimático)

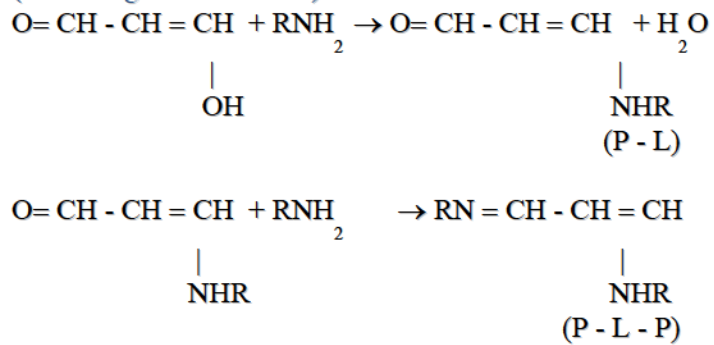


Figura I-10. Reacciones químicas de la interacción lípidos oxidados- Proteínas

La reacción de los radicales con las proteínas del músculo y péptidos en presencia de oxígeno aumenta la modificación del grupo amino de la cadena, la formación de entrecruzamientos intermoleculares de proteínas y fragmentación y agregación de proteínas (Lund y col., 2011). La modificación del grupo amino de la proteína resulta en la formación de grupos tioles, hidroxilación aromática y grupos carbonilos (Stadman, 1990). El entrecruzamiento proteico ha sido descrito como la formación de disulfuros y ditirosina a través de la pérdida de residuos de Cisteína y Tirosina (Estevez, Ollilainen y Heinoen, 2009). De acuerdo con Estevez y col., (2008), la modificación de las proteínas musculares es el resultado de la desnaturalización y proteólisis que inducen cambios en la calidad de

la carne que incluyen, características de textura, color, aroma, flavor, capacidad de retención de agua y funcionalidad biológica. La oxidación proteica induce múltiples cambios físico-químicos y del valor nutricional en las proteínas de la carne, involucrando una disminución en la biodisponibilidad de los aminoácidos proteicos, cambios en la composición de aminoácidos, disminución de la solubilidad proteica debido a la polimerización de las mismas, pérdida de actividad proteolítica, y alteración en la digestibilidad de la proteína (Levine y col., 1990; Lund y col., 2011).

De lo anteriormente expuesto, queda claro que la oxidación lipídica y proteica están muy asociados con el proceso de deterioro que puede afectar las características globales de la calidad de la carne y sus productos.

1.5.4. Antioxidantes

La oxidación tanto en los alimentos como in vivo puede ser evitada o frenada por acción de los antioxidantes. El término “antioxidante” se atribuye generalmente “a toda sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones, con respecto a las de un sustrato oxidable, retarda o previene la oxidación de dicho sustrato” (Halliwell y Gutteridge, 1990). De tal manera que, al reaccionar con el radical libre la sustancia antioxidante le cede un electrón oxidándose a su vez y transformándose en un radical débil, con escasos o nulos efectos tóxicos.

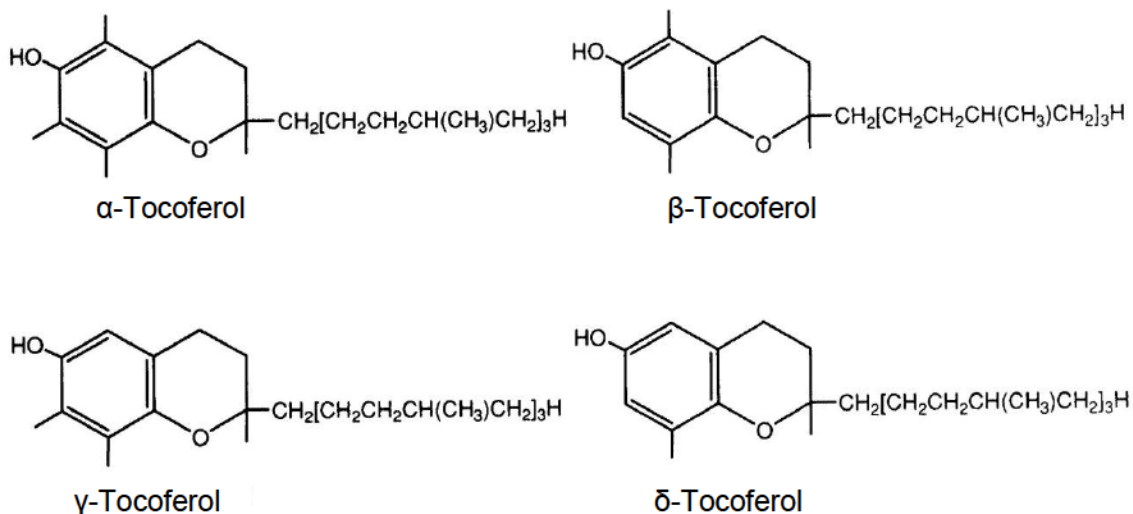
Entre los distintos antioxidantes podemos encontrar tanto sustancias naturales como artificiales. Sin embargo, el uso de estos últimos (butilhidroxianisol, butilhidroxitolueno, etc) ha sido cuestionado desde el punto de vista de la seguridad alimentaria ya que diversos estudios clínicos han comprobado un efecto tóxico en relación a la salud humana (Van Esch, 1996). Existen también varias enzimas, de gran relevancia biológica, cuya actividad consiste en la destrucción de productos de oxidación. Tienen diferente estructura, especificidad de sustrato, actividad y localización. Entre ellos se encuentran la

superóxido dismutasa (SOD), la catalasa, y la glutatión peroxidasa (GPX), sin embargo su actividad es muy reducida en el músculo del animal después de muerto. Por ello, los antioxidantes aportados por la dieta consumida por los animales juegan un rol preponderante en lo que respecta a la estabilidad oxidativa de la carne y sus productos durante su manipulación y almacenamiento post-mortem.

Antioxidantes naturales en alimentos

Los principales compuestos antioxidantes encontrados en la naturaleza y alimentos son compuestos fenólicos, entre los que encontramos los tocoferoles, polifenoles, ácidos fenólicos y lignanos que están ampliamente distribuidos en plantas.

Los tocoferoles son compuestos monofenólicos derivados del cromanol (Figura I-11). Existen 8 isoformas, siendo el α -tocoferol el que presenta mayor actividad antioxidante. Se caracterizan por ser muy liposolubles por lo que son los antioxidantes más importantes encontrados en las grasas y aceites comestibles.



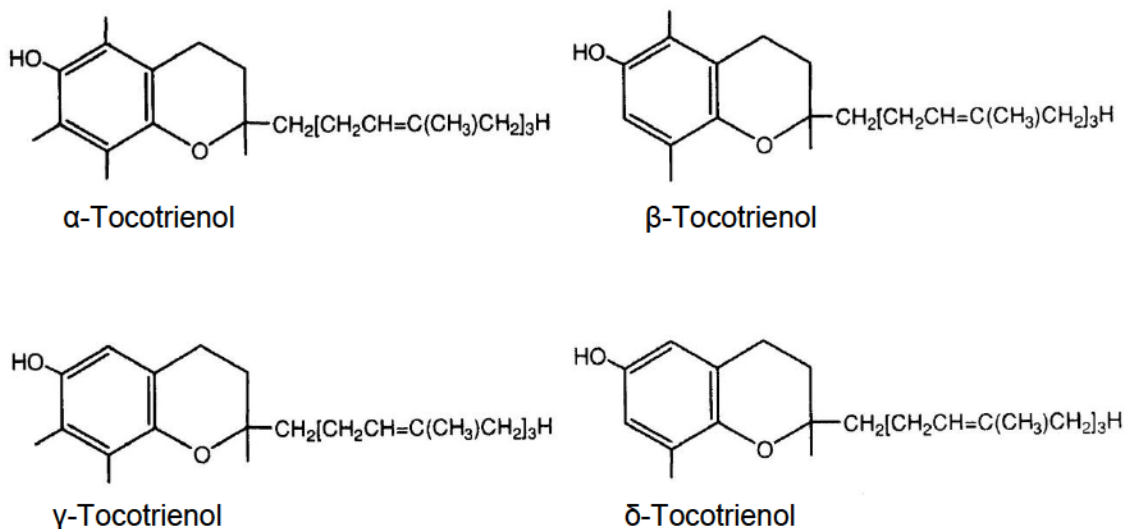


Figura I.11. Estructura de los Tocoferoles y Tocotrienoles (Choe y Min, 2009)

Los **polifenoles** son también compuestos fenólicos con actividad antioxidante. Los flavonoides son los mayores representantes de las plantas. Entre ellos se encuentran la flavona, flavonol y flavanona, entre otros. La solubilidad de los flavonoides en grasas y aceites es muy baja y su rol en la oxidación lipídica no es significativo; sin embargo en ciertos casos como en emulsiones estos pueden contribuir a disminuir la oxidación de la fracción lipídica.

Los **ácidos fenólicos** están muy relacionados a los flavonoides, entre ellos encontramos a los ácidos hidroxicinámicos, ácidos hidroxibenzoicos entre otros. Al igual que los flavonoides su actividad como antioxidantes en lípidos también es limitada por problemas de solubilidad.

Los **lignan**os químicamente son sustancias polifenólicas, son fenilpropanoides derivados de la fenilalanina y contienen actividad antioxidante. Existen una gran variedad de compuestos, los diglucósidos del secoisolariciresinol han sido encontrados en semilla de lino (Touré y Xueming, 2010).

El **ácido ascórbico**, el ascorbato de sodio y el ascorbato de calcio son hidrosolubles y tienen limitación como antioxidantes en grasas y aceites.

Los **carotenoides** son terpenoides polienoicos que contienen doble enlaces conjugados en posición *trans*. Aquí se incluyen a los carotenos (β -caroteno y licopeno) y las Xantófilas (Luteína, zeaxantina, capsantina, canthaxantina, astaxantina y violaxantina) (Figura I.12). Los carotenoides son liposolubles y juegan un importante rol en la oxidación de grasas y aceites. El caroteno es el mayor carotenoide en lípidos y el β -caroteno es el más estudiado.

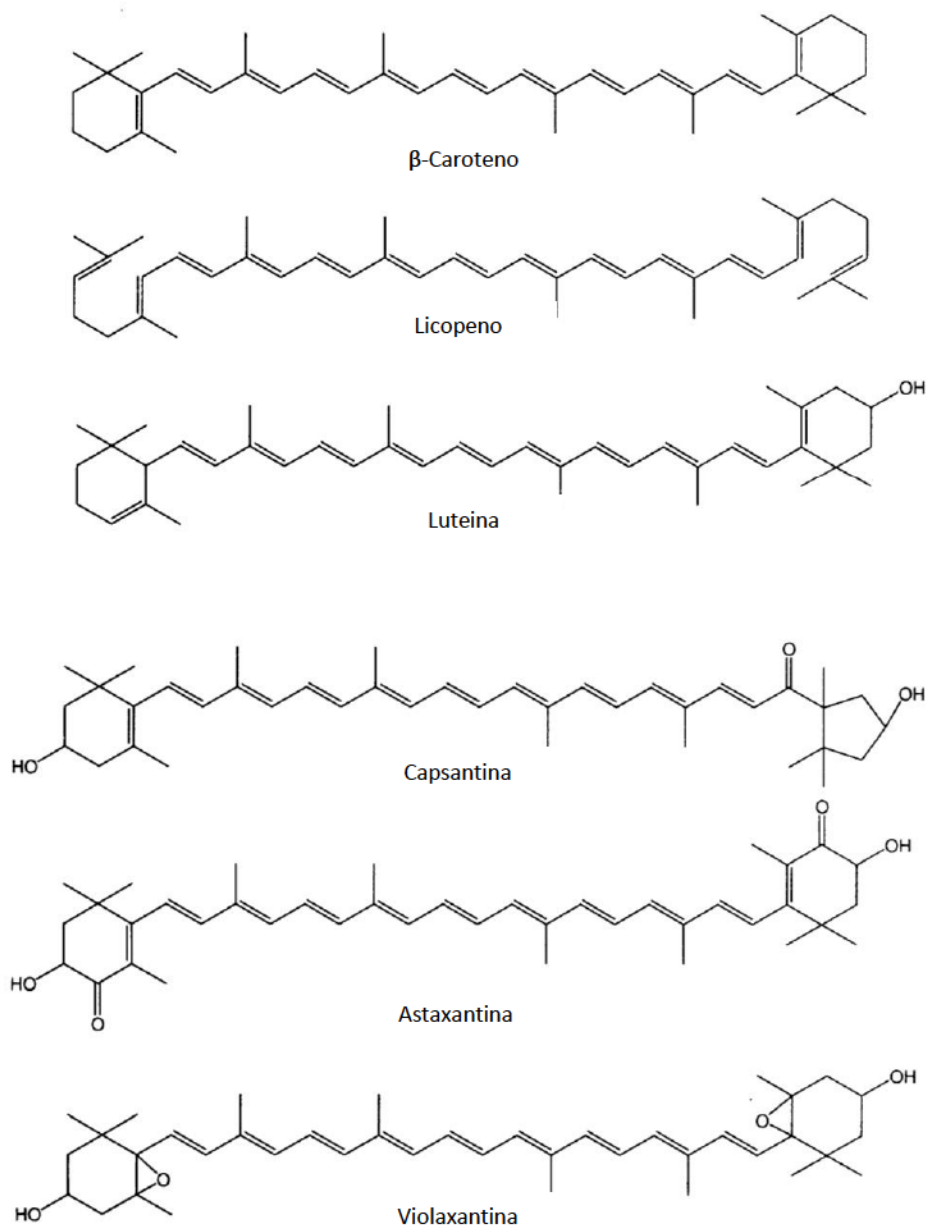


Figura I.12. Estructura de los carotenoides (Choe y Min, 2009)

Mecanismos antioxidantes en la oxidación de alimentos.

Tradicionalmente los antioxidantes no enzimáticos se han dividido en dos grupos: antioxidantes primarios o eliminadores de radicales y los antioxidantes secundarios o que previenen la oxidación. Los antioxidantes primarios son capaces de inhibir la iniciación y la propagación de las reacciones de oxidación mediante la inactivación de los radicales libres ($L\cdot$, $LO\cdot$, $LOO\cdot$) que participan en las reacciones oxidativas convirtiéndolos en productos estables (Figura I-13). Los antioxidantes primarios son principalmente compuestos fenólicos (AH) que pueden donar un átomo de hidrógeno o un electrón al radical libre convirtiéndolo en un producto estable (LH, LOH, LOOH) (Apak y col, 2007). A su vez, el antioxidante como consecuencia de esta reacción se oxida formándose un radical estable que no propaga la reacción de oxidación ($A\cdot$). Los antioxidantes secundarios son compuestos que actúan impidiendo o disminuyendo la formación de radicales libres.

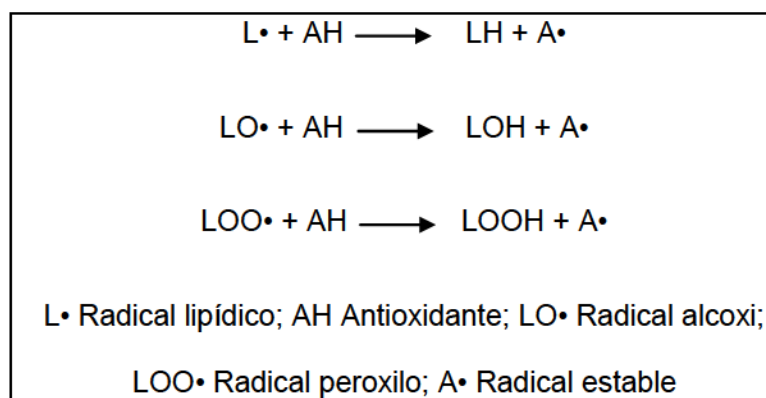


Figura I-13. Mecanismo de acción de los antioxidantes primarios

La efectividad de los antioxidantes para eliminar radicales libres de los alimentos depende de la energía de disociación del enlace entre el oxígeno y un hidrógeno fenólico, el pH relacionado a la constante de disociación ácida, y el potencial de reducción y deslocalización de los radicales antioxidantes (Choe y min, 2006; Cao y col, 2007). La

transferencia del hidrógeno desde el antioxidante a los radicales peroxilos o alquilos de los alimentos se favorece termodinámicamente cuando la energía de disociación para el enlace O-H en el antioxidante es baja (Cao y col, 2007). La energía de disociación para el O-H de los antioxidantes fenólicos corresponde a 70-80 kcal/mol y disminuye en orden $\delta > \gamma > \beta > \alpha$ -tocoferol (Wright y col 2001), dicha energía permite también predecir la estabilización de los radicales antioxidantes (menor energía mayor estabilidad del radical). Los antioxidantes con menor energía de disociación son entonces, donantes de hidrógenos más eficientes y por lo tanto, mejores antioxidantes. El potencial de reducción permite predecir la facilidad de un compuesto de donar hidrógenos a los radicales alimentarios; cuanto mayor es el potencial de reducción de los radicales antioxidantes, mayor es la capacidad para donar hidrógenos de los antioxidantes (Choe y Min, 2005).

Los carotenoides con más de 9 doble enlaces conjugados son buenos desactivadores ó “quenchers” (por transferencia de energía) del oxígeno singulete, su actividad depende del número de dobles enlaces conjugados que contenga su estructura (Beutner y col, 2001; Foss y col, 2004) y de los sustituyentes β del anillo. El β -caroteno y el licopeno que tienen 11 dobles enlaces conjugados son más efectivos para desactivar el oxígeno singulete que la luteína que tiene 10 dobles enlaces conjugados (Viljanen y col, 2002). En tanto que los carotenoides que continen menos de 9 doble enlaces conjugados prefieren la inactivación de los fotosensibilizadores en lugar del quenching del oxígeno singulete. (Viljanen y col, 2002).

1.5.5. Modificación del perfil de antioxidantes en carne.

Mediante el uso de estrategias nutricionales no sólo es posible mejorar el perfil de ácidos grasos de la carne, y por lo tanto su valor nutricional, sino que también es posible modificar y/o mejorar su perfil de antioxidantes. Con ello no sólo se lograría un producto

con características funcionales por su mejor perfil de ácidos grasos, sino también por su contenido en antioxidantes naturales (Valenzuela, Sanhueza y Nieto, 2003). Un incremento en el contenido de antioxidantes en carne permitiría a su vez, reducir los fenómenos de oxidación lipídica e incrementar por lo tanto, la vida útil de la carne y/o productos cárnicos en almacenamiento.

La alimentación del ganado con pasturas proporciona de antioxidantes naturales que son eficientemente incorporados al músculo. Es decir, los antioxidantes naturales son incorporados en el interior de las membranas celulares resultando ser más efectivos que aquellos antioxidantes adicionados post-mortem para la preservación del daño oxidativo de la carne (Kerry y col., 1998).

El antioxidante primario natural por excelencia es el α -tocoferol. Este no puede ser sintetizado por el animal, por lo que su presencia en el organismo y los tejidos depende del aporte por la dieta. El α -tocoferol es una vitamina liposoluble usualmente identificada como vitamina E, aunque otros tocoferoles también presentan alguna actividad de vitamina E: D- α -tocoferol, D- β -tocoferol, D- γ -tocoferol, D- δ -tocoferol y D- α -tocotrienol mostrando respectivamente, 1.49, 0.75, 0.30, 0.15 y 0.45 unidades de actividad (Machlin, 1984). La carne proveniente de animales alimentados en base a pasturas, es asociado con una mayor cantidad de antioxidantes en la forma de α -tocoferol, β -carotenos y flavonoides (Descalzo y Sancho, 2008; Daley y col., 2010), que estabilizan los ácidos grasos (Gatellier y col., 2005; Daley et al., 2010).

Como fue comentado, los productos de oxidación lipídica catalizan la oxidación de oximioglobina a metamioglobina. La acción directa del α -tocoferol sobre las membranas lipídicas es de alrededor 10^4 veces más rápido que la propagación de la peroxidación lipídica, que es posteriormente extendida a las proteínas. Por lo tanto, el α -tocoferol puede retrasar indirectamente la oxidación de la oximioglobina y por ende decoloración de la carne (Morrisey, Buckley y Galvin, 2000). Al mismo tiempo, el α -tocoferol puede

preservar la integridad celular de las membranas a través de la prevención de la oxidación de los fosfolípidos de membrana durante el almacenamiento, inhibiendo el pasaje de fluido sarcoplasmático a través de la membrana celular del músculo (Gray, Gomma y Bulckley, 1996).

Numerosos estudios, han demostrado que el ganado bovino terminado en pasturas incorpora mayores niveles de α -tocoferol en carne respecto al ganado alimentado con dietas altas en concentrados (Duckett y col., 2013; De la Fuente y col, 2009; Descalzo y Sancho 2008; Insani y col 2007; Descalzo y col, 2005; Realini y col, 2004; Yang y col., 2002a) (Tabla I-6). Algunos de estos estudios provienen de países como Argentina y Uruguay cuyo principal sistema de producción se basa en alimentación del ganado bovino a pasto.

Tabla I-6. Comparación del contenido promedio de α -tocoferol en carne fresca proveniente de animales alimentados a pastura y animales alimentados a grano

| Autor, año, clase de animales | α -Tocoferol | |
|--|---|--|
| | Alimentación a Pasto ($\mu\text{g/g}$ de tejido) | Alimentación a granos ($\mu\text{g/g}$ de tejido) |
| Duckett y col., 2013, novillos Angus | 3.12 | 1.40 |
| De la Fuente y col., 2009, ganado vacuno mixto | 4.07* | 0.75* |
| Descalzo y Sancho, 2008, novillos cruza | 3.08* | 1.50* |
| Insani y col., 2007, novillos cruza | 2.1* | 0.8* |
| Descalzo y col., 2005, novillos cruza | 4.6* | 2.2* |
| Realini y col., 2004, novillos raza Hereford | 3.91* | 2.92* |
| Yang y col., 2002a, novillos cruza | 4.5* | 1.8* |

*Indica diferencias significativas ($P < 0.05$) entre regímenes de alimentación dentro de cada estudio respectivo

Como se observa en la tabla I.6. la concentración de α - tocoferol natural encontrado en carne proveniente de animales alimentados en base a granos estuvo en el rango de 0.75 a 2.92 $\mu\text{g/g}$ de músculo mientras que el rango de valores encontrado en carne de animales alimentados en base a pasturas fue de 2.1 a 4.6 μg de α -tocoferol/ g de músculo. La terminación de animales en pastoreo incrementa los niveles de α -tocoferol tres veces más respecto a aquellos finalizados a grano, lo cual colocaría a los animales terminados en base a pasturas dentro del rango del nivel de α -tocoferol necesario para extender la vida en bandeja de la carne (3-4 $\mu\text{g/ g}$ de tejido)(McClure y col., 2002; Liu y col., 1996 ; Arnold y col., 1993).

Los **carotenoides** pertenecen a una familia de compuestos que son sintetizados por las plantas superiores como pigmentos naturales de las mismas. Las Xantófilas, caroteno y licopeno son responsables de las coloraciones amarillas, naranjas y rojas respectivamente. Los rumiantes alimentados con altas raciones de forrajes pasan una porción de los carotenoides ingeridos a la leche y a la grasa corporal de una manera que aun no ha sido totalmente dilucidada (Daley, et al., 2010). El ganado bovino producido bajo sistemas de producción extensivos basados en pastos, generalmente tienen en la carcasa una grasa mas amarillenta respecto al ganado alimentado con altos niveles de concentrados. Aunque el color amarillo de la grasa es considerado como un atributo negativo en muchos países del mundo, también es asociado con un perfil de ácidos grasos más saludable y a un mayor contenido de antioxidantes naturales (Dunne y col., 2009). Los carotenos (principalmente β -caroteno) son precursores del retinol (vitamina A), una importante vitamina liposoluble asociada a la visión normal, crecimiento oseo, reproducción, división y diferenciación celular (Scott y col., 1994). Específicamente, es responsable del mantenimiento del revestimiento superficial de los ojos y también del revestimiento de los tractos respiratorios, urinario. La total integridad de las membranas de la piel y las mucosas es mantenida por la vitamina A, creando una barrera a la

infección contra bacterias y virus (Hunninghake y col., 2000). Además, la vitamina A está involucrada en la regulación de la función inmune soportando la producción y función de las células blancas de la sangre (Beauchesne-Rondeau y col., 2003; Melanson y col., 2003). El efecto de la alimentación del ganado en pastoreo sobre el contenido de β -caroteno de la carne fue descrito por Descalzo y col. (2005), quienes encontraron que los novillos alimentados sobre pasturas incorporaron significativamente mayor cantidad de β -caroteno dentro del tejido muscular comparado con animales alimentados a granos. Las concentraciones fueron 0.45 $\mu\text{g/g}$ y 0.06 $\mu\text{g/g}$ para carne proveniente de animales alimentados a pasturas y grano respectivamente, demostrando un incremento por sobre 7 veces en los niveles de β -caroteno para los alimentados a pasturas respecto a sus contrapartes alimentados a base de granos. Similares resultados han sido reportados previamente, presumiblemente debido a la elevada cantidad de β -caroteno en pasturas frescas comparado a granos de cereales (Duckett y col., 2013; Wood y Enser, 1997; Simonne y col., 1996; Yang y col., 2002a) (Tabla I-7)

Tabla I-7. Comparación del contenido medio de β -caroteno en carne fresca proveniente de ganado bovino alimentado a pasto y a granos.

| Autor, año, clase de animal | Contenido de β -caroteno | |
|---------------------------------------|---|--|
| | Alimentación a pasto ($\mu\text{g/g}$ de tejido) | Alimentación a granos ($\mu\text{g/g}$ de tejido) |
| Duckett y col., 2013, novillos Angus | 0.50 | 0.06 |
| Insani y col., 2007, novillos cruza | 0.74* | 0.17* |
| Descalzo y col., 2005, novillos cruza | 0.45* | 0.06* |
| Yang y col., 2002a, novillos cruza | 0.16* | 0.01* |

*indica diferencias significativas ($p < 0.05$) entre regímenes de alimentación dentro de cada estudio respectivamente.

Por otra parte, Walshe y col. (2006) reportaron concentraciones de alrededor de 0.152 $\mu\text{g/g}$ de tejido y 0.116 $\mu\text{g/g}$ de β - caroteno en el musculo Longissimus de novillos alimentados bajo un sistema orgánico y convencional de crianza respectivamente, así mismo observaron alrededor de 0.11 $\mu\text{g/g}$ de retinol (forma activa de la vitamina A) en carne proveniente de ambos sistemas de crianza. Mientras que Sampels, Pickova y Wiklund (2004) reportaron 0.03, 0.09 y 3.79 $\mu\text{g/g}$ de retinol, γ -tocoferol y α -tocoferol respectivamente en terneros alimentados con una mezcla de alimentos en pellet.

La concentración de los carotenoides, sus retinoides derivados y las formas menores de la vitamina E incorporadas en músculo deben ser consideradas en la prevención de la oxidación. Si bien, sus concentraciones permanecen hasta un orden por debajo de los niveles de α -tocoferol, sus actividades tienen gran importancia debido a la actividad biológica que ejercen para prevenir el daño tisular. Particularmente, el γ -tocoferol tiene la habilidad de proteger contra los radicales libres del nitrógeno, mientras que el α -tocoferol no la tiene (Jiang y col., 2001). Además, el β -caroteno coopera con los tocoferoles en la capacidad de barrido de radicales dentro de las membranas lipídicas (Tsuchihashi y col., 1995). Por lo tanto, los carotenoides y tocoferoles contribuyen a la protección de los tejidos contra los efectos deletéreos del oxígeno singulete. El β -caroteno, por otra parte, actúa a bajas presiones parciales de oxígeno como inactivador ó “quencher” de los productos de peroxidación lipídica (Kennedy y Lieber, 1992).

I.6. Almacenamiento

La carne es un producto muy susceptible a sufrir deterioro si no se acondiciona correctamente luego de la faena. La mejor manera de evitar su deterioro y mantener sus características de frescura es el almacenamiento refrigerado (-2 y 5°C) en conjunto con el envasado al vacío; ésta metodología es utilizada para el transporte terrestre y marítimo de

la carne fresca de exportación (IPCVA, 2007). Durante el almacenamiento refrigerado la carne es madurada, donde ocurre la proteólisis enzimática de las proteínas miofibrilares, generada principalmente por el complejo enzimático de μ -calpaínas. En este período incrementa la ternura de la carne y se producen una serie de componentes volátiles relacionados al flavor de la misma.

El recubrimiento con película plástica (“overwrap”) es un método de envasado utilizado en la venta de carne fresca en los supermercados. En este sistema la carne es colocada en una bandeja semirrígida que se envuelve con un plástico transparente y permeable a los gases. La película (derivado de vinilo o polietileno) que se utiliza en este tipo de envasado tiene una baja permeabilidad a la humedad, una alta permeabilidad al O_2 . Con la utilización de este tipo de envases se logra inicialmente un color rojo-brillante de la carne gracias a la formación de oximioglobina, sin embargo la conservación del color de la carne podría limitarse a cortos períodos (8 días) por alcanzar valores superiores al 40-50% de metamioglobina (Roncalés-Rabinal, 2010), y consecuentemente un color marrón poco deseado.

Las tiendas de alimentos asignan un espacio relativamente amplio para poner a disposición del cliente los cortes de carne con alto valor comercial. Para atraer consumidores utilizan carteles atractivos, vitrinas de exposición y carteles brillantes. Las fuentes de iluminación varían ampliamente desde aquellas que se colocan en los techos, que pueden ser luces fluorescentes, incandescentes y de haluro de metal, hasta las luces colocadas dentro de la vitrina de exposición. Estos últimos usualmente son del tipo fluorescente, y son usados debido a que producen menos calor comparado con las otras dos. Como ha sido mencionado, las radiaciones luminosas son catalizadores de la oxidación, es decir, son prooxidantes. Esto significa que los procesos oxidativos causantes del deterioro de la carne serán más rápidos en presencia de luz y, por lo mismo, disminuirá su vida útil. Según lo reportado por Roncalés Rabinal, (2010) el efecto

de la iluminación fluorescente estándar sobre la velocidad de oxidación lipídica en carne, podría superar en casi dos veces a la velocidad de oxidación de la carne almacenada en oscuridad.

La presencia de alfa-tocoferol en el tejido, aumenta la vida útil y mejora el color de la carne durante su exposición en bandeja. Los resultados de Dunne y col. (2005) indicaron una disminución lineal del color rojo (parámetro a^*) durante la vida útil en bandeja de muestras de Longissimus dorsi, que habían sido madurados durante 21 días. La carne de los animales que habían recibido suplemento de vitamina E mostraron una extensión de su vida útil de 2.5 a 3.25 días. En este aspecto los resultados obtenidos por Insani y col., (2007) mostraron que las carnes de animales terminados con dietas a base de forraje conservaron también el color rojo durante mayor tiempo que las procedentes de alimentación con grano y con menor contenido de vitamina E en el tejido. Es necesario estudiar si los antioxidantes aportados por las pasturas son suficientes para prevenir ó evitar el daño oxidativo durante la exposición en bandeja de carne enriquecida en AGPI-3 (peroxidables), obtenida por suplementación de animales en pastoreo con fuentes ricas en estos ácidos grasos.

CAPITULO II

OBJETIVOS

El **objetivo general** de esta Tesis Doctoral es evaluar estrategias productivas que permitan la obtención de carne mejorada en el perfil de ácidos grasos. Estudio de los efectos de la mejora del perfil de ácidos grasos sobre la estabilidad oxidativa y la vida útil bioquímica y organoléptica del producto madurado.

Objetivos específicos:

1. Evaluar los cambios en la composición de ácidos grasos cuatro categorías de faena de animales en Argentina alimentados sobre pasturas: Análisis del perfil de ácidos grasos en la fracción total y neutra de dos músculos de alto valor comercial (*Longissimus Dorsi* y *Gluteus Medius*).
2. Evaluar el efecto de la suplementación con grano de maíz (tradicional) y la adición de niveles crecientes de semilla de lino a novillos en pastoreo de dos pesos (livianos y pesados) sobre la composición de ácidos grasos del músculo *Longissimus Dorsi*.
3. Determinar el efecto que la suplementación de animales en pastoreo con grano de maíz y niveles crecientes de semilla de lino tiene sobre el estado antioxidante y la estabilidad oxidativa de la carne madurada al vacío y expuesta a condiciones aeróbicas.
4. Evaluar el efecto de protección de los antioxidantes liposolubles naturalmente incorporados al tejido

CAPITULO III

**CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE CATEGORÍAS
VACUNAS DE FAENA CRIADAS EN SISTEMA PASTORIL: analisis de los lípidos
totales y neutros de dos músculos de elevado valor comercial.**

III.1. Incremento del peso de animales en pastoreo

Ante una demanda internacional e interna de carne vacuna creciente y sostenida tanto en volumen como en precio, se plantea la necesidad de incrementar la producción nacional de carne para poder abastecer ambos mercados (Rearte, 2007). Esta necesidad a nivel país se presenta en un período en que la ganadería ha visto reducida su superficie por la importante expansión agrícola, limitando su capacidad de incrementar la producción de carne a través de un aumento del stock ganadero. El aumento en la producción nacional de carne se logrará entonces si se incrementa la eficiencia productiva (Rearte, 2007). Si bien existen varias definiciones de la eficiencia productiva, la que generaría el mayor impacto en la producción de carne sería la proporción de los animales totales del stock ganadero que son faenados anualmente (eficiencia de stock). Dado que para producir un ternero/a se requiere la misma inversión de recursos, independientemente si éste luego produce una res de 158 o 283 kg, otra forma de mejorar la eficiencia productiva es modificar, además de la cantidad, el peso de los animales faenados.

Por otra parte, al momento de definir la calidad del producto existe entre los consumidores un creciente interés por factores relacionados con la salud (Grunert, 2006), habiéndose generado en el mercado un nicho de consumidores dispuestos a pagar un mayor valor por productos que se caractericen por ser más saludables (Killinger y col., 2004).

Como se ha visto en el capítulo I, la carne proveniente de animales terminados con dietas a base de forraje presentaría no sólo un menor contenido total de grasa, sino también un mejor perfil de ácidos grasos en lo que respecta a la salud humana (menor proporción de AGS perjudiciales para la salud humana y mayor proporción de AGPI ω -3 y CLA *cis*-9, *trans*-11) en comparación a la carne proveniente de animales terminados con altos niveles de concentrados

Contrariamente a los AGPI que se encuentran mayoritariamente en los fosfolípidos, el CLA se acumula principalmente con la fracción de los triglicéridos; como la relación fosfolípidos: triglicéridos en el músculo disminuye en la medida que el animal acumula grasa intramuscular, la proporción de los distintos ácidos grasos también es modificada con el nivel de terminación del animal (Duckett y col., 1993). Si bien existe información al respecto utilizando dietas altas en concentrados, hay poca información de dicha variación en animales en pastoreo, en especial para los cambios en la concentración de CLA en carne. Se ha observado que la expresión de la enzima stearoil CoA desaturasa (SCD), responsable de la conversión de TVA a CLA y de los AGS a AGMI, es menor en animales en pastoreo que en aquellos alimentados con dietas altas en concentrados (Daniel y col., 2004; Pavan, 2006). Esto genera que el ácido vaccénico trans-11 se acumule en la carne de animales en pastoreo, y que las estrategias de alimentación que buscan incrementar el contenido de CLA en la carne a través de mayor producción de su precursor sean ineficientes (Pavan, 2006; Pavan y Duckett, 2007). Martin y col. (1999) observaron que la expresión de la SCD se incrementa con el peso/edad del animal. Asimismo, Barton y col. (2011) encontraron que las hembras presentarían una mayor expresión del gen de la SCD respecto a machos de similar edad de faena. En consecuencia, se esperaría un mayor contenido de CLA en vaquillonas pesadas que en vaquillonas livianas y que en novillos tanto por un mayor nivel de engrasamiento como por una mayor actividad de la SCD.

A pesar de que un mayor peso de faena es una de las alternativas más importantes que permitirían satisfacer la demanda de carne vacuna, en la actualidad, la comercialización del ganado vacuno en Argentina castiga la producción de animales pesados. El precio que el productor recibe por la comercialización de su ganado en el mercado de hacienda (Mercado de Liniers) está directamente asociado al peso de los animales; el cual disminuye en la medida que incrementa el peso de los mismos, a su vez ésta depreciación es aún más acentuada en hembras que en machos (Mercado de

Liniers, 2014). Si bien, ésta desvalorización es atribuida en parte, a una disminución de la ternera de la carne conforme aumenta el peso/edad de faena, las evidencias al respecto no son concluyentes (Shorthose y Harris, 1990; Wulf y col., 1996; Field y col., 1996). Por otra parte, en un estudio preliminar realizado por nuestro grupo de investigación (Lucero-Borja, y col., 2014), se demostró que el menor valor comercial de las vaquillonas pesadas respecto a vaquillonas livianas o a novillitos de similar peso no estaría asociado con un menor valor organoléptico de la carne producida, pues este resultó igual o mayor en las vaquillonas pesadas. Es necesario estudiar, por lo tanto, la modificación del perfil de ácidos grasos de la carne de estas categorías de animales provenientes de sistemas pastoriles.

Se espera que un mayor peso de faena en las categorías de faena de animales provenientes de sistemas pastoriles incremente la deposición de grasa intramuscular total y neutra (triglicéridos) y de la proporción ácidos grasos benéficos para la salud humana (AGMI y CLA cis-9, trans-11) en sus músculos.

El objetivo de este capítulo es estudiar los cambios en el contenido de grasa, en la composición de ácidos grasos y relaciones de interés nutricional de la fracción total y neutra de dos músculos de elevado valor comercial (*Longissimus dorsi* y *Gluteus medius*) proveniente de cuatro categorías de animales definidas por el sexo y el peso/edad de faena: Novillos pesados, Vaquillonas Pesadas, Vaquillonas Livianas y Vaca de refugo, terminados en condiciones pastoriles. Asimismo, se evalúa la actividad de la enzima SCD a través de índices de estimación de la misma.

III.2. MATERIALES Y MÉTODOS

III.2.1. Animales y Tratamientos

El trabajo experimental a campo se realizó en la reserva experimental nº7 de la Estación Experimental Agropecuaria del INTA Balcarce (Lucero-Borja y col., 2014). Se

utilizaron un total de cuarenta animales raza Aberdeen Angus provenientes del mismo rodeo de cría. Al destete (marzo-abril, 2007) se seleccionaron 20 terneras que fueron posteriormente asignadas de manera aleatoria a dos tratamientos definidos por el peso de faena: vaquillonas livianas (VL; 300-340 kg de peso vivo) y vaquillonas pesadas (VP; 381-420 kg de peso vivo). Al mismo tiempo, se seleccionaron 10 terneros machos para ser faenados al alcanzar el peso necesario para ser clasificados en la categoría novillos pesados (NP; 391-430 kg de peso vivo). En el siguiente ciclo productivo (Marzo del año 2008), se seleccionaron diez vacas diagnosticadas sin preñez que ya habían tenido al menos dos lactancias (VC). Hasta alcanzar su peso de faena el conjunto de animales pastorearon una pastura consociada (10 hectáreas; *Medicago sativa*, *Lolium perenne*, *Bromus unioloides*, y *Festuca aurundinacea* entre las principales especies), utilizando un sistema de pastoreo rotativo.

Cuando el grupo de animales asignados a cada tratamiento alcanzó el peso medio correspondiente a su categoría se enviaron a faena, excepto en el caso de VC que se faenaron después de dos meses de engorde (> 400 kg de peso vivo). Las faenas se efectuaron en frigoríficos comerciales de la zona.

III.2.2. Recolección de muestras:

A las 24 h *postmortem*, se extrajo la porción entre las costillas 9^{na}-12^{da} del músculo *longissimus* (LM) y todo el *gluteus medius* (GM) de la media res izquierda. Los cortes se trasladaron en conservadoras provistas con hielo en escamas para evitar el deterioro de la carne, desde el frigorífico hasta el laboratorio de Calidad de Carnes INTA, EEA Balcarce. Una vez en el laboratorio, los distintos cortes (LM y GM) se almacenaron en cámara a 2- 4°C, hasta el día siguiente en que se procesaron.

A las 48 horas *post-mortem* se procedió al procesamiento de las muestras. Así, de la cara caudal de la sección del LM se cortó una muestra de carne de 2.5 cm de espesor

correspondiente a la 12ª costilla y una muestra de igual espesor del músculo GM. Luego de eliminar todo el tejido graso y tejido conectivo periférico, todas las muestras de carne fueron colocadas en bolsas termo termo-contraíbles CRYOVAC, envasadas al vacío con una envasadora MULTIVACK y almacenadas a -25°C hasta su posterior análisis. Previo al análisis las muestras fueron liofilizadas utilizando un equipo FreeZone 12 (LABCONCO, Missouri, USA), pulverizadas con una picadora de carne MOULINEX (AD5663C9) y almacenadas a -20°C hasta la subsecuente extracción de las fases lipídicas y análisis del perfil de ácidos grasos.

Durante el período experimental se tomaron periódicamente muestras de las pasturas consumidas por los animales. Las mismas fueron liofilizadas y almacenadas a -20°C hasta su posterior análisis de composición de ácidos grasos. La tabla III.1 muestra el perfil de ácidos grasos de la pastura consumida por los animales durante el período de pastoreo.

III.2.3. Determinación del contenido de humedad

Se determinó el contenido de humedad y la materia seca (MS) de las muestras de los músculos y pasturas por secado en estufa. De cada muestra de músculo y pastura en fresco se pesó una submuestra de 1g en una balanza analítica marca Denver de 0.001g de precisión. Se llevó a secado en estufa a 100°C hasta obtener peso constante. Antes de pesar el residuo seco, las muestras se llevaron a temperatura ambiente en un desecador. Las muestras fueron analizadas por duplicado. Se calculó el % de materia seca como: $(\text{Peso de muestra húmeda} - \text{peso de muestra seca}) / (\text{peso de muestra seca}) \times 100$.

III.2.4. Extracción de lípidos intramusculares

El tejido adiposo intramuscular fue extraído siguiendo el procedimiento descrito por Folch, Less y Sloane-Stanley (1957) con pequeñas modificaciones. Para ello se preparó una mezcla de solvente de extracción conformado por cloroformo: metanol en una

proporción de 2 a 1, a la cual se le adicionó como compuesto antioxidante un 0.05% de butil hidroxi tolueno (BHT).

Se pesaron por duplicado 0.300 g de tejido muscular liofilizado en tubos de ensayo con tapa de teflón de 35 ml de capacidad, a los que posteriormente se les adicionó 0.700 ml de agua para recomponer el contenido acuoso de la muestra fresca. A continuación se agregaron 15 ml de la mezcla de solvente de extracción y se homogeneizó por 3 minutos en un vortex (Janke and Kunkel, IKA Labortechnik, Staufen, Germany). El homogenato así obtenido fue almacenado por 24 h en heladera a 4°C; la muestra fue filtrada con papel de filtro Whatman # 4 (Whatman Ltd., Maidstone, UK) y la torta residual del filtrado fue lavada con 5 ml adicionales de solvente de extracción. Se adicionó un volumen de 1 ml de cloruro de sodio al 0.58% y 1 ml de agua destilada al líquido filtrado para favorecer la separación de la fase no polar (Cloroformo + lípidos) de la polar (metanol + agua). Posteriormente, se procedió a agitar vigorosamente en vortex por 5 min y se centrifugó en ultracentrífuga refrigerada (6K15, SIGMA, Osterode, Germany) a 1500 rpm por 5 min a 4°C para la separación de fases. Se removió la fase superior (metanólica) mediante vacío (sifón) y la fase inferior se la vertió a través de un embudo conteniendo papel de filtro y sulfato de sodio anhidro para absorber la fase acuosa residual.

El filtrado conteniendo el lípido intramuscular extraído fue transferido a un tubo ensayo pre-pesado y se almacenó por 24 h en un freezer a -20°C. La muestra fue evaporada en un baño seco termostatzado a 60°C bajo corriente de nitrógeno hasta peso constante. Se determinó el contenido total de lípidos totales por diferencia de pesada.

III.2.5. Separación de la fracción lipídica Neutra

Para la separación de la fracción neutra (triglicéridos) se utilizaron cartuchos de extracción en fase sólida de intercambio aniónico o fase normal (adsorbente: aminopropil); (Strata 500 mg, 3 ml reservoir, Phenomenex, Torrance, CA, United States). Las muestras

de lípidos extraídas (sección III.1.4) fueron reconstituidas en 1 ml de cloroformo y entonces aplicadas a los cartuchos de extracción en fase sólida previamente acondicionados 3 veces con 3 ml de cloroformo. La fracción de lípidos neutros fue eluida con 5 ml de cloroformo y recolectada en un tubo de ensayo pre-pesado. Para este procedimiento se utilizó un dispositivo montado a una bomba de vacío (Figura III.1). Las fracciones lipídicas obtenidas fueron evaporadas a sequedad en baño seco a 60°C bajo corriente de nitrógeno hasta peso constante. Se determinó el contenido de lípidos neutros por diferencia de pesada (Peso tubo con lípido-Peso tubo vacío). Los tubos de ensayo conteniendo los lípidos neutros (triglicéridos) fueron venteados con nitrógeno, cerrados herméticamente y almacenados en freezer a -20°C hasta el posterior análisis del perfil de ácidos grasos.



Figura III.1. Separación de la fracción lipídica neutra por cartuchos de extracción en fase sólida.

III.2.6. Determinación del perfil de ácidos grasos en carne y pasturas

Se determinó el perfil de ácidos grasos de los lípidos totales directamente sobre las muestras de músculo y pasturas liofilizadas así como sobre la fracción lipídica neutra extraída y separada previamente (sección III.2.5). Se utilizó un cromatógrafo de gases

CLARUS 500 (PerkinElmer, Shelton U.S.A) equipado con auto-sampler MO61-LF-517 (SLO-SYN), con inyector Split, y detector de ionización en llama, con columna capilar de sílica fundida WCOT Varian, Inc CP 7420 (100 m/ 0.25 mm id/0.28 μ m espesor). Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes: la temperatura del horno se incrementó de 150°C a 160°C a 1°C por minuto, desde 160 °C a 167 °C a 0.2 °C por minuto, desde 167°C a 225°C a 1.5°C por minuto, y se mantuvo a 250°C durante 16 min. Las temperaturas del inyector y detector fueron mantenidas a 250°C. El volumen de inyección de la muestra fue de 1 μ l. Se utilizó nitrógeno como gas transportador, a un flujo de 1 ml/min. Se utilizaron dos corridas con diferentes Split ratios (1:100 y 1:10) con el fin de lograr por un lado una adecuada separación de los ácidos grasos que se encuentran en mayor proporción y por otro detectar aquellos que se encuentran en bajas concentraciones. Los ácidos grasos individuales fueron identificados por comparación de los tiempos de retención con estándares (Sigma, St. Louis, MO; Supelco, Bellefonte, PA; Matreya, Pleasant Gap, PA). Los ácidos grasos fueron cuantificados por incorporación de un estándar interno, el ácido metil tricosanoico (C23:0), durante el proceso de transmetilación.

La transmetilación o esterificación de los ácidos grasos se realizó siguiendo el procedimiento de Park y Goins (1994). A 10 mg de la fase grasa contenida en un tubo se le agregó 0.5 ml de Cloruro de Metileno y 1ml de metóxido de sodio en metanol, se venteó con nitrógeno y se llevó a baño seco termostatzado por 10 minutos a 90 °C. Se agregó 1 ml de fluoruro de boro que actúa como catalizador de la reacción, se venteó con nitrógeno y se llevó a baño seco por 10 minutos a 90°C. Luego de enfriar los tubos bajo corriente de agua fría se agregó 1ml de una solución de ácido metil tricosanoico (C23:0) en hexano (0.5 mg/ml) y 1 ml de agua destilada. Se llevó a una ultracentrífuga refrigerada (4°C) a 1500 rpm por 5 minutos para separación de fases y se transfirió la fase superior (lípidos transmetilados) a un tubo conteniendo sulfato de sodio anhidro para asegurar la ausencia

de restos acuosos. Los lípidos así transmetilados se transfirieron a un vial color ámbar. Este procedimiento transforma a los ácidos grasos en sus derivados más volátiles, los ésteres metílicos de ácidos grasos, condición necesaria para su posterior análisis por cromatografía gaseosa.

III.2.7. Análisis Estadístico de los datos

Los datos fueron analizados por un ANOVA como un diseño completamente aleatorizado con cuatro tratamientos de categorías (Vaquillona Pesada (VP), Vaquillona Liviana (VL), Novillo Pesado (NP) y vaca de refugio (VC)) para cada músculo por separado (LM y GM), y se utilizó el test de Tukey para las comparaciones de pares de medias, considerando como significativo un nivel de $P < 0.05$. Cada animal fue considerado como una unidad experimental. Se utilizó el procedimiento GLM del paquete estadístico de SAS para el análisis de los datos.

Tabla III.1. Principales ácidos grasos presentes en las pasturas consumidas por los animales

| Fecha | Jun- Jul | | Oct-Dic | | Ene- Mar | | Abr-Jun | | Jul-Sept | |
|-------------------|----------|------|---------|------|----------|-------|---------|-------|----------|------|
| | % | DS | % | DS | % | DS | % | DS | % | DS |
| C16:0 | 16.87 | 2.20 | 16.73 | 2.56 | 16.77 | 2.10 | 16.72 | 3.19 | 14.29 | 0.78 |
| C18:0 | 2.01 | 0.33 | 2.01 | 0.42 | 2.80 | 0.98 | 2.73 | 1.03 | 2.38 | 0.28 |
| C18:1 | 2.62 | 0.49 | 4.34 | 2.84 | 4.54 | 2.20 | 3.00 | 1.32 | 3.07 | 0.61 |
| C18:2 | 12.12 | 0.43 | 12.73 | 2.86 | 14.16 | 2.02 | 11.53 | 0.44 | 11.90 | 0.60 |
| C18:3 | 33.43 | 3.61 | 38.15 | 4.43 | 37.09 | 10.38 | 38.06 | 11.94 | 44.31 | 2.14 |
| AGS ^a | 23.67 | 3.58 | 22.86 | 3.19 | 24.32 | 3.80 | 24.75 | 5.83 | 20.83 | 1.13 |
| AGMI ^b | 3.91 | 0.52 | 5.01 | 2.85 | 5.31 | 2.38 | 4.34 | 1.79 | 4.72 | 0.73 |
| AGPI ^c | 46.95 | 3.89 | 52.10 | 3.43 | 52.59 | 7.60 | 50.61 | 11.46 | 57.39 | 3.04 |

^aSumatoria de todos los AGS desde el C14:0 to C22:0.

^bSumatoria de C14:1, C16:1, C18:1, C20:1.

^cSumatoria de C18:2, C18:3, C20:2, C20:3, C20:4, C20:5, C22:4 and C22:6

DS= Desvío Standard

III.2. RESULTADOS Y DISCUSION

III.2.1. Contenido de lípidos y perfil de ácidos grasos en los lípidos totales (LT) y neutros (LN) del músculo *Longissimus Dorsi* (LM).

Como se observa en la figura III.2. para el músculo *Longissimus* el contenido total de grasa intramuscular ó lípidos totales (%) fue superior en vaquillona pesada y vaca respecto al de novillos pesados, mientras que en vaquillonas livianas el contenido no difirió respecto a las restantes categorías de faena. Lo mismo ocurrió con la fracción neutra.

Los niveles de grasa intramuscular de todas las categorías de animales del presente estudio fueron similares a lo hallado en otros estudios de animales criados en sistemas pastoriles (Daley y col., 2010; Pavan y Duckett., 2013), el que resultó menor a los niveles reportados en músculo de animales alimentados con dietas altas en concentrados (Duckett y col., 1993; Lengyel y col., 2003, Duckett y col., 2013). La categoría con mayor nivel de grasa intramuscular, es decir vaquillonas pesadas, presentó en el músculo *longissimus* un promedio de 3.4% de lípidos, estos valores asegurarían el contenido de grasa necesario para que la carne presente una buena palatabilidad y aceptación a nivel consumidor, mientras que las restantes categorías presentaron valores menores al valor umbral del 3% necesario para asegurar una buena palatabilidad de la carne (National Research Council (US), 1988).

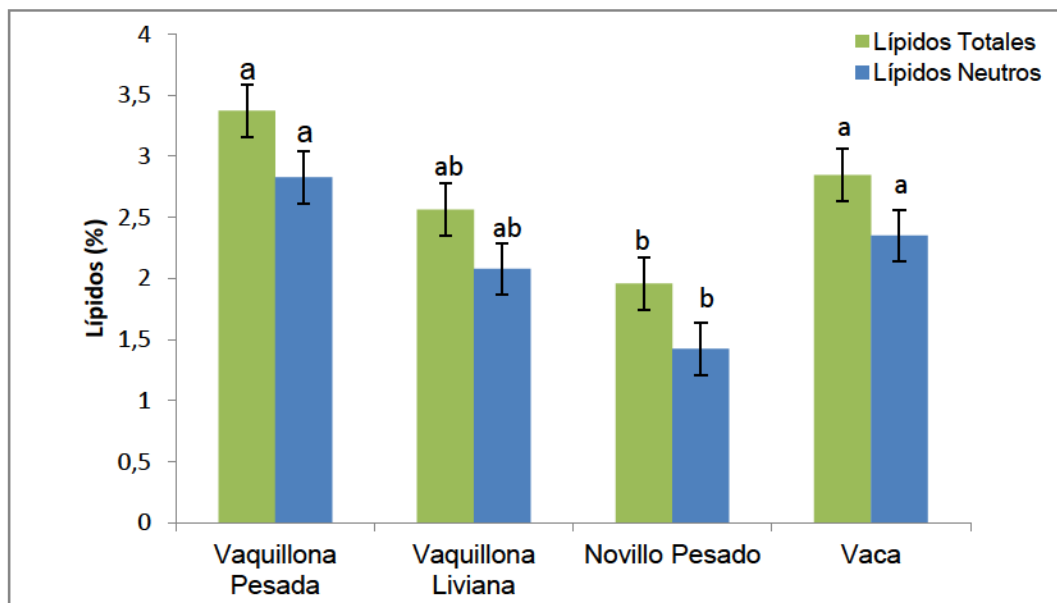


Figura III.2. Contenido de lípidos totales y neutros en el músculo *Longissimus Dorsi* de cada categoría de faena evaluada. Letras distintas dentro una misma fracción lipídica corresponden a diferencias significativas por el test de Tukey ($P < 0.05$).

En la tabla III.2. se muestra la concentración total de AG (g/100g de carne) y la proporción (g/100g AG) de los principales AG identificados en lípidos totales y neutros del músculo LM. Como era de esperar, tanto en lípidos totales como en neutros VP mostró mayores ($P < 0.05$) concentraciones de ácidos grasos respecto a VL y NP; esto se corresponde con los mayores niveles de lípidos intramusculares de la categoría vaquillona pesada. Sólo en la fracción neutra la concentración de ácidos grasos de VC mostró diferencias significativas a las restantes categorías, presentando mayores niveles que NP pero menores a los de VP. Las diferencias en el contenido de ácidos grasos entre animales con diferente grado de madurez, edad o peso vivo así como entre razas y genotipos se explicarían en gran parte por el grado de terminación ó engrasamiento de los animales (De Smet, Raes y Demeyer, 2004). Otro factor que influye en el nivel de grasa es el sexo de los animales (Nürnberg y col., 1998), asociado al estado hormonal de los mismos (Irshad y col., 2012). Como se observa en la parte superior de la tabla III.2 la

concentración total de ácidos grasos (mg AG/100 g de músculo) fue 53.3% superior en los lípidos totales del músculo *longissimus* de las vaquillonas respecto a novillos de similar peso de faena. Zembayashi (1993) y Enser (1991) sugirieron por su parte, que estas diferencias entre machos y hembras se deberían a que las últimas son más precoces que los machos y alcanzan un mayor nivel de grasa en un tiempo menor.

Ácidos Grasos Saturados (AGS).

El efecto del sexo y edad de faena no fue significativo para la proporción total de AGS en la fracción total el músculo *Longissimus Dorsi* ($P = 0.99$), concordando con otros estudios (Barton y col., 2011) pero sí lo fue para la fracción de lípidos neutros ($P = 0.02$) donde se observó una mayor deposición de AGS en VC que en VL probablemente por una mayor síntesis de novo de AG en VC, mientras que VP y NP presentaron valores intermedios. El C16:0 fue el ácido graso mayoritario representando el 56.9% y 56.6 % del total de AGS para los lípidos totales y neutros respectivamente, seguidos por el C18:0 (24.8% y 37.5%) y el C14:0 (5.3% y 5.6%).

Ácidos Grasos Monoinsaturados (AGMI)

La proporción total de AGMI fue afectada por la categoría de faena ($P = 0.008$). En líneas generales, las diferencias encontradas en lípidos totales fueron reflejadas en la fracción neutra. La proporción de AGMI en los lípidos totales y neutros fue similar entre las categorías de hembras, pero todas estas (excepto VL) fueron mayores a las proporciones de novillo pesado. Estos cambios en el contenido total de AGMI se debieron a los cambios en el contenido de C18:1n-9; éste fue el ácido graso mayoritario representando alrededor del 34% del total de ácidos grasos de la carne y más del 85% del total de AGMI para ambos lípidos. Similares diferencias fueron reportadas por Barton y col, (2011) al comparar el perfil de ácidos grasos del músculo *longissimus* entre

vaquillonas y toros, dichos autores atribuyeron este resultado al mayor contenido de triglicéridos (ricos en AMI) en vaquillonas. Otros autores (Zhang y col., 2010) sugirieron un posible efecto de las hormonas sexuales sobre los sistemas enzimáticos que podrían afectar el metabolismo de los lípidos.

Ácido Linoleico Conjugado (CLA) y Ácido Transvaccénico (TVA)

El principal isómero del CLA encontrado en músculo fue el *cis*-9, *trans*-11 representando más del 60 % del CLA total. En los lípidos totales, la proporción de CLA *cis*-9, *trans*-11 fue similar para VP, VL y NP siendo en todos los casos mayores a la observada en VC; similar evolución fue observada para el ácido transvaccénico. En los lípidos neutros la proporción de CLA *cis*-9, *trans*-11 disminuyó con el incremento del peso de las hembras; asimismo tanto VL como NP mostraron las mayores proporciones de CLA *cis*-9, *trans*-11 como de su precursor, el ácido trans-vaccénico, en dicha fracción lipídica.

En la figura III.3 se presenta la variación en la concentración (mg/ 100g de carne) de CLA *cis*-9, *trans*-11 y del ácido trans-vaccénico del músculo *longissimus*; se observó que las concentraciones de ambos ácidos grasos fueron afectadas ($P < 0.05$) por la categoría de faena. Para la concentración de TVA vaquillonas pesadas promediaron los mayores valores, pero sólo difirió estadísticamente ($P < 0.05$) de VC. La concentración de CLA *cis*-9, *trans*-11 fue superior en vaquillona pesada que en vaca y novillo, pero intermedia para vaquillona liviana.

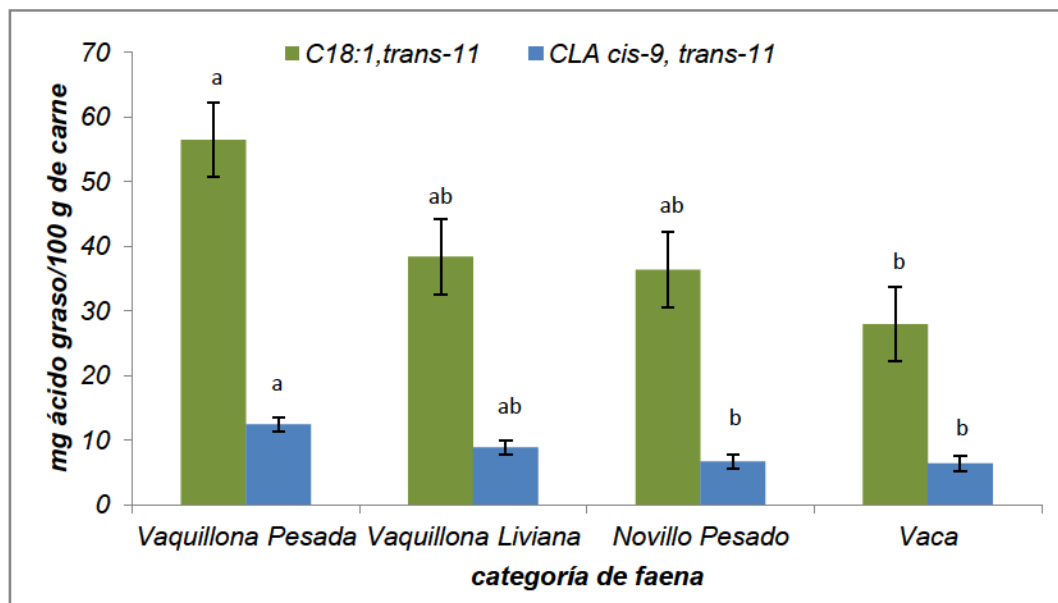


Figura III.3. Concentración de C18:1 *trans*-11 (mg /100g de tejido fresco) (barras verdes) y CLA *cis*-9, *trans*-11 (barras azules) en lípidos totales del músculo *Longissimus Dorsi* de cada categoría de faena. Letras distintas dentro una misma fracción lipídica corresponden a diferencias significativas por el test de Tukey ($P < 0.05$)

Tanto el C18:1 *trans*-11 como el CLA *cis*-9, *trans*-11 se acumulan preferentemente en los lípidos neutros (Scollan y col., 2003; Noci y col., 2005), es así que tal como ocurrió en el presente trabajo, un incremento en la concentración (mg/100g de músculo) de estos últimos generó un incremento de la concentración (mg/100g de músculo) de ambos ácidos grasos en la carne. Las menores proporciones de CLA *cis*-9, *trans*-11 en vaquillonas pesadas que en novillos pesados en lípidos neutros estaría también relacionado con la menor proporción de su precursor, el C18:1 *trans*-11. Las diferencias en la proporción de este último ácido graso podrían deberse a diferencias en su absorción intestinal que resulta entre otras cosas del consumo de AGPI y de su biohidrogenación ruminal (Bauman y col., 2003). Asimismo, de acuerdo a lo reportado por Moreno y col (2008) la menor proporción de CLA *cis*-9, *trans*-11 en músculo de animales con mayor

nivel de grasa intramuscular, podría haberse generado por la mayor deposición de otros ácidos grasos en el músculo (AGS, AGMI).

Ácidos Grasos Poliinsaturados (AGPI) y relaciones de interés nutricional

El efecto de la categoría de faena sobre el contenido total de AGPI fue significativo ($P < 0.0001$) para la fracción total. Se observó una disminución en el contenido de AGPI total del músculo al incrementar peso de faena de las hembras, similar tendencia fue observada para el C18:2n-6. El C18:3n-3 fue el principal representante de los AGPI n-3 y presentó mayores promedios en NP que en las restantes categorías de faena. Tanto los AGPI totales como el total de AGPI n-6 y AGPI n-3 fueron superiores en NP que en las dos categorías de hembras pesadas (VP y VC). La relación AGPI n-6:n3 fue superior en vaquillona liviana y novillo pesado (1.12 y 1.16 respectivamente) respecto a Vaquillona pesada y vaca (1.09 y 0.99 respectivamente). A diferencia con lo reportado en carne proveniente de animales alimentados con altos niveles de concentrados (Stelzleni y Johnson 2008; Alfaia y col., 2009), la carne proveniente de todas las categorías estudiadas en el presente trabajo mostraron tener el valor de AGPI n-6:n-3 por debajo del valor recomendado para mantener el equilibrio nutricional de la dieta humana, el cual no debería superar el valor de 4 (Jimenez-Colmenero, 2007).

Debido a la falta de efecto de los tratamientos sobre el contenido total de AGS, las diferencias en el contenido total de AGPI determinaron las diferencias sobre la relación AGPI:AGS, que disminuyó en la medida en el que el peso de las hembras incrementó, en tanto que los novillos pesados promediaron una mayor relación; esta menor proporción total de AGPI observada en las categorías más grasas, podría deberse a un efecto de dilución de los fosfolípidos de membrana asociado al incremento de triglicéridos ó lípidos neutros en carne (Karolyi, Đikić, Salajpal, & Jurić, 2009) ricos en AGS y AGMI; esto

generó una reducción en la relación AGPI:AGS concordando con lo reportado por otros autores (Barton y col., 2011; Moreno y col., 2008; Scollan y col., 2006). No obstante las diferencias fueron pequeñas y ninguna de las categorías alcanzó el valor de 0.45 recomendado para una dieta saludable. Los AGPI totales de la fracción neutra representaron alrededor de 1.9% del total de ácidos grasos neutros, su proporción fue similar entre las categorías de faena excepto en VC que mostró valores inferiores ($P < 0.05$), dicha diferencia fue reflejada en la proporción total de AGPI n-3. Al igual que en lípidos totales la proporción total de AGPI n-6 disminuyó al incrementar el peso de faena de las hembras en lípidos neutros, la categoría de NP promedió los mayores valores.

Tabla III.2. Concentración de AG (g/100g de carne) y proporción de AG (g/100g de AG) en lípidos totales y lípidos neutros del músculo LM de cada categoría de faena.

| | Lípidos Totales | | | | | Lípidos Neutros | | | | |
|--------------------------------|---------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|-----------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|-------|
| | Categoría de Faena ¹ | | | | | Categoría de Faena | | | | |
| | VP (n=10) | VL (n=10) | NP (n=10) | VC (n=10) | ES ² | VP (n=10) | VL (n=10) | NP (n=10) | VC (n=10) | ES |
| g AG/100g carne | 3.68 ^a | 2.29 ^b | 1.72 ^b | 2.64 ^{ab} | 0.303 | 2.37 ^a | 1.61 ^{bc} | 1.21 ^c | 1.83 ^b | 0.143 |
| AGS | | | | | | | | | | |
| C14:0 | 2.46 ^a | 2.46 ^a | 2.02 ^b | 2.38 ^{ab} | 0.10 | 2.84 ^a | 2.87 ^a | 2.50 ^b | 2.84 ^a | 0.06 |
| C16:0 | 25.38 | 24.90 | 23.87 | 25.14 | 0.57 | 27.05 ^a | 25.97 ^b | 25.59 ^b | 27.13 ^a | 0.26 |
| C18:0 | 15.79 | 16.19 | 17.60 | 16.33 | 0.50 | 16.56 ^b | 16.82 ^b | 18.80 ^a | 17.85 ^{ab} | 0.37 |
| Total AGS ³ | 43.62 | 43.55 | 43.49 | 43.85 | 0.89 | 46.45 ^{ab} | 45.67 ^b | 46.89 ^{ab} | 47.83 ^a | 0.48 |
| AGMI | | | | | | | | | | |
| C14:1 | 0.50 | 0.47 | 0.33 | 0.50 | 0.05 | 0.57 ^a | 0.54 ^a | 0.41 ^b | 0.57 ^a | 0.03 |
| C16:1n-7 | 2.90 ^a | 2.75 ^{ab} | 2.36 ^b | 2.85 ^{ab} | 0.14 | 3.07 | 3.04 | 2.81 | 2.98 | 0.12 |
| C18:1cis-9 | 34.37 ^a | 32.86 ^{ab} | 30.84 ^b | 33.42 ^a | 0.67 | 36.74 ^a | 35.38 ^a | 33.63 ^b | 36.35 ^a | 0.43 |
| C18:1trans-11 | 1.55 ^{ab} | 1.73 ^a | 2.14 ^a | 1.02 ^b | 0.17 | 1.60 ^b | 2.17 ^a | 2.67 ^a | 1.18 ^b | 0.14 |
| C18:1cis-11 | 1.67 | 2.06 | 1.89 | 1.99 | 0.15 | 1.40 ^a | 1.04 ^b | 1.03 ^b | 1.17 ^{ab} | 0.08 |
| C20:1n-9 | 0.12 | 0.12 | 0.11 | 0.12 | 0.01 | 0.11 | 0.13 | 0.12 | 0.11 | 0.01 |
| Total AGMI ³ | 39.56 ^a | 38.26 ^{ab} | 35.52 ^b | 38.88 ^a | 0.82 | 41.90 ^a | 40.12 ^a | 37.99 ^b | 41.18 ^a | 0.52 |
| AGPI | | | | | | | | | | |
| CLAc-9,t-11 | 0.34 ^a | 0.39 ^a | 0.39 ^a | 0.24 ^b | 0.02 | 0.40 ^b | 0.45 ^{ab} | 0.48 ^a | 0.27 ^c | 0.02 |
| CLAt-10,c-12 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| CLAc-9,c-11 | 0.09 | 0.09 | 0.08 | 0.09 | 0.01 | 0.10 ^{ab} | 0.12 ^a | 0.11 ^{ab} | 0.09 ^b | 0.01 |
| CLAt-9,t-11 | 0.11 ^{ab} | 0.14 ^a | 0.13 ^{ab} | 0.08 ^b | 0.01 | 0.09 | 0.12 | 0.13 | 0.07 | 0.02 |
| CLA total ³ | 0.55 ^{ab} | 0.63 ^a | 0.62 ^a | 0.43 ^b | 0.03 | 0.60 ^b | 0.70 ^a | 0.72 ^a | 0.45 ^c | 0.02 |
| C18:2n-6 | 2.00 ^{bc} | 2.38 ^{ab} | 3.04 ^a | 1.37 ^c | 0.17 | 0.83 ^b | 0.92 ^{ab} | 0.98 ^a | 0.62 ^c | 0.03 |
| C20:4n-6 | 0.83 ^b | 1.12 ^{ab} | 1.27 ^a | 0.86 ^b | 0.09 | 0.04 | 0.06 | 0.06 | 0.04 | 0.01 |
| C18:3n-3 | 1.21 ^b | 1.17 ^b | 1.48 ^a | 0.81 ^c | 0.06 | 0.67 ^a | 0.62 ^b | 0.69 ^a | 0.41 ^c | 0.01 |
| C20:4n-3 | 0.18 ^b | 0.17 ^b | 0.23 ^a | 0.16 ^b | 0.01 | 0.05 ^{ab} | 0.05 ^{ab} | 0.06 ^a | 0.04 ^b | 0.01 |
| C20:5n-3 | 0.55 ^b | 0.71 ^{ab} | 0.80 ^a | 0.50 ^b | 0.05 | 0.14 | 0.08 | 0.07 | 0.15 | 0.04 |
| C22:5n-3 | 0.76 ^b | 0.95 ^{ab} | 1.06 ^a | 0.70 ^b | 0.07 | 0.14 ^b | 0.17 ^b | 0.21 ^a | 0.09 ^c | 0.01 |
| C22:6n-3 | 0.09 ^{ab} | 0.12 ^a | 0.11 ^a | 0.07 ^b | 0.01 | 0.007 ^c | 0.01 ^b | 0.02 ^a | 0.004 ^c | 0.01 |
| AGPI n-6 | 2.83 ^{bc} | 3.50 ^{ab} | 4.30 ^a | 2.23 ^c | 0.26 | 0.88 ^b | 0.98 ^{ab} | 1.04 ^a | 0.66 ^c | 0.03 |
| AGPI n-3 | 2.78 ^{bc} | 3.12 ^{ab} | 3.68 ^a | 2.24 ^c | 0.20 | 1.02 ^a | 0.94 ^a | 1.07 ^a | 0.69 ^b | 0.04 |
| Total AGPI ³ | 5.61 ^{bc} | 6.62 ^{ab} | 7.99 ^a | 4.48 ^c | 0.45 | 1.89 ^a | 1.91 ^a | 2.11 ^a | 1.36 ^b | 0.06 |
| Indices nutricionales | | | | | | | | | | |
| AGPI/AGS | 0.13 ^{bc} | 0.15 ^{ab} | 0.18 ^a | 0.11 ^c | 0.01 | 0.04 ^a | 0.04 ^a | 0.04 ^a | 0.03 ^b | 0.01 |
| AGMI/AGS | 0.90 | 0.88 | 0.82 | 0.89 | 0.02 | 0.90 ^a | 0.88 ^a | 0.81 ^b | 0.87 ^{ab} | 0.02 |
| AGPI n-6/n-3 | 1.01 ^b | 1.12 ^a | 1.16 ^a | 0.99 ^b | 0.02 | 0.88 ^b | 1.05 ^a | 0.98 ^{ab} | 1.02 ^{ab} | 0.04 |
| Indices de desaturación | | | | | | | | | | |
| SCDC18 | 68.51 ^a | 66.96 ^{ab} | 63.64 ^b | 67.22 ^a | 0.87 | 68.91 ^a | 67.76 ^a | 64.14 ^b | 67.10 ^a | 0.64 |
| SCDC16_18 | 18.50 ^a | 17.14 ^{ab} | 13.55 ^b | 18.0 ^{ab} | 1.19 | 18.7 ^a | 18.3 ^{ab} | 15.1 ^b | 17.4 ^{ab} | 0.97 |

1 Categoría de faena: VP= Vaquillona Pesada; VL=Vaquillona Liviana; NP= Novillo Pesado; VC= Vaca de refugio
 2ES, error estándar. 3 AGS= C14:0 + C16:0 + C18:0; AGMI= C14:1n-5 + C16:1n-7 + C18:1 cis-9 + C18:1 cis-11 + C20:1n-9; AGPI= C18:2n-6 + C18:3n-3 + C20:4n-6 + C20:4n-3 + C20:5n-3 + C22:5n-3 + C22:6n-3; AGPI n-6= C18:2 n-6 + C20:4n-6; AGPI n-3= C18:3 n-3 + C20:4n-3 + C20:5n-3 + C22:5n-3 + C22:6n-3; CLA Total = CLA cis-9, trans-11 + CLA trans-10, cis-12 + CLA cis-9, cis-11 + CLA trans-9, trans-11. SCDC18= C18:1c-9/(C18:1c-9 + C18:0)X 100; SCDC16_18= C16:1/C18:0 X100. a-c Promedios con diferente letra dentro de una fila difieren significativamente ($P < 0.05$).

Correlación AG individuales y el contenido total de ácidos grasos.

Debido a las diferencias en el contenido y composición de grasa intramuscular halladas en el músculo *longissimus dorsi* de las categorías evaluadas, se analizaron las correlaciones entre el contenido total de ácidos grasos y las proporciones de algunos ácidos grasos seleccionados; así como con el contenido de ácidos grasos totales en la fracción neutra. Como se observa en la Tabla III.3, se evidenció un incremento en la proporción de C14:0, C16:0, C18:1cis-9, AGS, AGMI y en los mg de ácidos grasos totales en lípidos neutros asociado al incremento en el contenido total de AG del músculo *Longissimus*, mientras que no se observaron asociaciones positivas ($P > 0.05$) para los restantes AG evaluados. Por otra parte, la proporción de C18:2 n-6 y C18:3 n-3, AGPI totales, AGPI n-3, AGPI n-6; y los índices AGPI/AGS y AGPI n-6/n-3 disminuyeron con el incremento del contenido de ácidos grasos intramusculares ($P < 0.05$).

Las diferencias en la composición de ácidos grasos de la carne están asociadas a su contenido de grasa intramuscular. Estas diferencias se explicarían porque el aumento en el contenido de grasa total de la carne produce una alteración en las proporciones de fosfolípidos de membrana (ricos en AGPI) y las de triglicéridos ó lípidos neutros (ricos en AGS y AGMI) a favor de éstos últimos (Wood y col., 2008). En concordancia con otros trabajos (Scollan y col 2006; Wood y col., 2008) el aumento en el contenido de lípidos totales del músculo *longissimus dorsi* estuvo fuertemente asociado con un incremento en el contenido de lípidos neutros. Debido a que los AGMI son principalmente depositados en la fracción neutra, es de esperar que un incremento en los niveles de grasa intramuscular incremente las proporciones de AGMI en carne; como lo demuestra la asociación positiva encontrada entre el contenido de ácidos grasos totales y la proporción total de AGMI del músculo *longissimus*, generada principalmente por un incremento en la proporción de ácido oleico. Estos datos estarían en concordancia con el incremento en AGMI de la carne hallado por otros autores al extender el período de alimentación de

animales en dietas altas en concentrados (Barton y col., 2011; Duckett y col., 1993) ó en grasa subcutánea al prolongar el período sobre pasturas de las vaquillonas (Noci y col., 2005); contrariamente, Pavan y Duckett (2013) encontraron una débil correlación negativa entre el contenido de grasa y la proporción de AGMI en muestras de carne de animales en pastoreo, sin embargo dichos autores trabajaron con novillos utilizando distintos cortes de carne que podrían contribuir a las diferencias encontradas con este estudio.

Tabla III.3. Coeficiente de Pearson (r) entre la proporción de ácidos grasos individuales seleccionados y mg de AG de lípidos neutros con el contenido total de ácidos grasos en lípidos totales cuatro categorías de animales provenientes de sistemas pastoriles

| Variable | Media | D. S. | Minimo | Máximo | Coeficiente de Pearson %AG/ mg AG totales/n= 40 |
|--|-------|-------|--------|--------|--|
| AG totales, mg/100g de carne fresca | 2585 | 1172 | 979.96 | 6686 | |
| C14:0 | 2.43 | 0.38 | 1.79 | 3.27 | 0.46** |
| C16:0 | 25.58 | 1.59 | 22.31 | 29.69 | 0.48** |
| C16:1n-7 | 2.71 | 0.48 | 1.89 | 3.79 | 0.21 |
| C18:0 | 16.48 | 1.47 | 13.33 | 21.42 | -0.05 |
| C18:1 <i>cis</i> -9 | 32.87 | 2.42 | 26.82 | 37.18 | 0.51*** |
| C18:1 <i>trans</i> -11 | 1.61 | 0.65 | 0.52 | 3.07 | -0.25 |
| C18:2n-6 | 2.20 | 0.81 | 0.99 | 4.43 | -0.60**** |
| C18:3n-3 | 1.17 | 0.31 | 0.58 | 1.87 | -0.46** |
| CLA <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 | 0.34 | 0.10 | 0.18 | 0.57 | -0.14 |
| AGS | 43.63 | 2.72 | 35.64 | 50.49 | 0.35* |
| AGMI | 38.05 | 2.94 | 31.31 | 43.58 | 0.46** |
| AGPI | 6.17 | 1.90 | 3.02 | 10.64 | -0.66**** |
| AGPI n-6 | 3.22 | 1.11 | 1.48 | 6.04 | -0.67**** |
| AGPI n-3 | 2.96 | 0.80 | 1.53 | 4.60 | -0.64**** |
| AGMI:AGS | 0.87 | 0.08 | 0.71 | 1.05 | 0.15 |
| AGPI:AGS | 0.14 | 0.05 | 0.06 | 0.25 | -0.67**** |
| AGPI n-6:n-3 | 1.07 | 0.10 | 0.91 | 1.31 | -0.65**** |
| SCDC18 | 66.6 | 3.21 | 59.6 | 72.1 | 0.30t |
| SCDC16_18:0 | 16.8 | 4.11 | 10.2 | 26.4 | 0.17 |
| Mg AG en lípidos neutros | 1756 | 747.4 | 726.9 | 3740 | 0.84**** |

*p<0.05; **p<0.01; ***p< 0.001; ****p< 0.0001. D.S: Desvío standard. t= tendencia p<0.1

La carne proveniente de sistemas pastoriles constituye una importante fuente de AGPI n-3 de cadena larga para la dieta de los humanos, especialmente en aquellos países que tienen bajo consumo de pescado (Mc Afee y col., 2011), como es el caso de nuestro país. En su estudio, Mc Afee y col., (2011) demostraron que los niveles de AGPI n-3 (de cadena larga) en plasma y plaquetas de consumidores pueden ser mejorados si se consumen 67 g/día de carne roja proveniente de animales criados en sistemas pastoriles en lugar de carnes rojas provenientes de sistemas a corral.

En contraposición a lo observado en animales alimentados con altos niveles de concentrados (Duckett y col., 1993; Stelzleni y Johnson 2008) el mayor contenido de lípidos intramusculares en el músculo *longissimus* de VP no estuvo asociado con un incremento de la relación AGPI n-6: n-3 sino con una disminución de dicho índice, concordando con la disminución lineal reportada por Noci y col (2005) al extender el tiempo de pastoreo de los animales. Esto último se explicaría por la baja relación AGPI n-6: n-3 presente en las pasturas consumidas por los animales. Por otra parte, se ha reportado la existencia de una deposición preferencial del C18:2n-6 en los fosfolípidos de membrana, y una distribución más equilibrada del C18:3n-3 en triglicéridos y fosfolípidos (De Smet, Raes y Demeyer, 2004), como se evidencia en el presente estudio en la mayor proporción de C18:3n-3 depositada en la fracción neutra del músculo *longissimus dorsi*, respecto a la proporción de C18:2n-6 depositada en dicha fracción; así como en la fuerte asociación negativa observada entre la proporción C18:2n-6 y el contenido lípidos totales. Esto podría explicar las menores relaciones de AGPI n-6:n-3 encontradas en la carne de animales más grasos.

Indíces de desaturación

Las diferencias en la composición de ácidos grasos entre las categorías de animales podrían ser explicadas no sólo por el nivel de grasa intramuscular per sé, sino también por

la diferente actividad de la enzima Stearoil CoA desaturasa (SCD) ó también llamada delta 9 desaturasa; como fue mencionado esta enzima es la responsable de la conversión de AGS en AGMI y del ácido transvaccénico (TVA) en su correspondiente isómero del CLA (CLA *cis*-9, *trans*-11) presente en el tejido adiposo de los mamíferos.

En el presente estudio, se utilizaron dos índices de desaturación para estimar la actividad de la enzima; el índice SCDC18 propuesto por Malau-Aduli y col., (1997) y el SCDC16_18 propuesto por Turk y Smith (2009). Como puede observarse en la parte inferior de la tabla III.2, en ambas fracciones lipídicas, la categoría de novillos pesados promedió menores índices de desaturación SCDC16_18 y SCDC18 que en vaquillonas pesadas, mientras que las categorías de vaquillonas livianas y vacas presentaron valores intermedios a NP y VP. Estos resultados, conjuntamente con las menores relaciones en AGMI:AGS observadas en novillos pesados indicarían una menor desaturación ó expresión de la SCD en novillos que en vaquillonas de similar edad, concordando con Barton y col (2011) quienes observaron una menor expresión de esta enzima en machos que en hembras de similar peso/edad. Se están realizando estudios de expresión del gen de la SCD para poder explicar de mejor manera las diferencias encontradas.

III.2.2. Contenido de lípidos y perfil de ácidos grasos en los lípidos totales (LT) y neutros (LN) del músculo *Gluteus medius* (GM).

No se observó efecto de la categoría de faena sobre el contenido de lípidos totales y neutros del músculo *Gluteus Medius*. Los lípidos totales promediaron 2.38% y los neutros 1.74% para todas las categorías evaluadas. En la tabla III.4. se muestra la concentración total de AG (g/100g de carne) y la proporción (g/100g AG) de los principales AG identificados en lípidos totales y neutros del músculo GM. Como era de esperarse

tampoco se observaron efectos significativos ($P > 0.05$) sobre la concentración total de ácidos grasos del músculo *gluteus medius* en ambas fracciones evaluadas.

El contenido de grasa intramuscular se encuentra determinado por el balance entre el consumo, síntesis y degradación de los triglicéridos. Por lo tanto muchas de las rutas metabólicas (la absorción de grasa de la sangre, la síntesis de ácidos grasos de novo (AGS y AGMI), la actividad mitocondrial, etc) tanto en los adipocitos como de las miofibrillas pueden contribuir a la variabilidad del contenido de grasa intramuscular (Hocquette y col., 1998). De hecho, el contenido de grasa intramuscular resulta principalmente del equilibrio entre la síntesis y la degradación de lípidos dentro de los músculos (Gondret y col., 2004), lo que se encuentra fuertemente ligado a las propiedades metabólicas de los mismos. Aquellos músculos que presentan un perfil más oxidativo (ricos en mitocondrias y con un elevado turnover lipídico) tienen mayor habilidad para depositar lípidos (totales y neutros) que aquellos predominantemente glicolíticos (Alasnier Rémignon y Gandeme., 1996; Hocquette y col., 2003). Si bien en este estudio no se comparó entre músculos ya que escapaban a los objetivos del mismo, estudios previos (Kirchofer, Calkins y Gwartney., 2002) indicarían que el músculo *longissimus dorsi* presentaría en promedio una mayor proporción de fibras rojas oxidativas y una menor proporción de fibras blancas glicolíticas respecto al *gluteus medius*. Este hecho sugiere que la falta de efecto entre las categorías de faena sobre la concentración de lípidos de ambas fracciones del *gluteus medius*, podrían ser en parte, atribuidas a las mayores características glicolíticas que presenta dicho músculo. Por otra parte el *gluteus medius* es per se un músculo magro y deposita menor cantidad de grasa que otro tipo de músculos lo que contribuiría a reducir las diferencias entre los tratamientos categóricos observadas en el presente estudio.

Ácidos Grasos Saturados (AGS).

La proporción de AGS totales no difirió entre categorías en lípidos totales del músculo *Gluteus Medius* ($P= 0.561$), mientras que sólo se observó una pequeña diferencia en los lípidos neutros ($P= 0.044$), mostrando NP una mayor proporción que las restantes categorías. Al igual que en lípidos totales, VL mostró los mayores niveles de C14:0 y NP los mayores niveles de C18:0 en la fracción neutra. El C16:0 no fue modificado por la categoría de faena.

Ácidos Grasos Monoinsaturados (AGMI).

El efecto de la categoría de faena fue altamente significativo para el contenido total de AGMI ($P < 0.0001$), mostrando una evolución similar en ambas fracciones lipídicas. La proporción total de AGMI se incrementó gradualmente al incrementar el peso de faena de las hembras ($VL \leq VP \leq VC$); asimismo, al igual que para el músculo *longissimus*, la categoría de novillos mostró la menor proporción de AGMI. Estos cambios fueron reflejados en el contenido de ácido Oleico ($P < 0.05$). Es decir, que aun a igual contenido de grasa intramuscular la proporción de AGMI incrementa con el peso/edad de las hembras en el músculo *Gluteus medius* y a su vez que los machos presentarían una menor proporción respecto a hembras en ambos músculos. Concordando con Barton y col (2011), esto sería el resultado de un incremento en la desaturación con el incremento en el peso/edad de faena en las hembras y a una mayor desaturación en vaquillonas que en novillos de similar edad como lo sugieren los índices de desaturación encontrados.

Ácido Linoleico Conjugado (CLA) y Ácido Transvaccénico (TVA)

Las proporciones de CLA *cis*-9, *trans*-11 como la de su precursor fueron afectadas por la categoría de faena en el músculo *Gluteus Medius*, mostrando P -valores < 0.0001 tanto en lípidos totales como en neutros. En líneas generales, similarmente a lo observado en el *longissimus*, ambos ácidos grasos disminuyeron con el incremento del peso de

faena de las hembras; la categoría de novillos pesados conjuntamente con la de vaquillonas livianas promediaron los mayores valores de CLA *cis*-9, *trans*-11 y de TVA para ambos lípidos (totales y neutros) del músculo GM. Las menores proporciones de estos ácidos grasos en categorías mas grasas podrían explicarse nuevamente a la mayor deposición de otros ácidos grasos en el músculo.

Como se muestra en la figura III.4. La categoría de vaca obtuvo menor ($P < 0.05$) concentración (mg/100g de tejido) de TVA respecto a novillo pesado y vaquillona liviana que mostraron los mayores promedios, mientras que vaquillona pesada mostro valores intermedios. Para la concentración de CLA *cis*-9, *trans*-11 vaquillona liviana obtuvo mayor valor respecto a las demás categorías, esto se debería a la mayor proporción de ése ácido graso en el músculo de VL.

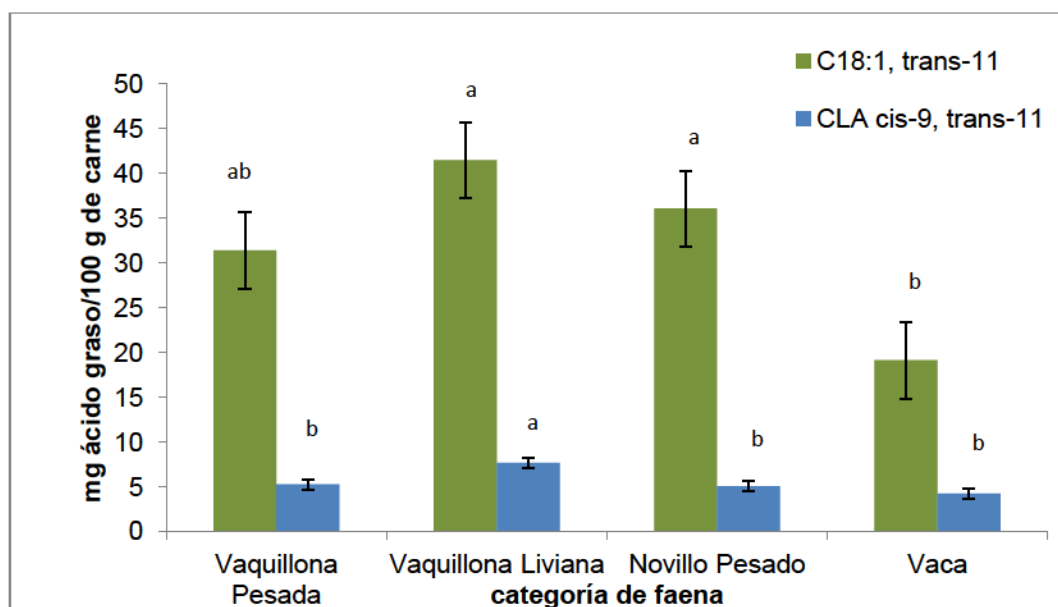


Figura III.4. Concentración de C18:1 *trans*-11 (mg /100g de tejido fresco) (barras verdes) y CLA *cis*-9, *trans*-11 (barras azules) en lípidos totales del músculo *Gluteus Medius* de cada categoría de faena. Letras distintas dentro una misma fracción lipídica corresponden a diferencias significativas por el test de Tukey ($P < 0.05$)

Ácidos Grasos Poliinsaturados (AGPI) y relaciones de interés nutricional

Si bien no se observaron modificaciones significativas ($P= 0.128$) en el contenido total de AGPI ni en la proporción total de AGPI n-6 ($P= 0.054$) y AGPI n-3 ($P= 0.304$) en los lípidos totales, se observaron diferencias significativas en los principales ácidos grasos representativos. Así el C18:2n-6 fue máximo para novillos pesados, mínimo para vacas e intermedio para vaquillonas pesadas y vaquillonas livianas ($P= 0.0016$); estas diferencias fueron a su vez, observadas sobre la proporción de C18:3 n-3 (principal representante de n-3) ($P= 0.0032$), lo cual fue reflejado sobre la relación AGPI n-6: n.3 ($P= 0.03$) de la carne. La relación AGPI: AGS fue similar ($P= 0.277$) entre los tratamientos categóricos, lo que pone nuevamente en evidencia la dependencia entre el contenido total de lípidos y la relación AGPI: AGS de la carne; ninguna de las categorías alcanzó la relación AGPI:AGS recomendada de 0.45. En los lípidos neutros, las vacas presentaron la menor proporción total de AGPI, novillos pesados presentaron la mayor mientras las restantes categorías mostraron niveles intermedios. La relación AGPI n-6: n-3 no fue afectada por la categoría de faena en esta fracción lipídica. Al igual que para el músculo *Longissimus*, la relación AGPI n-6: n-3 del músculo *gluteus* de todas las categorías de animales no superó el valor de 4, asegurando en este aspecto el valor nutricional requerido.

Índices de desaturación

Para la fracción total del músculo *gluteus medius* la categoría de VC presentó el mayor índice SCDC16_18 y NP el menor, mientras que VP y VL presentaron valores intermedios. En la fracción neutra todas las categorías de hembras presentaron mayor valor de ambos índices de desaturación respecto a novillos, así como en lípidos totales para el SCD18 sugiriendo nuevamente la menor expresión de este gen en la categoría masculina; se observó también un incremento en la desaturación (índice) con el incremento del peso de faena, coincidiendo con lo sugerido por Martin y col, (1999).

Tabla III.4. Concentración de AG (g/100g de carne) y perfil de AG (g/100g de AG) en lípidos totales y lípidos neutros del músculo *GM* de cada categoría de faena.

| | Lípidos Totales | | | | | Lípidos Neutros | | | | |
|--------------------------------|---------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------|
| | Categoría de Faena ¹ | | | | | Categoría de Faena | | | | |
| | VP | VL | NP | VC | ES | VP | VL | NP | VC | ES |
| g AG/100g carne | 2.08 | 2.09 | 1.70 | 2.01 | 0.15 | 1.56 | 1.45 | 1.23 | 1.29 | 0.10 |
| AGS | | | | | | | | | | |
| C14:0 | 2.09 ^{ab} | 2.39 ^a | 1.81 ^b | 1.86 ^b | 0.10 | 2.50 ^b | 2.87 ^a | 2.30 ^b | 2.27 ^b | 0.08 |
| C16:0 | 22.44 | 22.35 | 21.27 | 22.15 | 0.36 | 24.01 | 24.41 | 23.19 | 23.59 | 0.44 |
| C18:0 | 15.50 ^b | 15.92 ^{ab} | 17.14 ^a | 15.51 ^b | 0.33 | 15.96 ^b | 16.66 ^b | 18.65 ^a | 16.10 ^b | 0.55 |
| Total AGS ³ | 40.04 | 40.66 | 40.22 | 39.52 | 0.57 | 42.48 | 43.94 | 44.14 | 41.96 | 0.90 |
| AGMI | | | | | | | | | | |
| C14:1 | 0.40 ^{ab} | 0.44 ^a | 0.29 ^b | 0.37 ^{ab} | 0.03 | 0.49 ^a | 0.55 ^a | 0.39 ^b | 0.47 ^{ab} | 0.04 |
| C16:1n-7 | 2.65 ^{ab} | 2.61 ^{ab} | 2.29 ^b | 2.92 ^a | 0.12 | 2.99 ^{ab} | 3.04 ^a | 2.55 ^b | 3.25 ^a | 0.16 |
| C18:1 ^{cis} -9 | 34.15 ^{ab} | 32.21 ^{bc} | 30.69 ^c | 36.39 ^a | 0.60 | 36.03 ^{ab} | 35.12 ^b | 32.76 ^c | 37.73 ^a | 0.70 |
| C18:1 ^{trans} -11 | 1.48 ^{bc} | 1.97 ^{ab} | 2.10 ^a | 0.92 ^c | 0.16 | 1.57 ^b | 2.10 ^a | 2.51 ^a | 0.96 ^c | 0.15 |
| C18:1 ^{cis} -11 | 1.46 | 1.34 | 1.40 | 1.37 | 0.04 | 1.30 | 1.27 | 1.23 | 1.20 | 0.03 |
| C20:1n-9 | 0.12 | 0.13 | 0.12 | 0.13 | 0.01 | 0.14 | 0.14 | 0.15 | 0.14 | |
| Total AGMI ³ | 38.78 ^{ab} | 36.72 ^{bc} | 34.79 ^c | 41.17 ^a | 0.67 | 40.95 ^{ab} | 40.11 ^b | 37.08 ^c | 42.80 ^a | 0.76 |
| AGPI | | | | | | | | | | |
| CLAc-9, ^t -11 | 0.25 ^{bc} | 0.36 ^a | 0.29 ^{ab} | 0.21 ^c | 0.02 | 0.46 ^b | 0.57 ^a | 0.51 ^{ab} | 0.31 ^c | 0.02 |
| CLAt-10, ^c -12 | 0.02 | 0.03 | 0.02 | 0.03 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.00 | 0.01 |
| CLAc-9, ^c -11 | 0.13 | 0.10 | 0.08 | 0.08 | 0.02 | 0.07 | 0.07 | 0.06 | 0.10 | 0.01 |
| CLAt-9, ^t -11 | 0.17 ^a | 0.20 ^a | 0.18 ^a | 0.12 ^b | 0.01 | 0.15 ^{ab} | 0.18 ^a | 0.17 ^a | 0.13 ^b | 0.01 |
| CLA total ³ | 0.58 ^b | 0.71 ^a | 0.59 ^{ab} | 0.44 ^b | 0.03 | 0.68 ^b | 0.82 ^a | 0.76 ^{ab} | 0.53 ^c | 0.03 |
| C18:2n-6 | 3.15 ^{ab} | 3.19 ^{ab} | 3.91 ^a | 2.57 ^b | 0.22 | 1.34 ^b | 1.20 ^{bc} | 1.57 ^a | 1.08 ^c | 0.05 |
| C20:4n-6 | 1.26 | 1.38 | 1.51 | 1.51 | 0.13 | 0.19 | 0.13 | 0.21 | 0.13 | 0.02 |
| C18:3n-3 | 1.50 ^{ab} | 1.41 ^{ab} | 1.70 ^a | 1.16 ^b | 0.09 | 0.80 ^a | 0.70 ^a | 0.82 ^a | 0.52 ^b | 0.04 |
| C20:4n-3 | 0.21 | 0.23 | 0.29 | 0.25 | 0.02 | 0.06 ^{ab} | 0.04 ^{bc} | 0.07 ^a | 0.04 ^c | 0.01 |
| C20:5n-3 | 0.84 | 0.96 | 1.03 | 0.92 | 0.09 | 0.17 | 0.11 | 0.18 | 0.12 | 0.03 |
| C22:5n-3 | 1.02 | 1.08 | 1.16 | 1.04 | 0.09 | 0.27 ^b | 0.24 ^{bc} | 0.36 ^a | 0.17 ^c | 0.02 |
| C22:6n-3 | 0.12 | 0.15 | 0.13 | 0.12 | 0.01 | 0.03 ^b | 0.03 ^b | 0.04 ^a | 0.02 ^b | 0.01 |
| AGPI n-6 | 4.40 | 4.57 | 5.42 | 4.08 | 0.34 | 1.52 ^{ab} | 1.33 ^{bc} | 1.78 ^a | 1.21 ^c | 0.06 |
| AGPI n-3 | 3.69 | 3.83 | 4.31 | 3.50 | 0.31 | 1.32 ^{ab} | 1.12 ^{bc} | 1.46 ^a | 0.87 ^c | 0.07 |
| Total AGPI ³ | 8.09 | 8.40 | 9.73 | 7.57 | 0.65 | 2.84 ^{ab} | 2.45 ^{bc} | 3.24 ^a | 2.08 ^c | 0.12 |
| Indices nutricionales | | | | | | | | | | |
| AGPI/AGS | 0.20 | 0.21 | 0.24 | 0.19 | 0.02 | 0.07 ^{ab} | 0.06 ^{bc} | 0.07 ^a | 0.05 ^c | 0.01 |
| AGPI n-6/n-3 | 1.21 ^{ab} | 1.19 ^{ab} | 1.26 ^a | 1.17 ^b | 0.02 | 1.17 | 1.20 | 1.29 | 1.42 | 0.11 |
| AGMI/AGS | 0.97 ^{ab} | 0.90 ^{bc} | 0.86 ^c | 1.04 ^a | 0.02 | 0.96 ^{ab} | 0.92 ^b | 0.84 ^c | 1.02 ^a | 0.02 |
| Indices de desaturación | | | | | | | | | | |
| SCDC18 | 68.76 ^{ab} | 66.87 ^b | 64.14 ^c | 70.11 ^a | 0.65 | 69.32 ^{ab} | 67.82 ^b | 63.73 ^c | 70.11 ^a | 0.52 |
| C16_18 | 17.08 ^{ab} | 16.54 ^{ab} | 13.52 ^b | 19.17 ^a | 1.07 | 18.83 ^a | 18.52 ^a | 13.86 ^b | 20.85 ^a | 1.50 |

1 Categoría de faena: VP= Vaquillona Pesada; VL=Vaquillona Liviana; NP= Novillo Pesado; VC= Vaca de refugio2 ES, error estándar. 3 AGS= C14:0 + C16:0 + C18:0; AGMI= C14:1n-5 + C16:1n-7 + C18:1 ^{cis}-9 + C18:1 ^{cis}-11 + C20:1n-9; AGPI= C18:2n-6 + C18:3n-3 + C20:4n-6 + C20:4n-3 + C20:5n-3 + C22:5n-3 + C22:6n-3; AGPI n-6= C18:2 n-6 + C20:4n-6; AGPI n-3= C18:3 n-3 + C20:4n-3 + C20:5n-3 + C22:5n-3 + C22:6n-3; CLA Total= CLA ^{cis}-9, ^{trans}-11 + CLA ^{trans}-10, ^{cis}-12 + CLA ^{cis}-9, ^{cis}-11 + CLA ^{trans}-9, ^{trans}-11; SCDC18= C18:1c-9/(C18:1c-9 + C18:0)X 100; SCDC16_18= C16:1/C18:0 X100.

a-c Promedios con diferente letra dentro de una fila difieren significativamente ($P < 0.05$).

III.4.CONCLUSIONES

A igual peso de faena las vaquillonas pesadas presentan una menor relación AGPI n-6/n-3, mayor proporción de AGMI y mayor relación AGMI/AGS que los novillos pesados. Los mayores índices de desaturación presentados en el músculo de VP que de NP explicarían muchas de las diferencias en su composición de ácidos grasos, dichos índices estarían asociados a una mayor actividad de la enzima SCD en hembras que en machos de similar edad de faena.

Un incremento en el peso de faena de los animales en pastoreo estaría asociado a un mayor contenido de grasa intramuscular del músculo *longissimus* y por lo tanto de la concentración (mg/100g de músculo) de CLA *cis*-9, *trans*-11 y su precursor (TVA) en carne. Asimismo, el mayor peso de faena generaría mayores proporciones de AGMI (asociado a una mayor nivel de grasa intramuscular y/o mayor desaturación), menores relaciones AGPI n-6:n-3 en carne, aunque también a mayores valores de AGS:AGPI; esto último principalmente generado por una dilución de los AGPI principalmente por un incremento de AGMI saludables en desmedro de los AGS. Todas estas variables serían también dependientes del tipo de músculo estudiado, en función de las características metabólicas de los mismos.

A pesar que las hembras son más depreciadas en el precio del mercado de hacienda respecto a los machos; las vaquillonas mostrarían mayor proporción de ciertos ácidos grasos considerados saludables, especialmente si éstas son finalizadas en sistemas pastoriles. Asimismo el nivel de grasa intramuscular observado en el músculo *longissimus* de esta categoría se encontraría dentro del rango necesario para que la carne tenga buena palatabilidad y sea por lo tanto aceptada sensorialmente a nivel de consumidores.

CAPITULO IV

**PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE NOVILLOS EN PASTOREO SUPLEMENTADOS
CON GRANO DE MAIZ Y NIVELES CRECIENTES DE SEMILLA DE LINO EN
ANIMALES DE DOS PESOS**

IV.1. Suplementación de animales en pastoreo

La baja productividad de los sistemas ganaderos pastoriles conjuntamente con un incremento en el precio de la tierra y en el valor de los *commodities*, ha forzado a los sistemas de producción pastoril a incrementar su productividad a través de la intensificación de estos sistemas. Es así que la suplementación de bovinos en pastoreo con grano de maíz durante su terminación, es actualmente una estrategia comúnmente utilizada en Argentina para incrementar los índices productivos. Sin embargo, la utilización de este tipo de estrategias podría poner en peligro el reconocimiento de la carne proveniente de pasturas como un producto saludable. Es así que se ha reportado un impacto negativo sobre la relación AGPI n-6:n-3 y sobre la proporción de CLA cis-9, trans-11 cuando se suplementó con el 1% de peso vivo (PV) ó menos con grano de maíz al ganado en pastoreo por relativamente largos períodos (> 100 días) (Duckett y col., 2007; Garcia y col., 2008; Latimori y col., 2008) ó cuando se suplementó con mayores niveles (2%PV) por períodos cortos (< 60 días) (Chicatún y col., 2006). Resultados provenientes de otros estudios (Kronberg y col., 2006; Nassu y col., 2011; He y col., 2012; Mapiye y col., 2013) sugieren que este impacto negativo de la suplementación con maíz podría ser revertido a través de la suplementación con fuentes ricas en AGPI n-3, especialmente con el uso de aceite de lino, rico en C18:3n-3.

El peso de faena de los animales es otro factor importante de los sistemas de producción. Como se ha observado en el capítulo anterior, el peso/ edad de faena afectan la acumulación de grasa, y el grado de gordura de los animales afecta la composición de ácidos grasos en carne, afectando entre otras cosas la relación AGPI n-6:n-3 de la carne (ver Capítulo III). En el presente estudio se evalúa (a) el efecto de adicionar cantidades crecientes de semilla de lino al grano de maíz suplementado a novillos en pastoreo de

raigrás, sobre el perfil de AG en la carne; (b) si los efectos de los tratamientos dietarios son afectados por el peso de inicio de la suplementación.

El pastoreo en Raigrass anual (*Lolium multiflorum*) es uno de los verdeos mas utilizados para paliar la escasez de forraje invernal, utilizado para consumo animal durante los meses de invierno-primavera.

IV.2. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.2.1. Animales y tratamientos

El trabajo experimental a campo se realizó en la Reserva Experimental n°7 de la EEA INTA Balcarce desde el 3/08 hasta el 19/12 del año 2011 (Fanego, 2012). Cuarenta y ocho novillos Angus de dos años de edad fueron asignados al azar a una de las ocho combinaciones de tratamientos definidas por dos pesos de inicio de la suplementación (LIVIANOS y PESADOS) y cuatro tratamientos dietarios. Los novillos asignados a LIVIANOS recibieron los tratamientos dietarios cuando el promedio del peso vivo (PV) alcanzó 366 ± 27.3 kg (mitad de otoño), en tanto que aquellos asignados a PESADOS cuando alcanzaron 458 ± 42.8 kg de PV (mitad de primavera). Mientras recibieron los tratamientos dietarios los novillos pastorearon una pastura de raigrás anual. Los tratamientos dietarios se definieron en base al nivel y tipo de suplemento: sin suplementación (CNTRL), suplementados con 0.7% del PV con grano de maíz (LINO-0), suplementados con 0.7% del PV de grano de maíz y con 0.125% y 0.25% del PV de semilla de lino (LINO-1 y LINO-2, respectivamente). Los animales se suplementaron individualmente con 0.5 kg de Afrechillo/día en adición a sus suplementos dietarios (excepto CNTRL que no recibió suplemento).

IV.2.2. Determinación del consumo de ácidos grasos

A partir del consumo de materia seca determinados previamente (Fanego, 2012), se determinó el consumo de ácidos grasos de cada animal en el presente estudio. Brevemente, el consumo de materia seca y la digestibilidad fueron estimados utilizando sexquióxido de cromo como un marcador externo y la fibra detergente neutro (FDN) indigestible (FDNI) como un marcador interno de la digestión (Lippke y col., 1986). El consumo de materia seca del forraje y la FDN digestibilidad aparente in vivo fueron calculados en base a la salida de materia fecal y la indigestibilidad. Durante dicho ensayo se determinó la concentración de proteína cruda, fibra detergente neutro y fibra detergente ácido de las muestras de forraje, grano de maíz, lino, afrechillo y materia fecal.

Se utilizaron los datos del perfil de ácidos grasos de los componentes dietarios determinados en el presente estudio (Tabla IV.1) en conjunto con los datos de consumo obtenidos previamente por Fanego (2012), para determinar el consumo individual de ácidos grasos de cada animal.

IV.2.3. Recolección de muestras

Luego de 70 días de suplementación, los novillos fueron faenados en un matadero comercial de la zona los días 29/10/2011 y 19/12/2011 para LIVIANOS y PESADOS, respectivamente.

A las 24 h post-mortem se procedió a extraer muestras del músculo *Longissimus Dorsi* (LM) de la media res izquierda. Las secciones de músculo así obtenidas se trasladaron en conservadoras con abundante cantidad de hielo en escamas, desde el frigorífico hasta el laboratorio de calidad de carnes de la Estación Experimental Agropecuaria Balcarce del INTA. Una vez en el laboratorio, los distintos cortes del LM se almacenaron en cámara a 2-4°C hasta el día siguiente que se procesaron.



Figura IV.1. Recolección de muestras a las 24 h post mortem en frigorífico

A las 48 h post-mortem se procedió al procesamiento de las muestras. Así, de la cara caudal de la sección del LM se cortó una muestra de carne de 2.5 cm de espesor correspondiente a la 12ª costilla. Luego de eliminar todo el tejido graso y tejido conectivo periférico, todas las muestras de carne fueron inmediatamente colocadas en bolsas termo-contráctiles CRYOVAC, envasadas al vacío con una envasadora MULTIVAC y almacenadas a -25°C hasta su posterior análisis.

Durante el período de experimental a campo se tomaron periódicamente muestras de raigrás anual, que fueron envasadas al vacío y almacenadas a -25°C hasta su posterior análisis de materia seca y perfil de ácidos grasos. De igual manera se

conservaron muestras de afrechillo, grano de maíz y de la semilla de lino utilizados como suplementos.

IV.2.4. Determinación del contenido de humedad y lípidos en muestras de carne y componentes dietarios (forrajes y suplementos)

Para la determinación del contenido de humedad y lípidos, de cada muestra de carne y forraje fresca se tomó una sub muestra y se determinó el contenido acuoso por secado en estufa como fue descrito en el apartado anterior. Mediante la utilización de un equipo tipo soxhlet se determinó el contenido de lípidos totales en muestras previamente liofilizadas y pulverizadas

IV.2.5. Determinación de la composición de ácidos grasos en carne y componentes dietarios (forrajes y suplementos)

La determinación del perfil de ácidos grasos del músculo y de las muestras de forraje y suplementos previamente liofilizados y pulverizados, se realizó utilizando la metodología y condiciones cromatográficas descritas en la sección III.1.6.

IV.2.6. Análisis estadístico de los datos

Los datos fueron analizados utilizando un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 2 PESOS \times 4 tratamientos dietarios (DIETAS) y considerando al animal como unidad experimental. En el modelo estadístico se incluyeron los factores principales peso y tratamientos dietarios, así como su interacción. Para el análisis estadístico se utilizó el procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS. Las medias mínimas cuadradas de los tratamientos dietarios fueron computadas para los efectos principales y su interacción y fueron separadas utilizando test T, F-protected ($P < 0.05$). Se utilizaron contrastes pre-planeados no ortogonales para comparar el efecto del nivel de lino: (1) efecto lineal (2) efecto cuadrático de la adición de semilla de lino.

IV.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.3.1. Consumo de ácidos grasos

En la Tabla IV.1. se muestra la materia seca (MS) y la proporción de los principales ácidos grasos de las pasturas y suplementos dietarios.

Se observó una interacción significativa entre el PESO y la DIETA para el consumo de ácidos grasos totales de la dieta, C18:2n-6 y C18:3n-3 ($P < 0.01$) (Tabla IV.2). El consumo de ácidos grasos totales en g/día ó en g/100g de materia seca (MS) fue mayor para los animales LIVIANOS que para los PESADOS en todos los tratamientos dietarios, excepto para LINO-2 donde no hubo diferencia significativas entre el peso de los animales.

El consumo de ácido linolenico (g/d) fue mayor para LIVIANOS que para PESADOS en todos los tratamientos dietarios; mientras que para el ácido linoleico los animales LIVIANOS mostraron mayor consumo que PESADOS en CNTRL, similar en LINO-0 y LINO-1 y menor en LINO-2. En ambos PESOS, tanto el consumo de ácidos grasos totales como el consumo de ácido linoleico de los novillos en pastoreo sin suplementar se incrementó con la suplementación de maíz (CNTRL vs LINO-0) y con cada nivel de semilla de lino adicionado al grano de maíz (LINO-0 vs LINO-1 y LINO-1 vs LINO-2).

Los tratamientos de suplementación con lino fueron efectivos para incrementar el consumo de C18:3n-3 de los animales; si bien el consumo de éste ácido graso (linolénico) de los novillos sin suplementar (CNTRL) no incrementó con la suplementación de grano de maíz, sí lo hizo con la suplementación de semilla de lino al grano de maíz. El efecto del tratamiento dietario sobre la relación AGPI n-6:n-3 de la dieta fue también afectado por el tratamiento PESO ($P < 0.0001$). La relación AGPI n-6: n-3 de la dieta fue 0.21, 0.98, 0.24 y 0.14 unidades menores para LIVIANOS que para PESADOS en CNTRL, LINO-0, LINO-1 y LINO-2, respectivamente. Estos mayores cambios en la relación AGPI n-6:n-3 de la dieta

en PESADOS podrían ser asociados al menor aporte de C18:3n-3 por parte de la pastura consumidas por este grupo de animales (tabla IV.1), que presentaban un estado más avanzado de madurez (primavera tardía), en concordancia con lo reportado por Boufaïed y col., (2003). A su vez, dentro de cada tratamiento de peso vivo, la relación AGPI n-6:n-3 de la dieta consumida por los novillos no suplementados incrementó cuando se suplementó con grano de maíz (rico en C18:2n-6) mientras que dicha relación fue nuevamente reducida con cada nivel de semilla de lino adicionado al grano de maíz, esto último generado por el mayor aporte de C18:3n-3 de la semilla de lino.

Tabla IV.1. Contenido de Materia seca (MS) y composición química de las pasturas y suplementos dietarios.

| Item | Pastura | | Grano de Maíz | Semilla de lino | Afrechillo |
|-----------------------------------|----------|---------|---------------|-----------------|------------|
| | LIVIANOS | PESADOS | | | |
| Materia seca g/100g como alimento | 16.37 | 22.13 | 92.31 | 90.90 | 92.86 |
| Proteína Cruda | 22.10 | 8.67 | 7.35 | 21.20 | 14.70 |
| Fibra detergente neutro | 42.23 | 54.97 | 15.30 | 40.85 | 35.55 |
| Fibra detergente ácido | 21.20 | 31.00 | 3.20 | 26.60 | 11.30 |
| Ácidos grasos Totales | 2.12 | 1.17 | 3.44 | 32.30 | 3.13 |
| C18:2n-6, g/100g AG | 8.18 | 9.45 | 52.20 | 14.65 | 55.70 |
| C18:3n-3, g/100g AG | 55.53 | 40.37 | 1.38 | 47.41 | 4.78 |

Tabla IV.2. Consumo de ácidos grasos de los novillos en pastoreo suplementados con grano de maíz y cantidades crecientes de semilla de lino a dos pesos de los animales (LIVIANOS, 350 kg, ó PESADOS, 450 kg) durante los últimos 70 días de finalización.

| Peso del animal , P ² | LIVIANOS | | | | PESADOS | | | | ES | P- valor | | |
|---|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|----------|-------|--------------|
| | CNTRL | LINO-0 | LINO-1 | LINO-2 | CNTRL | LINO-0 | LINO-1 | LINO-2 | | Dieta | Peso | Peso x Dieta |
| Tratamiento dietario, TD ¹ | | | | | | | | | | | | |
| Consumo total de ácidos grasos | | | | | | | | | | | | |
| g/d | 235 ^{d,y} | 344 ^{c,y} | 457 ^{b,y} | 642 ^{a,z} | 118 ^{d,z} | 249 ^{c,z} | 414 ^{b,z} | 618 ^{a,z} | 35.3 | <0.01 | <0.01 | 0.009 |
| g/100g MS* | 2.2 ^{d,y} | 2.4 ^{c,y} | 3.7 ^{b,y} | 4.6 ^{a,z} | 1.3 ^{d,z} | 1.8 ^{c,z} | 3.2 ^{b,z} | 4.6 ^{a,z} | 0.21 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| Consumo de ácidos grasos del suplemento | | | | | | | | | | | | |
| g/d | 16 ^{d,z} | 112 ^{c,z} | 273 ^{b,z} | 435 ^{a,z} | 15 ^{d,z} | 129 ^{c,y} | 312 ^{b,y} | 519 ^{a,y} | 10.7 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| g/ 100 g del consumo total de ácidos grasos | 6.9 ^{d,z} | 33.1 ^{c,z} | 60.1 ^{b,z} | 67.8 ^{a,z} | 12.7 ^{d,y} | 52.2 ^{c,y} | 75.6 ^{b,y} | 84.0 ^{a,y} | 3.41 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| % de Peso vivo ^L | 0.004 | 0.027 | 0.066 | 0.102 | 0.003 | 0.027 | 0.064 | 0.109 | 0.005 | <0.01 | 0.444 | 0.447 |
| Consumo individual de ácidos grasos,g/d | | | | | | | | | | | | |
| C18:2n-6 | 27 ^{d,y} | 78 ^{c,z} | 98 ^{b,z} | 123 ^{a,z} | 18 ^{d,z} | 79 ^{c,z} | 102 ^{b,z} | 135 ^{a,y} | 4.5 | <0.01 | 0.076 | <0.01 |
| C18:3n-3 | 122 ^{c,y} | 131 ^{c,y} | 180 ^{b,y} | 270 ^{a,y} | 42 ^{c,z} | 51 ^{c,z} | 132 ^{b,z} | 226 ^{a,z} | 17.5 | <0.01 | <0.01 | 0.021 |
| Relación AGPI n-6:n3 en la dieta | 0.22 ^{d,z} | 0.61 ^{a,z} | 0.54 ^{b,z} | 0.46 ^{c,z} | 0.43 ^{d,y} | 1.59 ^{a,y} | 0.78 ^{b,y} | 0.60 ^{c,y} | 0.82 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |

¹Tratamientos dietarios (TD): CNTRL: sin suplementación; LINO-0: suplementado con 0.7% de PV con semilla de lino; LINO-1: LINO-0 + 0.125 % PV de semilla de lino; LINO-2: LINO-0 + 0.250% PV de semilla de lino.

²Pesos (P), LIVIANOS: 350 kg PV; PESADOS: 450 kg PV. ^{a-d} Promedios con diferente letra dentro de cada tratamiento de peso difieren estadísticamente ($P < 0.05$). ^{z-y} Promedios con diferente letra dentro de cada tratamiento dietario difieren estadísticamente ($P < 0.05$); * MS: Materia Seca. ^Lefecto lineal del lino, $p < 0.01$

V.3.2 Perfil de ácidos grasos en el músculo *Longissimus*

En la tabla IV.3 se puede observar el perfil de ácidos grasos del músculo *longissimus*. La interacción entre los efectos principales no fue significativa para el perfil de ácidos grasos del músculo *longissimus* ($P > 0.05$), excepto para el C18:1 trans-9 ($P = 0.034$) y para la relación AGPI n-6:n-3 del músculo ($P = 0.011$, Tabla IV.3.). Dentro de DIETA, la relación AGPI n-6:n-3 del músculo fue similar ($P = 0.069$) entre LIVIANO y PESADO tanto en CNTRL como en LINO-2 ($P = 0.056$), pero fue mayor ($P < 0.05$) para LIVIANOS que para PESADOS en LINO-0 y LINO-1.

Independientemente del peso del animal, las menores relaciones AGPI n-6:n-3 se registraron en los novillos sin suplementar (CNTRL) y en aquellos que recibieron los mayores niveles de lino (LINO-2), mientras que los novillos suplementados con grano de maíz (LINO-0) obtuvieron la mayor relación. Si bien las relaciones AGPI n-6:n-3 obtenidas con LINO-1 fueron intermedias (respecto a las demás suplementaciones) en ambos tratamientos de PESO, en novillos PESADOS no difirió ($P > 0.05$) de LINO-0, LINO-2 ó CNTRL, pero en LIVIANOS dicha relación difirió de los otros tres tratamientos dietarios ($P < 0.05$).

Los menores cambios en la relación AGPI n-6:n-3 en PESADOS que en LIVIANOS podrían ser explicados por la mayor biohidrogenación ruminal del ácido linoleico proveniente de la suplementación con grano de maíz partido en PESADOS. El mayor consumo de fibras (principalmente proveniente de las pasturas) en PESADOS pudo haber incrementado el tiempo de retención ruminal del grano de maíz partido (Hoover, 1986) y por lo tanto la extensión de la biohidrogenación ruminal de sus aceites (Jenkins, 1993). Contrariamente, la semilla de lino fue adicionada sin procesar, por lo que las diferentes condiciones ruminales generadas por las pasturas en PESADOS respecto a LIVIANOS, pudo no haber afectado al ácido linolénico del suplemento el cual escapó del rumen

inalterado (Oba y col., 2009). El hecho de que la suplementación con niveles crecientes de semilla de lino incrementó linealmente ($P < 0.01$) la proporción de C18:3n-3 en el músculo independientemente del peso vivo del animal, sugiere que cualquier efecto potencial de la calidad de la pastura en la biohidrogenación ruminal no afectó diferencialmente la biohidrogenación de la semilla de lino. Por otra parte, los mayores cambios en la relación n-6:n-3 de la dieta observados con la suplementación en PESADOS que en LIVIANOS podrían haber sido amortiguados por el mayor contenido de ácidos grasos totales al inicio de la suplementación en PESADOS que en LIVIANOS.

Una mayor proporción de ácido linolénico y menor relación AGPI n-6:n-3 fueron también observados cuando se suplementó dietas altas en concentrados con semillas de lino (Aharoni y col., 2004; Kronberg y col., 2006; Maddock y col., 2006). Mientras que, como en el presente estudio, Noci y col., (2007) no observaron un efecto significativo en la proporción de ácido linolénico o la relación n-6:n-3 cuando compararon el perfil de ácidos grasos de vaquillonas en pastoreo con o sin suplementación con lino. En concordancia con estas observaciones, Chillar y col., (2007) concluyeron que el aceite de lino tiene un mayor impacto sobre la proporción de ácido linolénico en leche cuando se alimenta con dietas ricas en concentrados en lugar de dietas altas en forrajes. Noci y col. (2007) sugirieron que la falta de efecto de la suplementación del ganado en pastoreo con ácido linolénico sobre su proporción en la carne podría ser atribuida a una limitada capacidad de los tejidos para incorporar este ácido graso ó a diferencias en la extensión de la biohidrogenación ruminal entre los alimentos.

Tabla IV.3. Perfil de ácidos grasos del músculo Longissimus Dorsi de novillos en pastoreo suplementados con grano de maíz y cantidades crecientes de semilla de lino a dos pesos de los animales (LIVIANOS, 350 kg, PESADOS, 450 kg) durante 70 días de finalización

| Ácidos grasos (%) | DIETA ¹ | | | | PESO (P) ² | | ES | p-valor | | |
|---------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|-----------|-------|---------|--------|--------------|
| | CNTRL | LINO-0 | LINO-1 | LINO-2 | LIVIANO | PESADO | | Dieta | Peso | Peso x Dieta |
| N | 12 | 12 | 12 | 11 | 23 | 24 | | | | |
| C12:0 | 0.09 | 0.08 | 0.12 | 0.10 | 0.07 | 0.12 | 0.046 | 0.161 | 0.001 | 0.419 |
| C14:0 | 2.10 | 2.18 | 2.01 | 2.10 | 1.99 | 2.20 | 0.400 | 0.802 | 0.068 | 0.784 |
| C14:1n-5 | 0.55 | 0.51 | 0.46 | 0.54 | 0.48 | 0.55 | 0.144 | 0.476 | 0.146 | 0.731 |
| C15:0 | 0.36 | 0.33 | 0.34 | 0.33 | 0.33 | 0.35 | 0.040 | 0.319 | 0.118 | 0.203 |
| C16:0 | 22.54 | 22.58 | 22.01 | 22.18 | 22.09 | 22.57 | 1.704 | 0.782 | 0.252 | 0.770 |
| C16:1n-7 | 3.03 | 2.99 | 2.63 | 2.92 | 2.77 | 3.01 | 0.485 | 0.162 | 0.111 | 0.346 |
| C18:0 ^Q | 15.19 ^b | 15.32 ^b | 16.53 ^a | 15.45 ^b | 15.79 | 15.46 | 1.218 | 0.032 | 0.350 | 0.174 |
| C18:1 <i>trans</i> -9 | 0.37 | 0.34 | 0.32 | 0.36 | 0.35 | 0.35 | 0.007 | 0.470 | 0.843 | 0.034 |
| C18:1 <i>trans</i> -11 | 2.29 ^a | 1.75 ^b | 1.86 ^b | 1.83 ^b | 1.75 | 2.11 | 0.326 | 0.001 | <0.001 | 0.935 |
| C18:1 <i>cis</i> -9 | 36.57 | 36.44 | 36.55 | 36.53 | 36.47 | 36.57 | 1.989 | 0.998 | 0.869 | 0.419 |
| C18:1 <i>cis</i> -11 | 1.49 | 1.48 | 1.41 | 1.48 | 1.52 | 1.40 | 0.146 | 0.520 | 0.009 | 0.444 |
| C18:2 n-6 | 2.22 | 2.65 | 2.72 | 2.64 | 3.06 | 2.06 | 0.667 | 0.247 | <0.001 | 0.512 |
| C18:3 n-3 ^L | 0.79 | 0.70 | 0.85 | 0.93 | 0.88 | 0.75 | 0.196 | 0.055 | 0.032 | 0.925 |
| CLA <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 | 0.55 | 0.48 | 0.46 | 0.48 | 0.47 | 0.52 | 0.078 | 0.058 | 0.020 | 0.621 |
| CLA <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 | 0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | 0.010 | 0.129 | 0.381 | 0.712 |
| CLA <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -11 | 0.09 | 0.09 | 0.09 | 0.09 | 0.09 | 0.09 | 0.013 | 0.483 | 0.058 | 0.516 |
| C20:1n-9 | 0.14 | 0.14 | 0.14 | 0.13 | 0.14 | 0.14 | 0.027 | 0.764 | 0.463 | 0.537 |
| CLA <i>trans</i> -9, <i>trans</i> -11 | 0.22 ^a | 0.16 ^b | 0.17 ^b | 0.17 ^b | 0.19 | 0.17 | 0.031 | 0.001 | 0.072 | 0.670 |
| C20:4n-6 | 1.04 | 1.15 | 1.04 | 1.16 | 1.40 | 0.79 | 0.345 | 0.733 | <0.001 | 0.411 |
| C20:4n-3 ^I | 0.11 | 0.09 | 0.10 | 0.13 | 0.10 | 0.12 | 0.036 | 0.138 | 0.093 | 0.896 |

| | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|
| C20:5n-3 | 0.45 | 0.42 | 0.43 | 0.51 | 0.53 | 0.37 | 0.177 | 0.585 | 0.004 | 0.839 |
| C22:5n-3 | 0.63 | 0.65 | 0.65 | 0.70 | 0.79 | 0.53 | 0.171 | 0.832 | <0.001 | 0.411 |
| C22:6n-3 | 0.10 | 0.09 | 0.10 | 0.10 | 0.12 | 0.07 | 0.032 | 0.778 | <0.001 | 0.795 |
| AGS total ⁴ | 39.92 | 40.16 | 40.68 | 39.83 | 39.94 | 40.35 | 2.132 | 0.769 | 0.512 | 0.332 |
| AGMI total ⁴ | 41.82 | 41.64 | 41.22 | 41.63 | 41.73 | 41.42 | 1.997 | 0.898 | 0.591 | 0.185 |
| AGPI total ⁴ | 5.34 | 5.75 | 5.89 | 6.17 | 6.89 | 4.68 | 1.561 | 0.639 | <0,001 | 0.687 |
| AGPI n-6 | 3.25 | 3.80 | 3.76 | 3.80 | 4.45 | 2.85 | 0.959 | 0.467 | <0.001 | 0.502 |
| AGPI n-3 | 2.08 | 1.95 | 2.13 | 2.37 | 2.44 | 1.82 | 0.580 | 0.386 | <0.001 | 0.896 |
| CLA total | 0.87 ^b | 0.75 ^a | 0.73 ^a | 0.75 ^a | 0.74 | 0.81 | 0.091 | 0.003 | 0.006 | 0.461 |
| No identificados | 8.18 | 8.45 | 8.10 | 8.30 | 7.73 | 8.79 | 1.340 | 0.926 | 0.010 | 0.267 |
| Relaciones | | | | | | | | | | |
| AGPI n-6:n-3 | | | | | | | | | | |
| LIVIANOS | 1.61 ^{c,z} | 2.12 ^{a,z} | 1.92 ^{b,z} | 1.67 ^{c,z} | -- | -- | 0.117 | <0.001 | <0.001 | 0.011 |
| PESADOS | 1.49 ^{b,z} | 1.71 ^{a,y} | 1.59 ^{ab,y} | 1.52 ^{b,z} | -- | -- | | | | |
| AGMI/AGS | 1.05 | 1.04 | 1.02 | 1.05 | 1.04 | 1.04 | 0.081 | 0.717 | 0.968 | 0.104 |
| AGS/AGPI | 0.14 | 0.14 | 0.15 | 0.16 | 0.17 | 0.12 | 0.045 | 0.753 | <0.001 | 0.765 |
| mgAG/100g músculo | 3477.6 | 3272.1 | 3168.1 | 2868.0 | 2161.3 | 4231,6 | 507.5 | 0.702 | <0.001 | 0.203 |
| C16:1n-7/C18:0 ^q | 0.20 | 0.20 | 0.16 | 0.19 | 0.18 | 0.20 | 0.043 | 0.093 | 0.163 | 0.220 |

¹CNRTL, no-suplementado; LINO-0, suplementado con 0.7% PV de maíz partido; LINO-1, LINO-0 mas 0.125%PV de semilla de lino; LINO-2, LINO-0 mas 0.25% PV de semilla de lino.

²LIVIANO, 350 kg PV al inicio de la suplementación; PESADO, 450 kg.

³ES, error estándar

⁴AGS= C12:0 + C14:0 + C16:0 + C18:0; AGMI= C14:1n-5 + C16:1n-7 + C18:1 *cis*-9 + C18:1 *cis*-11 + C20:1n-9; AGPI= C18:2n-6 + C18:3n-3 + C20:4n-6 + C20:4n-3 + C20:5n-3 + C22:5n-3 + C22:6n-3; AGPI n-6= C18:2 n-6 + C20:4n-6; AGPI n-3= C18:3 n-3 + C20:4n-3 + C20:5n-3 + C22:5n-3 + C22:6n-3; Total CLA = CLA *cis*-9, *trans*-11 + CLA *trans*-10, *cis*-12 + CLA *cis*-9, *cis*-11 + CLA *trans*-9, *trans*-11

^{a-d} Promedios con diferente letra dentro de una fila difieren significativamente ($P < 0.05$)

^{z-y} Promedios con diferente letra dentro de una columna difieren significativamente ($P < 0.05$)

^{i,l} Contraste pre-planeado. Efecto lineal del lino: ⁱ $P < 0.05$; ^l $P < 0.01$.

^{q,q} Contraste pre-planeado. Efecto cuadrático del lino: ^q $P < 0.05$; ^q $P < 0.01$.

La proporción de ácido esteárico, C18:1 *trans*-11, CLA *trans*-9, *trans*-11 y CLA total, fueron afectadas por los tratamientos dietarios ($P < 0.05$). El ácido esteárico fue mayor en LINO-1 que en cualquiera de los otros tratamientos dietarios que mostraron similares proporciones entre sí; mientras que la proporción de C18:1 *trans*-11 fue mayor en novillos no suplementados que en aquellos suplementados, sin mostrar efecto de la adición de semilla de lino al grano de maíz. Los tratamientos dietarios tendieron a afectar la proporción de CLA *cis*-9, *trans*-11 ($P = 0.058$) y C18:3n-3 ($P = 0.055$); el CLA *cis*-9, *trans*-11 tendió a ser mayor en novillos no suplementados que en los suplementados.

La reducción de la proporción del ácido *trans*-vaccénico observada en el músculo con la suplementación de grano de maíz y la concomitante tendencia hacia la disminución de la proporción de CLA *cis*-9, *trans*-11 coincide con otros estudios que han utilizado este tipo de suplementación por períodos extensos (Pavan, 2006; Garcia y col., 2008; Latimori y col., 2008). Estas reducciones en la proporción del músculo *longissimus* serían consecuencia de una reducción del ácido *trans*-vaccénico proveniente del rumen (Duckett y col., 2009) como el resultado de cambios en las vías de biohidrogenación ruminal generados por la alimentación con grano (Griinari y col., 1998; Sackmann y col., 2003). Contrariamente a lo hipotetizado, éste efecto negativo de la suplementación con grano de maíz no fue compensado por el incremento en el consumo de los precursores del ácido *trans*-vaccénico ruminal (C18:3n-3 y C18:2n-6) a través de la suplementación con semilla de lino. Como fue mencionado previamente, la alimentación con semillas no procesadas en lugar de aceite ó semillas procesadas reduce la disponibilidad de los AGPI (Jenkins, 1993) reduciendo su conversión ruminal a ácido *trans*-vaccénico. Estudios previos, han reportado que cuando el ácido linoleico ó linolénico de la dieta fueron incrementados a través de la suplementación con aceite de lino al ganado en pastoreo (Noci y col., 2007) ó a través de la suplementación con semillas procesadas al ganado alimentado con dietas altas en concentrados (Nassu y col., 2011; Mapiye, y col., 2013) las proporciones de ácido

trans-vaccénico y CLA *cis*-9, *trans*-11 en carne fueron incrementadas. Similares resultados fueron obtenidos cuando se suplementó con aceite de maíz al ganado en pastoreo (Pavan y Duckett, 2007; Duckett y col., 2009). Es importante mencionar, que todos estos estudios utilizaron períodos de suplementación mayores a los del presente estudio. He y col., (2012) no observaron diferencias en la proporciones de ácido *trans*-vaccénico y CLA *cis*-9, *trans*-11 en grasa subcutánea después de seis semanas de suplementación con semilla de lino molida al ganado alimentado en base a heno, pero observaron un incremento en sus proporciones después de doce semanas de suplementación.

Incrementando el peso del animal al inicio de la suplementación incrementaron ($P < 0.05$) las proporciones de C12:0, C18:1 *trans*-11, CLA *cis*-9, *trans*-11, CLA total y la concentración (mg/100g músculo) de ácidos grasos totales en el músculo *Longissimus*. Contrariamente, la proporción muscular de C18:1 *cis*-11, los AGPI totales y todos los AGPI individuales, excepto el C20:4n-3, fueron menores en PESADOS que en LIVIANOS. La relación AGPI/AGS fue también menor en PESADOS que en LIVIANOS, concordando con lo reportado por Scollan y col (2006). El peso vivo del animal no afectó ($P > 0.05$) la proporción total de AGS en el músculo, y tampoco afectó ($P > 0.05$) los AGMI totales ó individuales.

Al igual que lo observado en el capítulo anterior, los resultados del presente estudio sugieren que cuando el contenido total de ácido grasos es incrementado por una extensión en el período de pastoreo y no por un incremento en el tiempo sobre concentrados como en estudios realizados por Moreno y col., (2008) y Barton y col., (2011), un menor impacto negativo puede ser esperado sobre los AGPI n-3 que sobre los AGPI n-6 debido a una mayor incorporación del C18:3n-3 en los lípidos neutros, lo que se traduce en una menor relación AGPI n-6:n-3 de la carne. Por otra parte, el incremento en la proporción de CLA *cis*-9, *trans*-11 observado en el presente estudio en carne en

novillos con mayor peso estaría relacionado a los mayores niveles de su precursor (ácido *trans*-vaccénico) pero no con una mayor actividad de la enzima desaturasa como lo demuestra el índice de desaturación C18:0/ C16:1n-7 propuesto por Turk y Smith (2009).

IV.4. CONCLUSIONES

La suplementación de novillos en pastoreo con grano de maíz produjo un impacto negativo en el perfil de ácidos grasos de la carne pastoril debido a la disminución de la proporción de CLA y ácido *trans*-vaccénico y al incremento de la relación AGPI n-6:n-3 en el músculo. Con la adición de semilla de lino entera al grano de maíz se logró mejorar el perfil de ácidos grasos de la carne, ya que se produjo un incremento lineal en la proporción de C18:3n-3 y una disminución de la relación AGPI n-6:n-3 que alcanzaron valores similares al de novillos en pastoreo sin suplementar; sin embargo la suplementación con semilla de lino entera no fue eficiente para incrementar la proporción de ácido *trans*-vaccénico y de CLA *cis*-9, *trans*-11 en carne.

El peso del animal a la suplementación sólo afectó la magnitud del efecto de los tratamientos dietarios sobre la relación AGPI n-6:n-3 en el músculo *Longissimus*; debido a un potencial efecto confundido entre el contenido total de ácidos grasos del músculo *longissimus* al inicio de la suplementación y la calidad de la pastura, son necesarios futuros estudios para entender mejor esta interacción. Independientemente del tipo de suplemento, el incremento en el peso de novillos en pastoreo redujo la relación AGPI n-6:n-3 e incrementó la proporción de CLA *cis*-9, *trans*-11.

CAPITULO V

**ESTADO ANTIOXIDANTE Y ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE DE NOVILLOS
EN PASTOREO SUPLEMENTADOS CON GRANO DE MAÍZ Y CANTIDADES
CRECIENTES DE SEMILLA DE LINO. EFECTO DEL ALMACENAMIENTO**

V.I Estabilidad oxidativa de la carne

El daño oxidativo es el principal factor no microbiológico responsable del deterioro de los alimentos musculares; dicho factor constituye una de las principales razones de retención en el mercado de la carne por pérdida de calidad durante el almacenamiento y exposición en bandeja (Hur, Park y Joo, 2007; Faustman y col, 2010). La estabilidad oxidativa de los lípidos de la carne es dependiente del balance entre los componentes antioxidantes y pro-oxidantes del músculo. Los antioxidantes comprenden los sistemas antioxidantes endógenos (como Glutathion), así como moléculas de origen dietario, como tocoferoles, carotenoides, que son los principales antioxidantes liposolubles presentes en las plantas, y otros como terpenos y compuestos fenólicos (Descalzo y Sancho, 2008). En contraposición, los ácidos grasos poliinsaturados son substratos altamente oxidables, que pueden actuar como pro-oxidantes (Morrissey y col, 1998).

La dieta de los animales puede afectar la susceptibilidad inherente de los lípidos de la carne al deterioro oxidativo, a través de la modificación de los componentes antioxidantes y pro-oxidantes del músculo. Hay estudios que demuestran que las pasturas consumidas por los animales suple los requerimientos de vitamina E en adición a otros componentes antioxidantes naturales (Gatellier, Mercier y Renerre, 2004). Por otra parte, el consumo de pasturas del ganado, incrementa los valores de ácidos grasos altamente insaturados (García y col, 1999). Como fue mencionado en el capítulo anterior, el aceite de lino o su semilla corresponde a una de las principales fuentes naturales de ácido α -linolénico (45-52%) que permitiría incrementar su proporción en carne cuando es utilizada como suplementos en los animales; de hecho se observó un incremento lineal en la proporción de C18:3n-3 y una disminución en la relación AGPI n-6:n-3 en carne cuando la semilla de lino fue agregada a animales en pastoreo previamente suplementados con maíz (Capítulo IV). Además de ser rico en ácido α -linolénico, el lino constituye una

importante fuente natural de nutrientes antioxidantes como lignanos, compuestos fenólicos, flavonoides y tocoferoles (α -, β -, γ -, δ) (Touré y Xueming, 2010; Singh y col, 2011) que podrían contribuir a evitar el deterioro oxidativo.

La carne de animales terminados en sistemas pastoriles posee una mayor capacidad antioxidante respecto a la carne proveniente de animales alimentados a granos, debido a su mayor contenido natural de vitaminas antioxidantes (Descalzo y col., 2007a). Se ha observado que el contenido de vitamina E de la carne proveniente de animales criados en sistemas pastoriles es comparable con el contenido en la carne de animales suplementados con vitamina E en sus dietas concentradas (Yang y col., 2002a). Un incremento en el nivel de AGPI ω -3 a través de la suplementación con lino de animales en feedlot produciría una mayor oxidación lipídica y reducida vida en estante de la carne (Juarez y col., 2012). Según estos autores mayores niveles de AGPI ω -3 en carne requieren mayores niveles de vitaminas antioxidantes en la dieta de los animales, como la vitamina E, para eliminar los efectos negativos sobre la calidad de la carne que genera la pérdida de estabilidad oxidativa.

Se espera que la incorporación de antioxidantes naturales provenientes de las pasturas solas o en combinación con los antioxidantes de los suplementos dietarios, puedan generar en el músculo una capacidad antioxidante suficiente para evitar la peroxidación lipídica en la carne que induciría la suplementación de animales en pastoreo con alimentos ricos en AGPI.

En el presente Capítulo se estudia el efecto de la adición de cantidades crecientes de semilla de lino al grano de maíz suplementado a novillos en pastoreo sobre la composición de antioxidantes, capacidad antioxidante (FRAP), estabilidad oxidativa (oxidación lipídica, formación de compuestos fluorescentes y estabilidad del color) de la

carne madurada al vacío y expuesta a condiciones aeróbicas. Asimismo se evalúa la aceptabilidad sensorial de la carne proveniente de diferentes tratamientos dietarios.

V.2. MATERIALES Y METODOS

V.2.1. Animales y tratamientos

En el presente estudio se utilizaron muestras del músculo *longissimus dorsi* extraídas a las 24 h posmortem de la media res izquierda de veinticuatro novillos sometidos a cuatro tratamientos dietarios previo a la faena. Los tratamientos dietarios se definieron por el tipo de suplemento ofrecido durante los 70 días previos a la faena: CNTRL, sin suplementación; LINO-0, suplementación con 0.7% del peso vivo con grano de maíz; LINO-1, suplementación con 0.7% del peso vivo con grano de maíz más 0.125 % del peso de semilla de lino; LINO-2, suplementación con 0.7% del peso vivo con grano de maíz más 0.250 % del peso vivo con semilla de lino. La suplementación comenzó cuando el peso vivo (PV) medio del animales fue de 458 kg. Durante el período de suplementación los animales tuvieron acceso a una pastura de raigrás anual, la que se ofreció en franjas diarias. Para mayor detalle del manejo de los animales y de los tratamientos dietarios ver Capítulo IV.

V.2.2. Determinación del consumo de vitaminas antioxidantes

Al igual que para la obtención del consumo de ácidos grasos (ver sección IV.2.2), a partir de los resultados de consumo de pasturas y suplementos se calculó el consumo individual de cada vitamina antioxidante a partir de la composición de vitaminas obtenida de cada uno de los componentes dietarios (sección V.2.5)

V.2.3. Recolección del plasma sanguíneo.

Con el objetivo de evaluar la incorporación de vitaminas consumidas por los animales a nivel plasmático, a la faena se colectaron muestras de sangre de cada animal en tubos de 25 mL de capacidad total con EDTA (1.2 mL) para evitar la coagulación de las mismas. Las muestras se centrifugaron (15000 g por 15 min a 2°C) para la obtención del plasma sanguíneo, el que fue almacenado a -25°C para el posterior análisis de la concentración de vitaminas antioxidantes y capacidad antioxidante total.

V.2.4. Procesamiento de muestras de carne y tratamientos *post-mortem*:

maduración al vacío y exposición en bandeja

A las 48 h de la faena se procedió a procesar las muestras de carne en cámara refrigerada a una temperatura de $2 \pm 1^\circ\text{C}$. De la cara caudal de cada sección del músculo *longissimus dorsi* (LM) correspondiente a cada media res izquierda se cortaron un total de seis muestras de carne de 2.5cm de espesor. Luego de eliminar todo el tejido graso y conectivo periférico, fueron envasadas al vacío (bolsas termo-contráctiles CRYOVAC®) y distribuidas al azar a una de las seis combinaciones de tratamientos generados por el tiempo de maduración *post-mortem* (MP; 3, 14, 56 días) al vacío y en oscuridad y el tiempo de exposición aeróbica posterior (EA, 0 y 5 días). De esta forma se generó un total de 24 combinaciones de tratamientos (4 tratamientos dietarios \times 3MP \times 2 EA), y un total de 144 muestras a analizar (6 animales por tratamiento dietario). Tanto la maduración *post-mortem* como la exposición aeróbica se realizaron en una cámara con temperatura controlada a 2°C. Luego de cada período de maduración postmortem al vacío, las muestras sin exposición aeróbica (EA-0) fueron inmediatamente almacenadas a -25°C para la posterior determinación de estabilidad oxidativa, capacidad antioxidante, concentración de vitaminas liposolubles y compuestos fluorescentes.

La exposición aeróbica (EA) se realizó colocando cada muestra de carne en una bandeja de espuma sintética y recubriéndola con un film de policloruro de vinilo (PVC), permeable al oxígeno. Con el fin de realizar la simulación comercial, o vida en estante de las muestras, la carne así empaquetada se almacenó durante 0 y 5 días (EA-0 y EA-5) en una estantería con iluminación fluorescente (2000 lux; Light meter, STANDARD, ST 1308). Luego del período de exposición aeróbica las muestras fueron envasadas al vacío y almacenadas a -25°C para la posterior determinación de la estabilidad oxidativa, capacidad antioxidante, concentración de vitaminas liposolubles y compuestos fluorescentes. Una muestra adicional de carne de 2.5 cm de espesor, proveniente de cada animal, con maduración *post-mortem* de 3 días y 5 días de exposición aeróbica fue envasada al vacío y conservada a -25°C para su posterior análisis sensorial.

V.2.5. Determinación del contenido de vitaminas antioxidantes de los componentes dietarios, plasma y carne

Extracción de vitaminas

La extracción de α -tocoferol, γ -tocoferol, β -caroteno, Luteína y Retinol de las muestras se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Buttriss y Diplock (1984) con algunas modificaciones (Descalzo, 2005; 2007b). Las determinaciones se desarrollaron en las instalaciones pertenecientes al Instituto de Tecnología de Alimentos del INTA Castelar, Buenos Aires.

Para la extracción de vitaminas de las muestras de pasturas y de los suplementos dietarios (afrechillo, maíz y lino) recolectadas se picaron las muestras en una moladora Moulinex, previa determinación del contenido acuoso por secado en estufa, y se pesaron por duplicado 5 g de cada componente. Se agregaron 25 ml de Buffer Fosfato (0.05 M; pH= 7.7) y se homogeneizó la mezcla por 2 minutos a 3000 rpm utilizando un ultraturrax

T25 (IKA, Germany). Se colocó una alícuota de 1g del homogenato con 2ml de solución de Pirogallol en etanol al 1% (Sigma-Aldrich, St. Lois, MO, USA) (preparada en fresco diariamente) para prevenir la oxidación durante la fase de extracción y se incubó por 2 minutos en baño termostático (Vicking, modelo Dubnoff) a 70°C. A continuación, 0.3 ml de una solución de hidróxido de Potasio al 12N fue agregada a cada tubo de ensayo para la saponificación de los lípidos. Se mezcló el contenido de los tubos con un vortex por 10 segundos y luego se incubó en baño de agua termostático por 30 minutos a 70°C con agitación suave. Después de enfriar los tubos en agua con hielo, se agregó 1 ml de agua bidestilada para mejor separación de fases y 5 ml de Hexano grado HPLC. Se agitó vigorosamente en vortex por 2 minutos y se dejó decantar en frío. A continuación se procedió a extraer la fase superior orgánica (insaponificable, vitaminas) y se la transfirió a un nuevo tubo de vidrio con tapa a rosca de teflón. La fase acuosa fue re-extraída con 5 ml de hexano siguiendo el mismo procedimiento anterior. Los extractos combinados fueron llevados a sequedad bajo corriente de nitrógeno, re-suspendidos en 500µl de etanol absoluto (J.T. Baker, Mexico, grado HPLC) y filtrados a través de una membrana de 0.45µm de porosidad. Los extractos de las muestras de pasto, maíz y lino se diluyeron en 1/5 y las muestras de afrechillo en 1/3 con etanol absoluto antes de la inyección para obtener una mejor resolución de los picos cromatográficos.

La extracción de vitaminas en muestras de plasma se realizó sobre una alícuota de 0.5 ml de plasma por duplicado. Se adicionaron 0.5 ml de etanol absoluto (grado HPLC) para la desnaturalización de las proteínas séricas y liberación de las vitaminas. Se siguió el procedimiento descrito anteriormente para muestras de los componentes dietarios de los animales, prescindiendo del paso de saponificación. Se utilizaron 3 ml de hexano grado HPLC para realizar cada una de las extracciones.

Las extracciones sobre carne se realizaron sobre todas las muestras provenientes de los distintos tratamientos dietarios, maduras por 3, 14 y 56 días y expuestas a

condiciones aeróbicas por 0 y 5 días. Para ello se colocaron 5 g de carne fresca en tubo cónico de plástico al cual se adicionó de 10 ml de Buffer fosfato (0.05 M; pH= 7.7) preparado previamente y se siguió el procedimiento descrito para la extracción de vitaminas en los componentes dietarios.



Figura V.1. Extractos de vitaminas antioxidantes de muestras de pasto

Detección y cuantificación de vitaminas por HPLC

Todos los extractos de las muestras de los componentes dietarios, plasma y carne se analizaron por cromatografía líquida de alta performance en fase reversa (HPLC), con un equipo Thermo Separation Products, USA (TSP), utilizando una bomba cuaternaria (Spectra SYSTEM, P4000 TSP) con un desgasificador de membrana SCM1000 (TSP), conectado a un autosampler AS2000 (thermo Separation Products) con un loop de inyección (10 a 100 μ l), columna Alltima C18 (250mm x 4.6mm, tamaño de partícula 5 μ , Alltech, Argentina), provisto de una columna de seguridad (Security GuardAlltima C18, Alltech Argentina) una interface (SN4000, TSP). La corrida cromatográfica se llevó a cabo de manera isocrática con una fase móvil de etanol/metanol (60:40 v/v) a una velocidad de flujo de 1ml/min. La técnica fue adaptada para determinar tocoferoles, carotenoides y

retinol dentro de una misma corrida de 25 minutos. Para los tocoferoles un detector fluorescente FL 3000 (TSP) fue ajustado a 296-330 nm, K_{ex} y K_{em} respectivamente. Un detector de arreglo de diodo, UV6000 (Thermo Separation Products, USA) fue ajustado a 445 y 325 nm para la detección de carotenoides y retinol respectivamente.

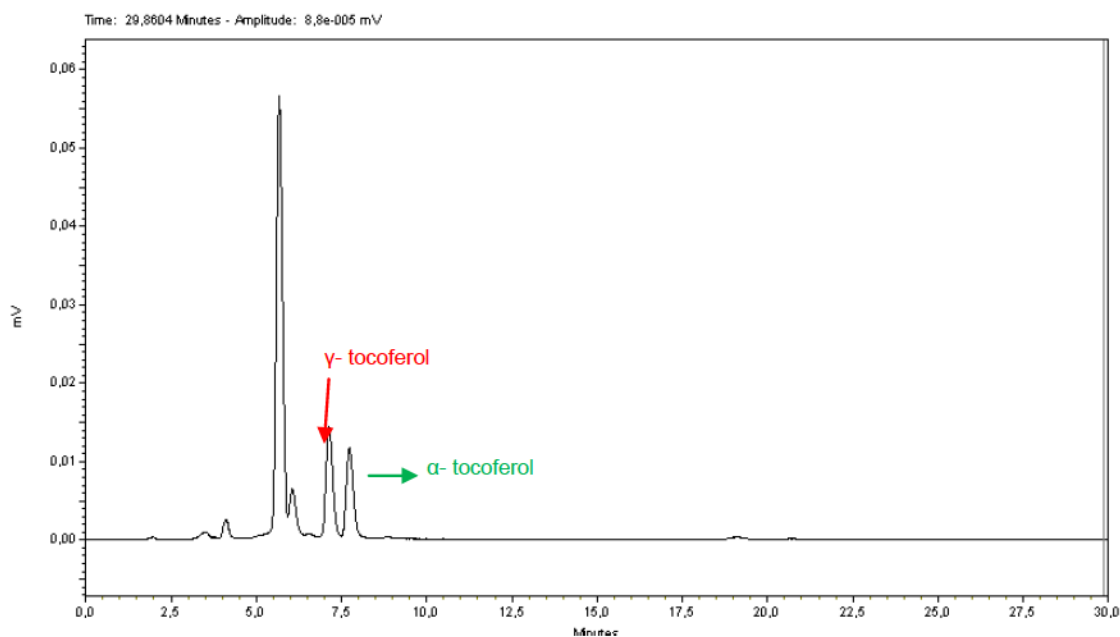


Figura V.2. Cromatograma de muestra de afrechillo. Determinación de α y γ - tocoferol con detector de fluorescencia a una longitud de onda de 330nm

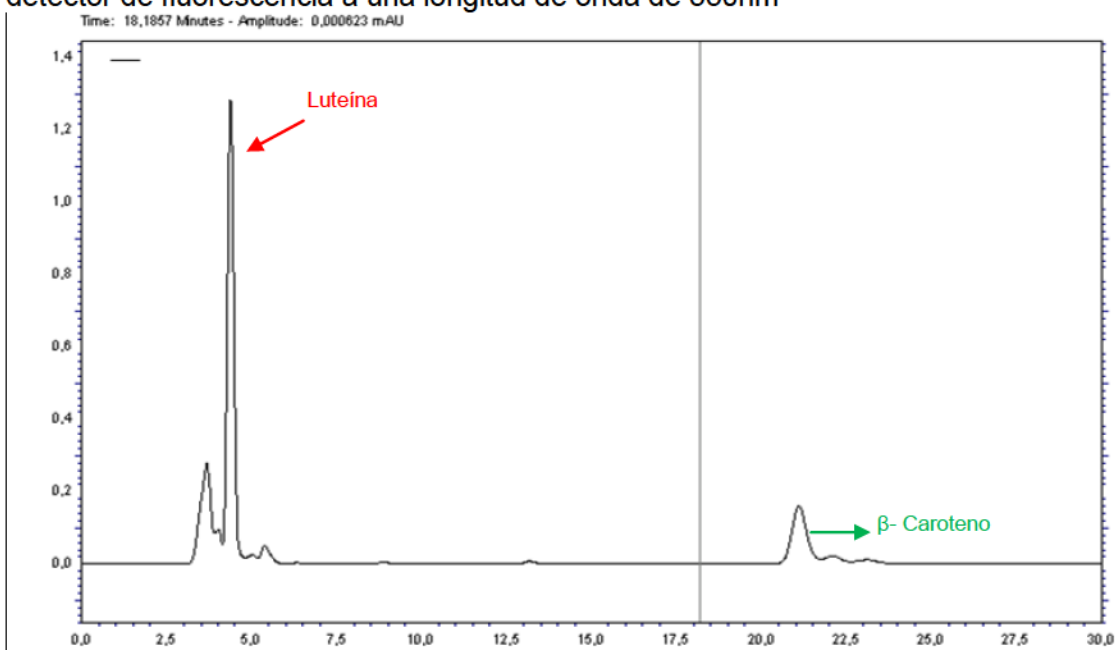


Figura V.3. Cromatograma de muestra de Pastura (Raigrass Anual). Determinación de Carotenoides (Luteína y β -caroteno) con detector de arreglo de diodos a una longitud de onda de 445nm

La cuantificación de vitaminas se efectuó utilizando estándares externos para la realización de las curvas de calibración, utilizando estándares de DL- α -tocopherol (Merck, Darmstadt, Germany), γ -tocoferol, β -caroteno y acetato de retinol (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) diluidos en etanol absoluto.

Los cromatogramas fueron registrados y analizados utilizando el software Chromquest versión 4.0 (ThermoFinnigan).

A partir de las ecuaciones de la recta obtenidas de las curvas de calibración y las áreas cromatográficas correspondientes a las muestras se determinó la concentración de cada vitamina en $\mu\text{g/g}$ ó $\mu\text{g/ml}$ en carne, plasma y componentes dietarios de los animales.

V.2.6 Capacidad antioxidante: Ensayo del poder antioxidante/reducción férrica (FRAP)

El ensayo FRAP fue originalmente descrito para medir el poder reductor total de fluidos biológicos, tradicionalmente aplicado a plasmas, bebidas, frutas y extractos vegetales (Ou y col, 2002).

Los compuestos antioxidantes como α -tocoferol, Trolox, vitamina C, ácido úrico, bilirrubina, entre otros, son capaces de reducir el complejo Fe-TPTZ (Fe-tripiridiltriazina) de férrico a ferroso desarrollando una coloración azul. A bajo pH, el complejo Ferril tripiridiltriazina (Fe^{III} -TPTZ) es reducido a ferroso (Fe^{II}) desarrollando un intenso color azul con un máximo de absorción a 593 nm.

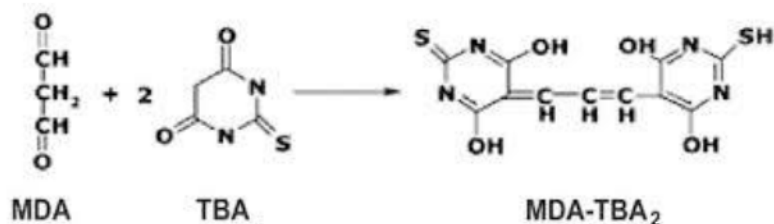
En el presente trabajo se utilizó el ensayo de FRAP para medir iones endógenos de la carne que podrían reaccionar con el TPTZ desarrollando color azul (Fe^{II}) siguiendo el procedimiento descrito por Descalzo y col., (2007a). Las determinaciones se desarrollaron en las instalaciones pertenecientes al Instituto de Tecnología de Alimentos del INTA Castelar, Buenos Aires. Se analizaron las muestras de carne proveniente de los

distintos tratamientos dietarios, maduras por 3, 14 y 56 días, al inicio (EA-0) y al final (EA-5) de la exposición aeróbica. Las muestras, previamente picadas, se homogeneizaron en buffer de fosfato de potasio a pH 7.2 con un Ultraturrax (IKA, Alemania) por 2 min a 3000 rpm. Los homogenatos se centrifugaron a 10.000 g durante 30 min y el sobrenadante fue recolectado. Una alícuota de 83µl de sobrenadante por duplicado fue adicionada a 2.5 ml del buffer FRAP conteniendo TPTZ 10mM en HCl 40 mM y Fe_2Cl_3 adicionado a un buffer acetato 300 µM. La mezcla de reacción fue incubada por 30 min a 37°C en baño de agua, enfriada en una batea de agua con hielo e inmediatamente medida a una longitud de onda de 593 nm (Espectrofotómetro UV-Vis Lambda-BIO 20, Perkin Elmer). El paso de incubación a 37°C se realizó para obtener un desarrollo completo del color y una mejor resolución de las diferencias entre los tratamientos. Las muestras de plasmas fueron adicionadas directamente a los reactivos sin previo procesamiento.

La actividad de FRAP de las muestras fue calibrada con una curva estándar de Sulfato ferroso ($\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Sigma–Aldrich, Argentina, SA) en un rango de concentración desde 100 a 10000 µM. Los resultados fueron expresados como equivalente de Fe^{II} en µM.

V.2.7. Estabilidad oxidativa de los lípidos: Ensayo de TBARS

Para la determinación de la oxidación lipídica, se utilizó el método del ácido tiobarbitúrico el cual reporta las sustancias reactivas al TBA (ácido tiobarbitúrico) según las modificaciones propuestas por Jo y Ahn, (1998). Este es un método ampliamente utilizado para detectar peroxidación lipídica. Mide el malonaldehído (MDA) formado como principal producto de la degradación de hidroperóxidos generados por la oxidación lipídica. El complejo formado entre el MDA y el TBA resulta en un producto de coloración rosa que presenta un máximo de absorción a 530- 532nm.



Las determinaciones se desarrollaron en las instalaciones pertenecientes al CIDCA de La Plata. Este análisis se realizó por duplicado en todas las muestras de carne maduradas por 3, 14 y 56 días, al inicio (EA-0) y al final (EA-5) de la exposición aeróbica. Se colocaron 5 g de carne en un tubo cónico de plástico. Se adicionó 15 ml de agua destilada dentro de cada tubo y se homogeneizó por 2 min en ultraturrax (Zipperer, Alemania) en baño de agua con hielo. Se registró el volumen del homogenato obtenido y se transfirió 1 ml del mismo a un tubo de centrifuga al que se le adicionó 50 μ l de BHT al 7.2% en etanol para evitar la oxidación lipídica y 2 ml de TBA 20 μ M en TCA (Ácido tricloroacético) al 15%. El TCA se utiliza para precipitar la proteína presente y solubilizar las TBARS. A continuación se incubó en baño de agua termostaticado por 30 min a 70°C, se enfriaron los tubos en baño de agua con hielo durante 10 min, los tubos se centrifugaron en una ultracentrífuga refrigerada por 15 min a 4000 r.p.m. Finalmente se determinó la absorbancia del líquido sobrenadante a 531 nm contra un blanco en un espectrofotómetro.

Diariamente se preparó una curva estándar preparando diluciones de concentración conocida con un estándar comercial de 1,1,3,3 -tetraetoxipropano (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). A partir de las ecuaciones de las rectas obtenidas de cada curva estándar se determinó la concentración en μ M de las muestras. Finalmente, los resultados fueron expresados como mg de Malonaldehido (MDA) por kg de carne.

V.2.8. Color

Las mediciones de color se llevaron a cabo con un colorímetro triestímulo Minolta CR-310 (KONICA MINOLTA SENSING AMERICAS Inc., New Jersey, E.E.U.U.), utilizando la escala de L^*a^*b (CIE). Las condiciones de medida fueron: área de apertura de 5cm de diámetro, iluminante artificial D65 y un ángulo de observador de 10° . El equipo fue calibrado con una placa blanca ($Y = 93.9$, $x = 0.3159$, $y = 0.3320$).

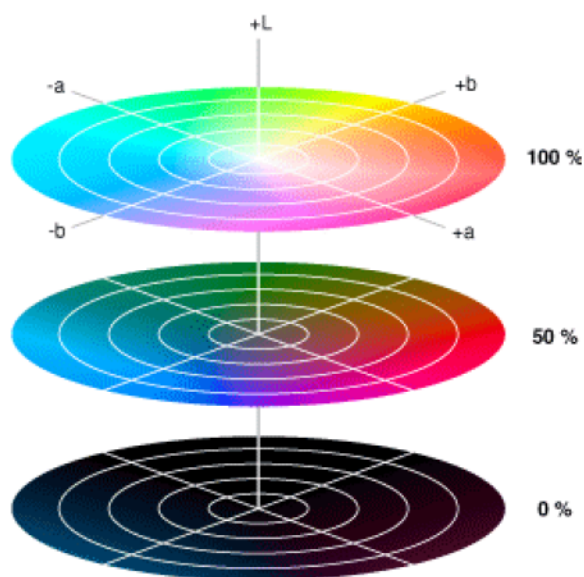


Figura V.4. Espacio Colorimétrico

Diariamente se determinó el color de las muestras expuestas a condiciones aeróbicas después de cada tiempo de maduración al vacío (MP-3, MP-14 y MP-56). Cada muestra se expuso por 30 min a condiciones atmosféricas para permitir el desarrollo del color previo a la primera medición. Se realizaron tres determinaciones del color en cada muestra y se registraron y analizaron los valores de a^* . El eje de coordenadas de a^* representa la variación entre rojizo-verdoso. A mayores valores de este parámetro mayor será el color rojo que presenta una muestra, en este caso de carne (Figura V.4).

V.2.9. Determinación de compuestos fluorescentes: Espectroscopía de fluorescencia

Una gran variedad de tejidos biológicos contienen compuestos naturalmente fluoróforos, la emisión generada desde estos compuestos es llamada fluorescencia intrínseca (o autofluorescencia) que puede ser detectada por espectroscopía de fluorescencia. Las proteínas miofibrilares de los músculos exhiben fluorescencia intrínseca (Undenfriend, 1969). La carne contiene una serie de componentes fluoróforos relativamente fuertes, como lo son los residuos de triptófano en las proteínas, vitamina A, riboflabina (Vitamina B2), NADH, piridinolina en colágeno, porfirinas, productos de reacción formados por productos secundarios de la oxidación lipídica y aminoácidos, etc. Debido a que sus longitudes de onda de excitación y emisión han sido caracterizadas (Engelandsdal y col., 2005; Schneider y col., 2008; Skjervold y col., 2003; Verberg y col., 2006), esto hace a la carne un buen producto para realizar estudios de fluorescencia. En particular, en el presente Capítulo se buscó determinar compuestos fluorescentes relativos a la estabilidad oxidativa de la carne, como el aminoácido triptófano (sensible a los procesos de oxidación), compuestos de interacción entre productos de oxidación lipídica y proteínas (compuestos terciarios de la oxidación) y porfirinas que son compuestos altamente sensibles a la fotooxidación.

Mediciones de fluorescencia

Este análisis se realizó por duplicado en las muestras de carne proveniente de cada tratamiento dietario y maduradas por 3, 14 y 56 días, al inicio (EA-0) y al final (EA-5) de la exposición aeróbica.

Los espectros de fluorescencia fueron medidos utilizando un LS 55 fluorescence Spectrometer 230V (PerkinElmer, Massachusetts, Estados Unidos) montado con el accesorio *front-surface* de ángulo variable con platina de cuarzo para la medición directa

de las muestras. El ángulo incidente sobre la muestra fue de 60° para asegurar que la luz reflejada, la radiación dispersada y el fenómeno de despolarización fueran minimizados. Para la excitación se utilizó una lámpara de Xenón. Se probaron *slit* de excitación y emisión (cantidad de luz que se deja pasar) de 5, 10, 13 y 15 nm. Los mayores picos se obtuvieron con un *slit* de 10 nm que fue utilizado para todas las determinaciones concordando con lo reportado por Gattellier, y col., (2007). Se realizaron espectros sincrónicos de fluorescencia por escaneo simultáneo de los monocromadores de excitación y emisión para detectar los picos máximos de fluorescencia en muestras de carne. Se obtuvo el mapa completo de fluorescencia 3D, que permitió identificar la excitación exacta y la emisión máxima de cada pico detectado. Los espectros de emisión fueron medidos directamente sobre la superficie de muestras de carne previamente cortadas y colocadas sobre el accesorio *front-surface*. Antes de la medición, las muestras fueron equilibradas a temperatura ambiente (18 °C) por 30 minutos.

- Espectros de emisión y excitación. Los espectros de emisión se registraron en el intervalo de longitud de onda dentro de los rangos de 300-460, 400-550 y 500-750 nm con excitación a 292 nm, 350 nm y 432nm, 408 nm (doble pico), respectivamente.

V.2.10. Ensayo de aceptabilidad por consumidores

Se evaluó la aceptabilidad por consumidores de los bifos de carne madurada por 3 días y expuesta a condiciones aeróbicas por 5 días proveniente de las dietas CNTRL, LINO-1 y LINO-2. Este ensayo se realizó con el objetivo de determinar si la suplementación de animales en pastoreo con grano de maíz y niveles crecientes de lino modifica distintos atributos sensoriales a nivel consumidor; no se realizó en la totalidad de las muestras debido al alto requerimiento de carne y la imposibilidad de obtener dicha

cantidad. Por otra parte un elevado número de muestras a evaluar podría causar fatiga en los consumidores y por lo tanto datos poco reproducibles.

Cocción y presentación de muestras a evaluadores: La cocción y presentación de muestras se realizó siguiendo el procedimiento del AMSA (American meat Science Association), 1995. Una vez descongelada la muestra en cámara a 3-4°C, cada bife de 2.5 cm de espesor fue sometido a cocción en parrillas eléctricas Faberware (Bronks, NY) dispuestas con termocuplas conectadas a un registrador digital de temperatura (Scanning Thermometer, Digi-Sense, ColePalmer). Cada termocupla fue situada en el centro geométrico de las muestras de carne. La cocción se realizó dando vuelta las muestras cuando alcanzaban $36 \pm 0.5^\circ\text{C}$ y luego se cocinaron hasta una temperatura final de $71 \pm 0.5^\circ\text{C}$. A continuación se procedió a eliminar los bordes de las muestras y luego a cortarla en cubos de 1 cm de lado. Las muestras (3 cubos por tratamiento) fueron envueltas en papel de aluminio y mantenidas a 50°C en una estufa eléctrica hasta el momento de la degustación. Las muestras fueron presentadas a los consumidores en cajas de Petri de vidrio cerradas.

Para el ensayo de aceptabilidad se utilizó una escala hedónica de 10 cm (donde el extremo izquierdo indica me disgusta mucho y el extremo derecho indica me gusta mucho). En dicha recta el consumidor marcó con una línea transversal el puntaje considerado para cada atributo según su grado de satisfacción. El análisis de los datos se realizó midiendo la distancia en centímetros desde el extremo izquierdo hasta la marca realizada para cada atributo. El ensayo se llevó a cabo en las cabinas del laboratorio de evaluación sensorial del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Balcarce. Se convocó a todo el personal científico, técnico y administrativo del INTA a participar. Se realizó durante 3 días consecutivos en el horario de la mañana entre 10:45 y 12:00 horas. Se trabajó con un amplio rango de edades, abarcando jóvenes adultos a adultos (25 a 60

años) sin distinción de sexo. Las evaluaciones se realizaron en grupos de 6 consumidores por vez, sobre un total de 57 personas. Como requisito para participar se les solicitó que dispusieran de 15 minutos. Se les explicó la modalidad del ensayo y su importancia para evitar que realizaran comentarios entre los participantes.

A cada grupo de consumidores se les explicó la metodología de trabajo. Se les solicitó que evaluaran el olor, sabor, textura y aceptación general en el orden presentado en la planilla (Figura V.5). A cada participante se le entregó una copia de la planilla, un vaso con agua mineral a temperatura ambiente y una galletita de agua sin sal para neutralizar el sabor entre muestra y muestra. Inmediatamente se le sirvió una porción caliente de cada muestra cocida envuelta en papel de aluminio y codificada con un número de 3 dígitos elegidos al azar.

ENSAYO DE ACEPTABILIDAD EN CARNE BOVINA

Consumidor N°..... Sexo:..... Edad:..... Fecha.....

Utilizando la siguiente escala, por favor evalúe la aceptabilidad de cada atributo siguiendo el orden presentado y luego la aceptabilidad general. Comience por la muestra 289, continúe con la 732 y 561.

Marque con una línea transversal donde considere su puntuación para cada atributo.

| MUESTRA N° 289 | Disgusta mucho | Gusta mucho |
|------------------------|----------------|-------------|
| Olor | _____ | |
| Sabor | _____ | |
| Textura (terneza) | _____ | |
| Aceptabilidad General: | _____ | |

| MUESTRA N° 732 | Disgusta mucho | Gusta mucho |
|------------------------|----------------|-------------|
| Olor | _____ | |
| Sabor | _____ | |
| Textura (Terneza) | _____ | |
| Aceptabilidad General: | _____ | |

| MUESTRA N° 561 | Disgusta mucho | Gusta mucho |
|------------------------|----------------|-------------|
| Olor | _____ | |
| Sabor | _____ | |
| Textura (Terneza) | _____ | |
| Aceptabilidad General: | _____ | |

Figura V.5. Ficha sensorial para el ensayo de aceptabilidad global y por atributos por consumidores

V.2.11. Análisis estadístico de los datos

Los datos de consumo y concentración de antioxidante en plasma fueron analizados por un ANOVA como un Diseño Completamente Aleatorizado (DCA) con cuatro tratamientos dietarios, CNTRL, LINO-0, LINO-1 y LINO-2. El mismo modelo fue utilizado para analizar los datos de evaluación sensorial con tres tratamientos dietarios (CNTRL, LINO-1 y LINO-2).

Para evaluar el efecto de la dieta, la maduración post-mortem (MP) y exposición aeróbica (EA) sobre el estado antioxidante (FRAP, concentración de vitaminas) y la estabilidad oxidativa de los lípidos (TBARS, Fluorescencia) se utilizó un diseño en parcelas divididas de dietas (4) con arreglo factorial en la maduración postmortem y exposición aeróbica (3 MP X 2 EA). El animal dentro de dieta fue utilizado como error de la parcela principal. Todas las interacciones fueron incluidas en el modelo estadístico. Para evaluar el parámetro de color rojo expresado como a^* se utilizó un diseño Split-plot con medidas repetidas en el tiempo. Todos los datos fueron analizados mediante el procedimiento MIXED del paquete estadístico de SAS. Las medias mínimas cuadradas de los tratamientos fueron computadas para los efectos principales y su interacción y fueron separadas utilizando test T ($P < 0.05$).

V.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V.3.1. Consumo de vitaminas antioxidantes y estado antioxidante en plasma

Las pasturas junto con el afrechillo mostraron las mayores concentraciones de α -tocoferol, con alrededor de 7 veces más de α -tocoferol que el maíz y el lino (Tabla V.1.), mientras que la semilla de lino tuvo casi 4 veces más γ -tocoferol respecto al resto de los

componentes dietarios. Las pasturas mostraron los mayores niveles de β - caroteno y Luteína.

Tabla V.1. Contenido de vitaminas antioxidantes en los alimentos (pastura y suplementos)

| Item | Pastura | Grano de maíz | Semilla de lino | Afrechillo |
|----------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
| Vitaminas (mg/kg)* | | | | |
| α -Tocoferol | 10.46 \pm 1.33 | 1.39 \pm 2.39 | 1.58 \pm 0.48 | 10.93 \pm 0.35 |
| γ - Tocoferol | 10.02 \pm 1.46 | 14.10 \pm 3.76 | 42.59 \pm 4.06 | 9.81 \pm 3.36 |
| β -Caroteno | 86.18 \pm 4.16 | 1.47 \pm 0.22 | 0.23 \pm 0.07 | 0.07 \pm 0.03 |
| Luteína | 955.17 \pm 56.0 | 161.75 \pm 15.0 | 6.54 \pm 0.76 | 7.78 \pm 3.19 |

*mg/kg de materia seca

En la tabla V.2 se muestran los consumos individuales de antioxidantes y el estado antioxidante en plasma de animales. Los tratamientos dietarios solo afectaron el consumo de γ -tocoferol ($P < 0.0001$). Los animales suplementados mostraron un mayor consumo de esta vitamina respecto al tratamiento CNTRL. El mayor consumo de γ -tocoferol se observó en LINO-2, y el menor en CNTRL, siendo los consumos en LINO-0 y LINO-1 intermedios.

Tabla V.2. Consumo individual y concentración de antioxidantes y FRAP en plasma de novillos en pastoreo provenientes de la dieta CNTRL, LINO-0, LINO-1 y LINO-2 .

| item | CNTRL | LINO-0 | LINO-1 | LINO-2 | Error estándar | P-valor |
|--|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------|---------|
| Consumo individual de vitaminas antioxidantes | | | | | | |
| α -tocoferol (mg/día) | 102.36 | 122.54 | 107.18 | 106.16 | 7.69 | 0.29 |
| γ -tocoferol(mg/día) | 97.47 ^c | 158.95 ^b | 166.78 ^b | 193.28 ^a | 7.92 | <0.0001 |
| β -caroteno (mg/día) | 757.92 | 888.44 | 757.83 | 735.83 | 62.44 | 0.32 |
| Luteína (mg/día) | 8406.69 | 10334 | 8874.87 | 8656.69 | 695.11 | 0.23 |
| Estado antioxidante en plasma | | | | | | |
| α -tocoferol (μ g/ml) | 2.11 ^{ab} | 1.96 ^b | 2.37 ^a | 1.79 ^b | 0.13 | 0.02 |
| γ -tocoferol(μ g/ml) | 0.03 | 0.03 | 0.04 | 0.05 | 0.006 | 0.16 |
| β -caroteno (μ g/ml) | 7.77 | 6.32 | 8.99 | 6.94 | 0.72 | 0.07 |
| Luteína (μ g/ml) | 0.31 | 0.19 | 0.27 | 0.19 | 0.05 | 0.31 |
| Retinol (μ g/ml) | 0.31 | 0.33 | 0.32 | 0.32 | 0.02 | 0.93 |
| Actividad antioxidante total FRAP (μ M Fe ^{II}) | 661.2 | 625.5 | 620.2 | 613.6 | 21.48 | 0.41 |

*Letras distintas dentro de la misma fila indica diferencias significativas ($P < 0.05$)

Los niveles de α -tocoferol en las pasturas fueron relativamente bajos en este experimento (10.46 mg/kg de materia seca). Sickel, Bilger y Ohlson (2012), encontraron que la concentración media de α -tocoferol en pasturas de la región de los Alpes de Noruega osciló desde aproximadamente 5 ± 2 (*Poa alpine*) a 649 ± 91 (*Viola biflora*) mg/kg de materia seca de muestra de tejido. Hartikainen, Xue y Piironen (2000) reportaron un valor medio de 16.5 ± 2.3 mg/kg de raigrás fresco. El nivel encontrado en el presente experimento fue inferior a los niveles reportados por Lynch y col, (2001), de 14.48 ± 0.36 mg/kg de pastura. Como fue mencionado en el capítulo anterior, la pastura consumida por estos animales durante el período de terminación (primavera tardía) se encontraba en estados avanzados de madurez fisiológica, que podían explicar los bajos rendimientos de tocoferol en las pasturas. Tejerina y col., (2011) encontraron una gran variación inter e intra- anual en el contenido de tocoferoles (α y γ) y ácidos grasos de las pasturas, los mismos concluyeron que estos cambios podrían ser responsables de diferente acumulación de estos compuestos en los tejidos de los animales que consumen estas pasturas, afectando por lo tanto la estabilidad oxidativa, la composición y la calidad de la carne.

Contrariamente, el nivel de β -caroteno encontrado en el presente trabajo fue levemente superior que lo reportado por otros autores (Lindqvist, Nadeau y Jensen 2012), indicando por lo tanto que las pérdidas de vitaminas no fueron debidas a la manipulación de las muestras (ya que el β -caroteno es extremadamente lábil a la exposición al aire y a la luz).

Con respecto a la incorporación de vitaminas en plasma sólo se detectaron diferencias ($P < 0.05$) para la concentración de α - tocoferol. Los mayores niveles se observaron en LINO-1 y los menores en LINO-0 y LINO-2, mientras que CNTRL mostró valores intermedios. La actividad antioxidante (FRAP) en plasma no fue afectada ($P > 0.05$) por el tratamiento dietario impuesto a los animales.

El nivel de α -tocoferol en plasma fue casi 70 veces mayor que los niveles del isómero γ . A pesar de la relativa abundancia de ambos isómeros en la dieta, el α -tocoferol es preferencialmente retenido en los mamíferos por la acción de la proteína de transferencia de α -tocoferol (α -TPP) presente en el hígado, que incorpora preferencialmente α -tocoferol dentro de las lipoproteínas que están circulando dentro de la sangre (Trabber, 1999). Sin embargo los niveles de α -tocoferol en plasma fueron en general bajos respecto a lo reportado por otros estudios en animales criados en pasturas (Yang y col., 2002a; Descalzo y col., 2005). Es de destacar que el consumo de α -tocoferol estimado por Yang, y col., (2002a) para los animales en pastoreo por 120 días de ensayo superó en casi 20 veces al consumo del presente estudio; estos autores subrayaron la elevada calidad de las pasturas consumidas por los animales, pero no fue reportado en dicho estudio la concentración de α -tocoferol de las mismas.

V.3.2. Vitaminas antioxidantes en carne

a) α - tocoferol

El efecto de las interacciones MP x EA y DIETA x EA fueron altamente significativos ($P= 0.0173$ y $P= 0.0042$, respectivamente) sobre la concentración ($\mu\text{g/g}$ de carne) de α -tocoferol en carne; así como cada uno de los efectos principales de DIETA, MP y EA ($P= 0.0169$; $P= 0.0351$ y $P < 0.0001$, respectivamente). La doble interacción DIETA x MP y la triple interacción DIETA x MP x EA, resultaron no significativas ($P= 0.4063$ y $P= 0.3299$, respectivamente).

Para las tres maduraciones probadas se observó una reducción significativa en el nivel de α -tocoferol a los 5 días de exposición aeróbica respecto a sus valores iniciales (EA-0). En ausencia de oxígeno (EA-0) la concentración de α -tocoferol fue mayor en MP-3

y MP-14 que en la restante maduración (MP-56), en EA-5 no hubo diferencias entre los distintos periodos de maduración (Figura V.6.A).

De la misma manera, en EA-0 se observaron diferencias en el contenido de alfa-tocoferol asociado a los tratamientos dietarios, pero las mismas desaparecieron en EA-5. En EA-0 el contenido de alfa-tocoferol fue mayor en CNTRL y LINO-1 que en LINO-0 y LINO-2 que no difirieron entre sí. (figura V.6.B).

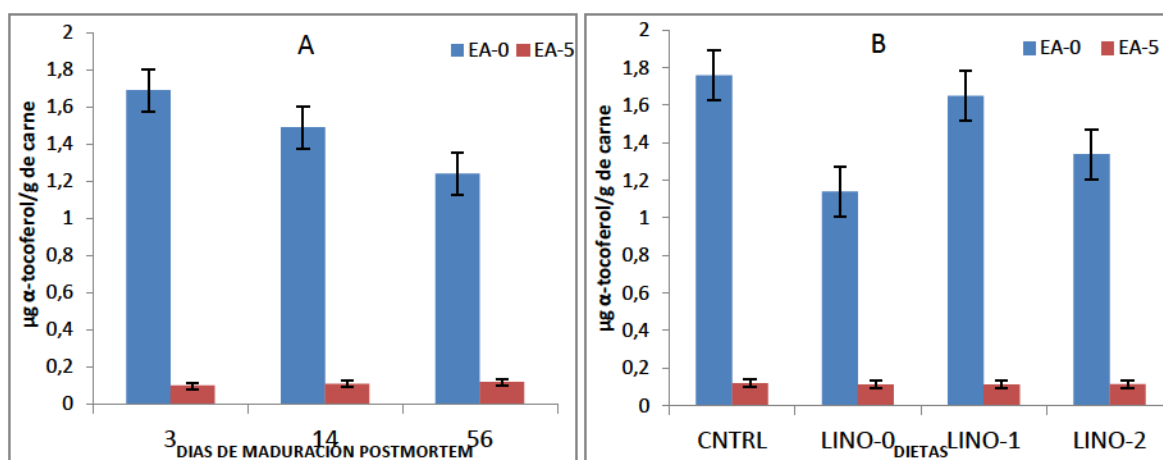


Figura V.6.A) Efecto de los días de maduración postmortem al vacío (MP) y los días de exposición aeróbica (EA) sobre la concentración de α -tocoferol en carne, promedio de las cuatro dietas. B) Efecto de las dietas y los días de exposición aeróbica (EA) sobre la concentración de α -tocoferol en carne, promedio de las tres maduraciones postmortem al vacío.

Como era de esperar, el α -tocoferol fue la vitamina antioxidante liposoluble más abundante incorporada en el músculo. Independientemente del tratamiento dietario, el nivel inicial (MP-3, EA-0) de α -tocoferol en carne observado en este trabajo fue de 1.70 $\mu\text{g/g}$ de carne. Otros autores, (Yang y col., 2002a) reportaron niveles de α -tocoferol de 4.5 ± 0.21 $\mu\text{g/g}$ de carne para animales en pastoreo; mientras que Fredriksson-Eriksson y Pickova (2007) reportaron niveles relativamente bajos de 1.03, 1.20 y 1.06 $\mu\text{g/g}$ carne de

α -tocoferol para animales terminados sobre pasturas, ensilado de pasto y ensilado de pasto con grano, respectivamente.

Al igual que en el plasma, el mayor contenido inicial de α -tocoferol en carne (EA-0) en los animales CNTRL y LINO-1 probablemente está asociado a la mejor incorporación ó menor consumo de vitaminas dentro del tejido, ó la presencia de otros factores en el suplemento que interactúan con su incorporación. Luciano y col., (2012), postularon que la elevada proporción relativa de γ -tocoferol de menor disponibilidad en las dietas con elevado contenido de lino (en este caso, LINO-2) podría alterar o disminuir la deposición de α -tocoferol en los tejidos. Por otra parte, no sólo la dieta de los animales podría explicar la deposición diferencial de vitaminas en músculo. Existen otros factores, como condiciones metabólicas de los animales ó factores del comportamiento animal que podrían interferir con la incorporación de vitaminas en plasma y músculo (Knight y col., 1994; Nockels, Odde y Craig., 1996) y deberán ser estudiados en un futuro.

La drástica reducción en la concentración de α -tocoferol con la exposición aeróbica, se debería al consumo de las vitaminas antioxidantes en la carne que interactuaron para contrarrestar la oxidación lipídica. Similarmente, Insani y col., (2007) observaron una reducción del contenido de α -tocoferol en carne con diferentes contenidos iniciales de tocoferoles (pasturas y granos) cuando las mismas fueron almacenadas por 9 días en condiciones de simulación comercial. La reducción en los niveles de α -tocoferol con la maduración de la carne al vacío está en concordancia con otros trabajos (Fredriksson-Eriksson y Pickova., 2007; Descalzo y col., 2007b; Franco y col., 2012).

b) γ -tocoferol

Sólo el efecto de la interacción entre los días de maduración *post-mortem* y el período de exposición aeróbica así como cada uno de sus efectos principales (MP y EA) fue significativo ($P < 0.05$) para el contenido de γ -tocoferol en carne. Las restantes interacciones y la dieta resultaron no significativos ($P > 0.05$) para ésta vitamina.

Tanto en MP-3 como en MP-56 la concentración de γ -tocoferol fue mayor en EA-0 que en EA-5, mientras que en MP-14 no se observaron diferencias entre ambas exposiciones. A su vez, la concentración en EA-0 fue mayor en carne madurada por 3 días que en las restantes maduraciones; al igual que para el α -tocoferol, no se observaron diferencias entre los períodos de maduración para la carne expuesta por 5 días de EA (EA-5) (Figura V.7.).

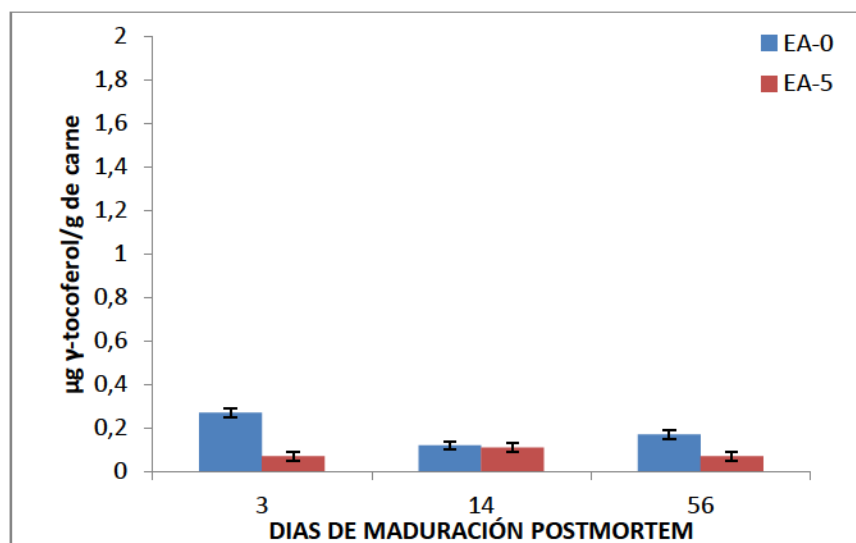


Figura V.7. Efecto de los días de maduración postmortem al vacío (MP) y los días de exposición aeróbica (EA) sobre la concentración de γ -tocoferol en carne promedio de todas las dietas.

La falta de efecto entre tratamientos dietarios para el nivel de γ -tocoferol en la carne se debería a la baja concentración en la que estos antioxidantes son absorbidos en el tejido. Existen pocos estudios que hayan comparado la dieta de los animales sobre los niveles de γ -tocoferol en músculo (Scollan y col., 2014), generalmente este no es reportado por las bajas concentraciones en las que se encuentra. Fredriksson-Eriksson y Pickova (2007) encontraron que la concentración de γ -tocoferol del músculo Longissimus de ganado bovino alimentado sobre pasturas, silaje ó silaje suplementado con grano se

encontraba por debajo del límite de detección. En tanto que Mahecha y col., (2009), encontraron que la restricción dietética (silaje de pasto y maíz) a los animales en terminación disminuía los niveles de γ -tocoferol en músculo, los niveles reportados por dichos autores fueron casi 5 veces inferior a los del presente estudio, mientras que los niveles del presente estudio se asemejaron a las concentraciones reportadas por Descalzo y col., (2007b) en animales en pastoreo. Similarmente a lo reportado por estos últimos autores, se observó que casi la mitad de γ -tocoferol incorporado en la carne fue consumido después de 14 días de maduración al vacío.

c) *Luteína, β -caroteno y Retinol*

Sólo se observó una interacción significativa ($P= 0.02$) entre MP y EA para el contenido de Luteína. El efecto de la dieta y las restantes interacciones evaluadas resultaron no significativas para la concentración de estos tres antioxidantes.

El contenido de luteína en la carne se redujo significativamente con la exposición aeróbica (EA-0 vs EA-5) para carne madurada por 3 días, pero no hubo diferencias entre EA para las restantes maduraciones probadas. En carne sin exposición aeróbica (EA-0) se observó una reducción ($P < 0.05$) a los 14 días de maduración *post-mortem*, que luego se mantuvo a los 56 días; mientras que en EA-5 todas las maduraciones evaluadas mostraron similares niveles de luteína en carne. (Figura V.8.).

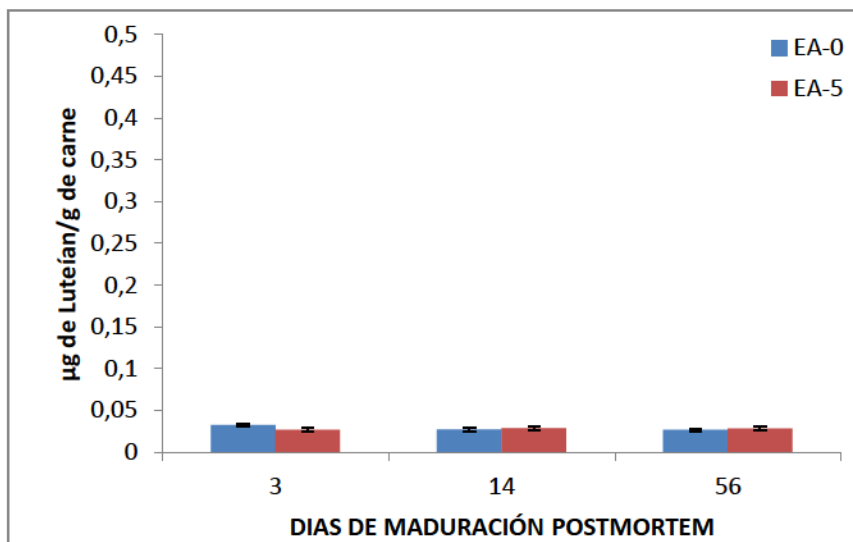


Figura V.8. Efecto de los días de maduración postmortem al vacío (MP) y los días de exposición aeróbica (EA) sobre la concentración de Luteína en carne promedio de todas las dietas.

El contenido de β -caroteno y retinol en la carne no fueron afectados por los tratamientos evaluados (dieta, período de maduración o exposición aeróbica). La concentración media de β -caroteno y Retinol fue de 0.18 y 0.08 $\mu\text{g/g}$ de carne respectivamente.

En ganado bovino, el β -caroteno es el principal carotenoide absorbido en el intestino (Yang, y col., 1993). La falta de efecto de los tratamientos dietarios sobre la concentración de β -caroteno en músculo se debería a que su consumo en las pasturas (principal fuente de este carotenoide) no difirió, mientras que los componentes de los suplementos dietarios (maíz, lino y afrechillo) no contribuyen de manera significativa a este antioxidante. En general, los niveles de β -caroteno en músculo muestran una gran variabilidad entre experimentos y tipos de músculos (Descalzo y Sancho, 2008). La concentración media de β -caroteno (0.18 $\mu\text{g/g}$ de carne) observada en este experimento fue menor que reportes previos (0.45 \pm 0.21 $\mu\text{g/g}$; Descalzo y col., 2005), similar a 0.16

$\mu\text{g/g}$ reportado por Yang, y col., (2002a) y marginalmente mayor que lo reportado por Walshe y col., (2006) para el músculo *longissimus* de ganado bovino en pastoreo. Similarmente, Insani, y col., (2007) no encontraron una modificación del nivel de β -caroteno con la exposición aeróbica en carne conteniendo bajos niveles iniciales ($0.17\mu\text{g/g}$ de carne, similares a los del presente estudio), pero estos autores observaron una clara tendencia a la disminución cuando el nivel inicial fue mayor ($0.74\mu\text{g/g}$ de carne), sugiriendo que el grado de consumo del β -caroteno en músculo podría depender de sus concentraciones iniciales.

V.3.3. Poder reductor férrico (FRAP) ó capacidad antioxidante total de la carne

El efecto de la maduración *post-mortem* sobre el FRAP de la carne varió en función del tiempo de de exposición aeróbica (interacción MP x EA; $P= 0.003$), así como cada uno de sus efectos principales (MP y EA; $P< 0.001$); mientras que las restantes interacciones evaluadas y el efecto de la DIETA resultaron no significativos ($P> 0.05$) para este parámetro.

Se observó una reducción significativa ($P< 0.05$) del valor de FRAP a los 5 días de exposición aeróbica en carne madurada por 3, 14 y 56 días, respecto a sus valores iniciales (EA-0). En ausencia de exposición aeróbica (EA-0), la capacidad antioxidante total disminuyó significativamente ($P< 0.05$) a través de los días de maduración *post-mortem*, siendo MP-3 el que presentó los mayores niveles de FRAP, siguiendo en orden descendente MP-14 y MP-56. A los 5 días de EA se observó una reducción del 19% en el valor de FRAP a partir de los 14 d MP, que luego se mantuvo a los 56d MP. (Figura V.9.)

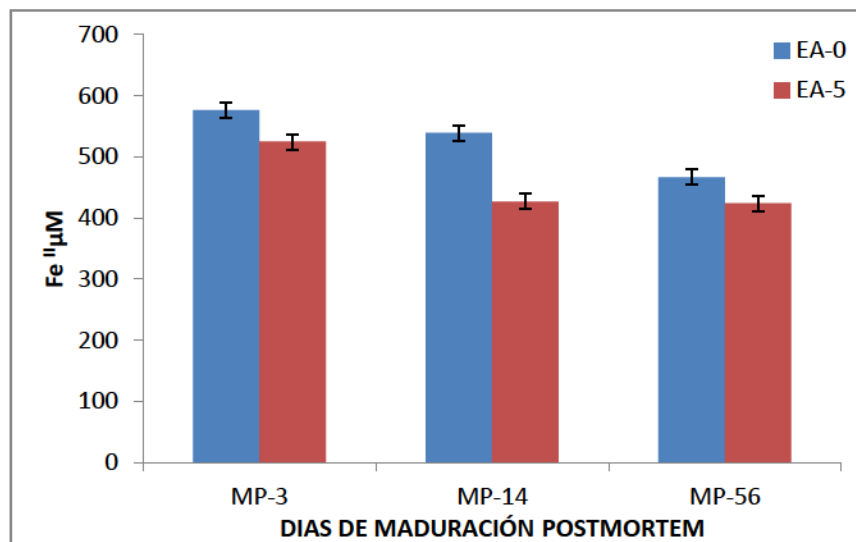


Figura V.9. Efecto de los días de maduración postmortem al vacío (MP) y los días de exposición aeróbica (EA) sobre el nivel de FRAP en carne promedio de los cuatro tratamientos dietarios.

El valor de FRAP determina la capacidad reductora total ó capacidad antioxidante de las muestras. Mahecha y col (2011) mostraron que los extractos hidrofílicos del músculo longissimus tuvieron mayor capacidad antioxidante que los extractos lipofílicos, usando tanto el método TEAC como FRAP. En el presente trabajo, el FRAP fue medido en la fracción acuosa de los extractos. Por lo tanto, la capacidad antioxidante medida por esta técnica probablemente sea complementaria a la acción de los antioxidantes liposolubles. Una correlación positiva entre el FRAP y el nivel de α -tocoferol en músculo ha sido previamente reportada por Descalzo, y col., (2007a). Por lo tanto la medición realizada en este estudio es utilizada como un indicador de la capacidad antioxidante total de los homogenatos de carne.

Si bien en este estudio no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos dietarios para el nivel de FRAP en carne, se observó, en promedio, mayores niveles de FRAP para la carne de LINO-1 y CNTRL (515 μ M y 510 μ M) que para LINO-0 y

LINO-2 (468 μM y 478 μM). Esto podría ser atribuido a las menores concentraciones de α -tocoferol obtenidas en el músculo LINO-0 y LINO-2.

La reducción de la actividad FRAP en carne madurada al vacío estuvo en concordancia con lo hallado por Mahecha y col (2011) quienes describieron una reducción del 18% en los valores de FRAP en extractos del músculo *longissimus* al día 14 de almacenamiento refrigerado bajo similares condiciones (al vacío, obscuridad y 2°C). La mayor reducción del FRAP conjuntamente con los menores niveles de vitaminas encontrados en carne madurada y expuesta a condiciones aeróbicas, indican que la combinación de largos períodos de almacenamiento al vacío (maduración) y la subsecuente exposición a condiciones aeróbicas parecen potenciar la pérdida de capacidad reductora total de la carne.

V.3.4. Estabilidad oxidativa de los lípidos (TBARS) de la carne.

Las interacciones DIETA x MP, DIETA x EA y MP x EA resultaron significativas para el nivel de TBARS en carne presentando *P* valores de 0.046, < 0.0001 y < 0.0001 respectivamente. Asimismo cada uno de los efectos principales (DIETA, MP y EA) resultó significativo (*P*< 0.05) para el nivel de oxidación lipídica.

Al evaluar el efecto de la dieta en función del período de maduración *post-mortem* se observó un incremento significativo en el nivel de TBARS en carne proveniente de animales CNTRL y LINO-0 a los 56 días de maduración; la carne proveniente de LINO-1 incrementó a los 14 días de MP y este nivel se mantuvo a los 56 días. LINO-2 mostró un aumento en la oxidación lipídica tanto a los 14 como a los 56 días de MP. Por su parte, al analizar las diferencias entre dietas para un mismo período de maduración se observó que para MP-3 LINO-1 mostró menores niveles de TBARS respecto a las restantes dietas, entre las que no hubo diferencias. Para MP-14, la carne proveniente de LINO-2 mostró

mayores niveles de TBARS que CNTRL y LINO-1 mientras que fue intermedio para LINO-0. Al finalizar el período de maduración postmortem (56 días) LINO-2 y LINO-0 resultaron con los mayores niveles de TBARS (0.40 ± 0.03 mg MDA/kg de carne y 0.37 ± 0.03 mg MDA/kg de carne), LINO-1 con los menores niveles (0.22 ± 0.03 mg MDA/kg de carne) y CNTRL con valores intermedios (0.31 ± 0.03 mg MDA/kg de carne). (Figura V.10.).

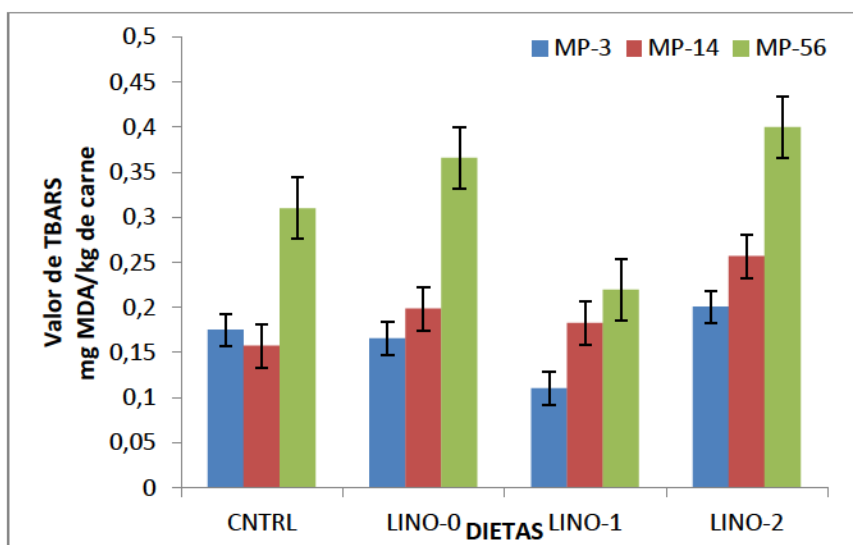


Figura V.10. Efecto de la dieta y los días de maduración postmortem al vacío (MP) sobre el nivel de oxidación lipídica (TBARS) en carne promedio de ambas exposiciones aeróbicas (EA-0 y EA-5)

El nivel de TBARS fue mayor ($P < 0.05$) en EA-5 que en EA-0 en todas las dietas evaluadas. La concentración de TBARS en EA-0 fue similar para todas las dietas, en EA-5d el nivel de TBARS fue afectado por los tratamientos dietarios: fue máximo en LINO-2 (0.46 ± 0.03 mg MDA/kg de carne), intermedio en LINO-0 y CNTRL, y mínimo en LINO-1 (0.26 ± 0.03 mg MDA/kg de carne). (Figura V.11)

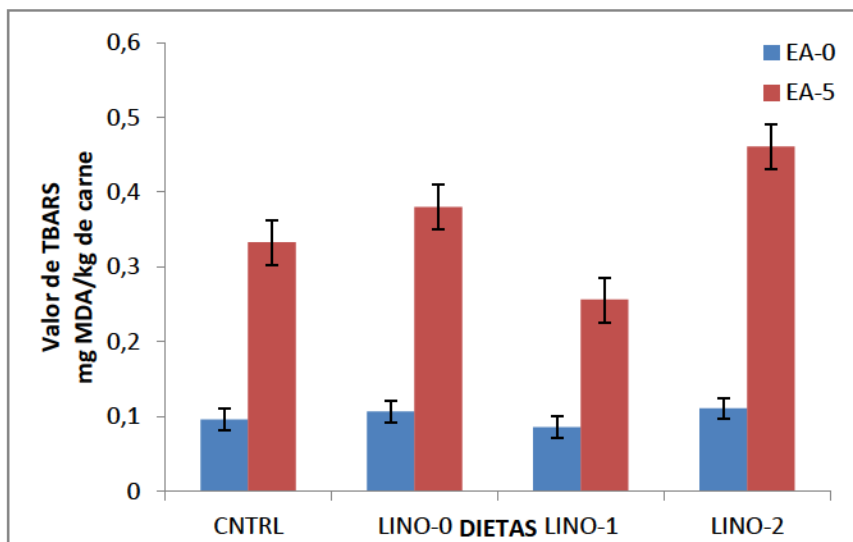


Figura V.11. Efecto de la dieta y los días de exposición aeróbica (AE) sobre el nivel de oxidación lipídica (TBARS) de la carne promedio de las tres maduraciones post-mortem al vacío.

La oxidación lipídica de los sistemas musculares es iniciada a nivel de la membrana en la fracción de los fosfolípidos altamente insaturados (Gray y Pearson, 1987). Por lo tanto, un incremento en la concentración de AGPI, asociados con la membrana celular, puede resultar en un incremento de la oxidación lipídica.

La adición de niveles crecientes de semilla de lino al grano de maíz suplementado incrementó linealmente el nivel de ácido linolénico de la carne de novillos en pastoreo (ver capítulo IV). Al evaluar el efecto de los tratamientos dietarios sobre la composición de ácidos grasos de la carne de los animales utilizados en la presente evaluación se observó que la adición de niveles crecientes de semilla de lino al grano de maíz produjo un incremento lineal del total de ácidos grasos peroxidables (AG px) debido a un incremento de los ácidos grasos con tres ó más dobles enlaces (Yang y col., 2002); la suma de los AG px ($\sum C18:3n-3$; $C18:4n-3$; $C20:4n-6$; $C20:4n-3$; $C20:5n-3$; $C22:6n-3$; $C22:5n-3$) fue de 2.54, 2.27, 2.70 y 3.19 para CNTRL, LINO-0, LINO-1 y LINO-2, respectivamente.

El uso de diferentes fuentes de ácidos grasos en la dieta puede tener diferentes efectos en la estabilidad oxidativa de la carne. Por ejemplo, Noci y col., (2007) observaron que la inclusión de aceite de pescado a la dieta de los novillos incrementó la oxidación de los lípidos en carne comparado con el uso de semilla de lino. Otros autores (Juárez y col., 2012) observaron una baja estabilidad lipídica en novillos criados en feedlot y suplementados con lino, pero una mejora fue también observada a través de la suplementación con vitamina E (α -tocoferol). Por otra parte, Daly, Moloney y Monahan, (2007) observaron un incremento en el nivel de AGPI en músculo de novillos en pastoreo suplementados con fuentes ricas en AGPI n-6 y AGPI n-3 (aceite de girasol y aceite de pescado), pero no observaron efecto del tratamiento dietario sobre la estabilidad lipídica de la carne almacenada por 14 días en envase de atmósfera modificada.

En el presente estudio los niveles de TBARS incrementaron en todos los tratamientos dietarios con el avance del almacenamiento refrigerado de la carne envasada con películas de PVC permeable al oxígeno (EA-5) como consecuencia de un incremento en la peroxidación lipídica. El marcado incremento observado en la carne de LINO-2 se encuentra asociado a que el mayor contenido de ácidos grasos peroxidables no estuvo acompañado con un incremento en el nivel de antioxidantes. Estos hallazgos están de acuerdo con Moloney y col (2012), quienes subrayaron que la baja concentración de vitamina E encontrada en el músculo de corderos suplementados con AGPI n-3 sugiere la utilización de vitamina E in vivo, para contrarrestar la mayor oxidación lipídica esta carne. Los mismos autores apoyaron esta sugerencia a través de una fuerte correlación negativa observada entre el contenido de AGPI n-3 y la concentración de vitamina E en el músculo

Los menores niveles de oxidación lipídica observados en la carne de novillos suplementados con 1 nivel de lino (0.125% PV) se debería a los mayores niveles de vitaminas antioxidantes presentes que generaron en promedio una mayor capacidad

antioxidante total comparado con los restantes tratamientos dietarios. Estos datos sugieren que además de los antioxidantes provenientes de las pasturas pudo haber una contribución significativa de los antioxidantes naturales por la inclusión de semilla de lino en la dieta LINO-1 (fuente rica en lignanos y compuestos fenólicos), que podría haber contrarrestando por lo tanto, el aumento de la peroxidación lipídica generada por su mayor nivel de AGPI; Gobert y col (2010) postularon que la combinación de vitamina E con polifenoles en la dieta de los animales protegió la carne contra la oxidación, e incluso regeneró los niveles de α -tocoferol en la misma. En la dieta LINO-2 este efecto no habría sido suficiente para contrarrestar la peroxidación lipídica generada por el exceso de prooxidantes aportados por la dieta. Por otra parte, al analizar la asociación entre los niveles de TBARS y la concentración de α -tocoferol en el músculo en el presente estudio, se observó una correlación negativa significativa ($r=-0.52$; $P < 0.0001$); indicando que el incremento en los niveles de oxidación lipídica estuvo asociado con una reducción en los niveles de α -tocoferol en músculo, concordando con otros reportes (Liu y col., 1996; Arnold y col., 1993)

Como se puede observar en la Figura V.12, el periodo de maduración no afecto el nivel de TBARS en EA-0 (0.10 ± 0.01 mg MDA/kg carne), aunque si lo hizo en EA-5 donde los niveles de TBARS fueron menores en MP-3 que en MP-14 y en éste último menor que en MP-56. ($0,23 \pm 0.01$,; $0,30 \pm 0.02$ y $0,54 \pm 0.03$ mg MDA/kg músculo respectivamente;).

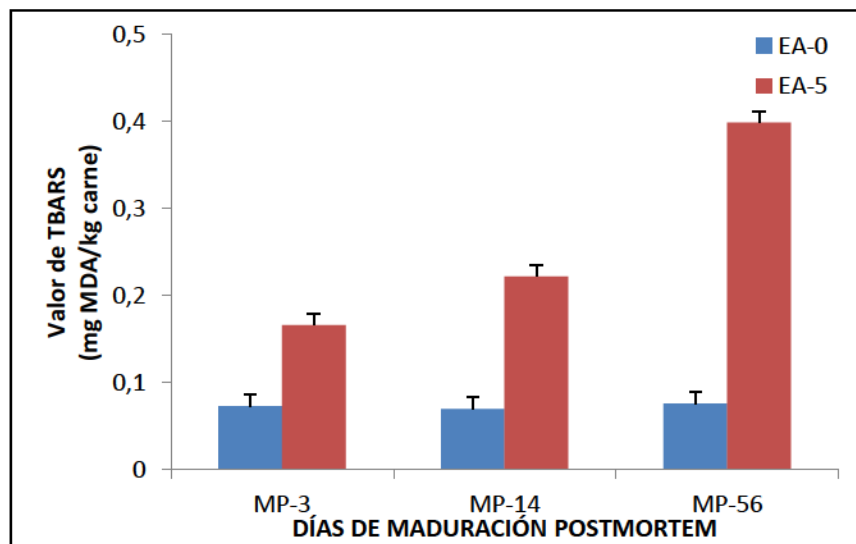


Figura V.12. Efecto del período de maduración postmortem al vacío (MP) y los días de exposición aeróbica (EA) sobre el nivel de oxidación lipídica (TBARS) de la carne promedio de todas las dietas

Este incremento en los niveles de TBARS con la mayor extensión del período de maduración en carne sometida a exposición aeróbica concuerda con los resultados reportados por Yang, y col., (2002b); quienes observaron un incremento en la oxidación lipídica en carne proveniente de animales en pastoreo madurada por 47 días al vacío seguidos por 7 días de almacenamiento aeróbico, pero no observaron cambios en la carne fresca o madurada por 1 día. Estos autores atribuyeron este resultado al elevado contenido de lípidos peroxidables en la carne, acoplado con cambios en la maduración de otros componentes del músculo; este mismo mecanismo pudo haber ocurrido en la carne del presente estudio. Otra explicación posible, es que probablemente la desnaturalización proteica generada durante la maduración de la carne pudo haber permitido liberar iones metálicos que hacen a los lípidos y mioglobina más propensos a la oxidación tras la exposición al oxígeno. Por último, la pérdida de actividad FRAP y de vitaminas en carne almacenada, como fue observado en el presente estudio, explicaría también el progreso en la oxidación lipídica durante el almacenamiento en condiciones comerciales. Sin

embargo los niveles de TBARS desarrollados en todas las muestras de carne no superaron el valor umbral de 2mg MDA/kg que generaría ranciedad o mal sabor en carne (Green y Cumuze., 1981; Georgantelis y col., 2007).

V.3.5. Evolución del color rojo (parámetro a^*) de la carne

Se detectó una interacción significativa entre la dieta y el período de exposición aeróbica (DIETA x EA; $P= 0.047$) y entre el período de maduración postmortem y la exposición aeróbica (MP x EA; $P= 0.0001$) para el parámetro a^* (color rojo). Los efectos principales de la maduración postmortem y la exposición aeróbica resultaron altamente significativos ($P= 0.001$ y $P< 0.0001$ respectivamente). Las restantes interacciones evaluadas y el efecto de la DIETA resultaron no significativas para este parámetro ($P> 0.05$).

Al día 1 de EA el valor de a^* incrementó para todas las dietas por igual, a partir del día 2 todas las dietas disminuyeron con el tiempo de EA, aunque no se observaron diferencias significativas ($P> 0.05$) en el valor de a^* entre las distintas dietas dentro de cada tiempo de EA. (Figura V.13. A)

Para todos los períodos de maduración el valor de a^* disminuyó a partir del día 2 de EA como consecuencia de la formación de metamioglobina en carne. MP-56 mostró los menores ($P< 0.05$) valores de a^* a los 2, 3, 4 y 5 días de EA respecto a las restantes maduraciones. (FiguraV.13.B)

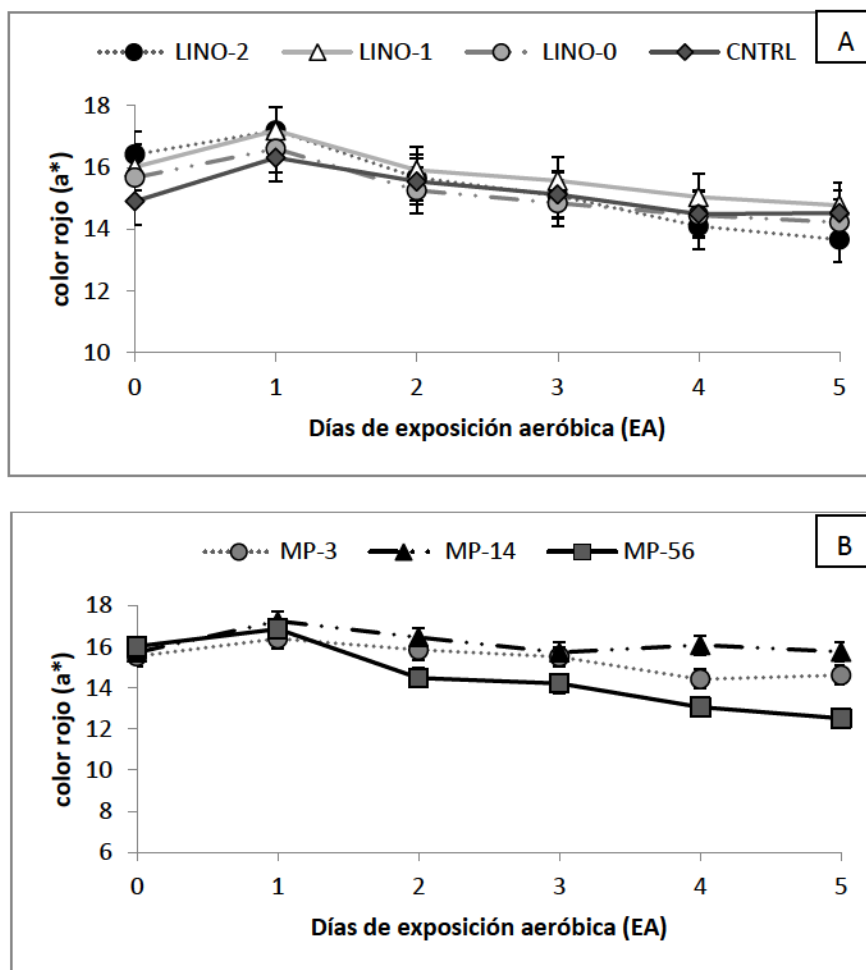


Figura V.13. **A)** Efecto del período de la DIETA y los días de exposición aeróbica (EA) sobre la estabilidad del color de la carne (a^*). **B)** Efecto del período de MP y Los días de exposición aeróbica (EA) sobre estabilidad del color de la carne (a^*).



Figura V.14-izquierda: carne madurada por 56 días con 5 días de exposición aeróbica. Derecha: carne madurada por 3 días con 5 días de exposición aeróbica.

El color de la carne representa el principal atributo organoléptico que los consumidores consideran al momento de realizar su compra (Biffaretti, 2006; Troy y Kerry, 2010). La oxidación de la mioglobina a metamioglobina (color marrón) es asociada con el deterioro del color rojo ó reducción del parámetro a^* (rojo) en carne (Faustman y col., 1998; McDowell y col., 1996; O'Sullivan y col., 2002). Según O'Sullivan y col. (2002) el valor a^* mínimo necesario para lograr la aceptabilidad de la carne vacuna estaría entre 11 y 12, valores menores a los encontrados en el presente trabajo.

El incremento en los valores de a^* durante el día 1 de exposición aeróbica observado en este trabajo pudo haberse generado por la completa transformación de la deoximioglobina (muestras al vacío) en oximioglobina (muestras en exposición aeróbica) durante el primer día de exposición aeróbica o debido a la activación de las proteínas antioxidantes, que están normalmente presentes en el músculo, y reaccionan para disminuir la acción de peróxidos. Posteriormente, como se observó en este estudio, el concomitante deterioro molecular de la carne continúa bajo exposición aeróbica (Poulson y col., 2012). Un comportamiento similar fue observado por Ponnampalam y col (2001) en músculo de cordero en fresco y madurado por 28 días, durante 6 días de vida en bandeja.

La decoloración de la carne en comercialización durante condiciones de exposición en bandeja puede considerarse como una función combinada de la oxidación de los pigmentos musculares y la oxidación lipídica de los fosfolípidos de membrana (Sherbeck y col., 1995). Chan, Faustman y Decker (1997) reportaron que el proceso de oxidación de la oximioglobina estuvo involucrado en la catálisis de la oxidación lipídica. En el presente estudio, después de 5 días de exposición aeróbica, la carne proveniente de la dieta LINO-2 alcanzó el menor (13.67) y LINO-1 el mayor (14.53) promedio del a^* , coincidiendo con el mayor y menor nivel de TBARS respectivamente. Esto apoyaría la hipótesis que la oxidación de los pigmentos y la oxidación de los lípidos pueden estar relacionados. Sin embargo, concordando con lo observado por Moloney y col., (2012) dichos cambios en el

color relativo a la dieta de los animales no fueron significativos, esto posiblemente generado por los bajos niveles de TBARS encontrados. La falta de diferencias entre los tratamientos dietarios sobre el color rojo de la carne dentro de cada día de exposición aeróbica significaría que es posible modificar la composición de ácidos grasos de la carne sin afectar significativamente el apreciable color rojo. Ponnappam y col., (2012) por su parte tampoco observaron efecto de la dieta sobre la estabilidad del color de la carne de corderos en pastoreo suplementados con grano de avena y distintas fuentes de lino, almacenada bajo similares condiciones que en el presente estudio (film de PVC; 3-4°C, luz fluorescente 1500 lux).

La drástica reducción del color rojo (a^*) durante la exposición aeróbica de carne madurada al vacío por períodos prolongados (MP-56) concuerda con los resultados obtenidos por Liu y col (1996) quienes observaron una significativa acumulación de metamioglobina (pigmento oxidado) en el músculo *Longissimus lumborum* cuando la carne fue madurada por 56 días y sometida a vida en bandeja por 12 días. Dunne y col (2005) atribuyeron a la vitamina E la mejor preservación del color de la carne (*Longissimus Dorsi*); dichos autores observaron que cuando los novillos fueron suplementados con vitamina E en sus dietas, la vida en estante de la carne fue extendida por 0.75 días, desde 2.5 a 3.5 días.

Por otra parte, Yang, y col., (2002b) mostraron que el ganado bovino terminado sobre pasturas de alta calidad tuvo una concentración de vitamina E comparable al ganado terminado sobre granos y suplementados con vitamina E. Sin embargo, estos autores observaron que la carne proveniente de animales terminados sobre pasturas tuvieron también una mayor concentración de ácidos grasos poliinsaturados oxidables y por lo tanto, menor estabilidad oxidativa del color durante 7 días de almacenamiento aeróbico, pero almacenado bajo vacío dicha estabilidad se mantuvo similar entre ambas dietas. Arnold y col (1993) concluyeron que la concentración óptima del nivel de α -

tocoferol en músculo fresco requerida para disminuir el deterioro de los pigmentos fue de aproximadamente de 3.5 $\mu\text{g/g}$ de tejido para desarrollar el máximo efecto antioxidante en carne, dependiendo del músculo en cuestión. Mientras tanto Liu, y col., (1996) encontraron que fueron requeridas concentraciones de α -tocoferol de 0.3-0.35 mg/100g de tejido para desarrollar la estabilidad del color de la carne durante el almacenamiento refrigerado.

En el presente estudio, el deterioro del color de la carne ocurrió en paralelo con la disminución de la capacidad antioxidante y de los niveles de vitaminas en conjunto con el incremento en los niveles de TBARS durante el proceso de maduración y la subsecuente exposición aeróbica. Independientemente del tratamiento dietario, los niveles de vitamina E (α más γ tocoferol) encontradas en el músculo *longissimus* fueron menores que las mencionadas por los autores previamente señalados, por lo tanto los antioxidantes incorporados por las pasturas y suplementos dietarios no fueron suficientes para preservar el color rojo de la carne bajo estas condiciones experimentales. Asimismo, la disminución del valor de a^* durante la exposición aeróbica fue drástica, indicando nuevamente que los antioxidantes liposolubles fueron consumidos para contrarrestar la oxidación lipídica.

V.3.6. Detección de compuestos fluorescentes

Como fue mencionado, la carne contiene un gran número de compuestos capaces de emitir fluorescencia. Muchos de estos compuestos se encuentran implicados en las reacciones de oxidación de la carne, por lo que hay estudios que han utilizado la espectroscopía de fluorescencia para obtener información detallada sobre reacciones y cambios moleculares en la misma (Veberg y col., 2006; Gatellier y col., 2007; Durek y col., 2012). Este método tiene la ventaja de ser rápido, no destructivo y a su vez la medición puede ser realizada directamente sobre la matriz alimenticia.

En la figura V.15 se puede observar el espectro de emisión registrado en el rango de los 300-460nm de emisión (máximo en 341) con una excitación de 292nm. Del mismo modo, se observó estos máximos en todas las carnes aquí ensayadas.

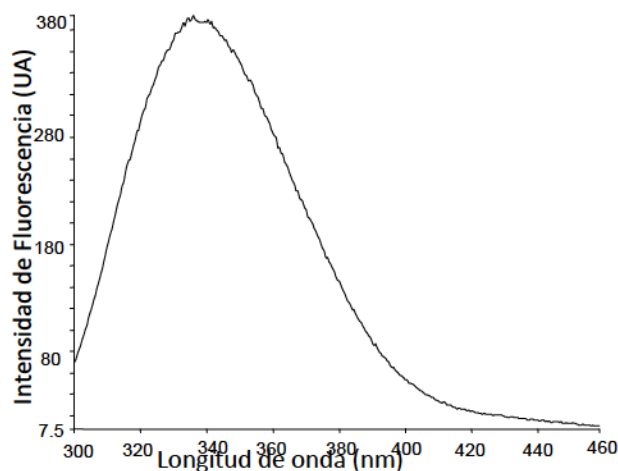


Figura V.15. Espectro de emisión registrado entre 300-460nm de emisión a una excitación de 292nm de muestras de carne bovina.

Similares picos han sido atribuidos a residuos de **triptófano** presente en las proteínas del alimento (Dufour, Delgarrondo, y Adam, 1998; Dufour, Frenchia y Kane, 2003; Skjervold y col., 2003). Por su parte, en un estudio realizado por Sahar, y col., (2009) sobre 7 músculos diferentes de bovinos provenientes de la raza Charolais, también observaron en su espectro de fluorescencia un importante pico luego de la excitación a 290 nm con un máximo \approx 333 nm. Dichos autores informaron que los residuos de Triptófano fueron los responsables de este pico, que varió en tamaño e intensidad entre los distintos músculos probados. Los cambios en la fluorescencia intrínseca del triptófano han sido utilizados para monitorear cambios físico-químicos en las proteínas (Vivian y Callis, 2001), incluyendo aquellos derivados del estrés oxidativo (Giessauf, Steiner y

Esterbauer, 1995). Estévez y col., (2008) asignaron el pico del triptófano a una longitud de onda de emisión a ≈ 345 nm luego de la excitación a 283 nm de los espectros de fluorescencia obtenido de proteínas miofibrilares que fueron sometidas a oxidación. Por lo tanto el pico con un máximo de emisión a ≈ 341 luego de la existación a ≈ 290 nm podría ser atribuido a residuos de triptófano

Ninguna de las interacciones probadas fue significativa para la intensidad de este pico de fluorescencia ($P > 0.05$). Los tratamientos dietarios tampoco afectaron la intensidad del pico ($P = 0.71$), pero si lo hizo la maduración *post-mortem* ($P = 0.04$), donde se observó mayor ($P < 0.05$) intensidad en MP14 y MP56 que en MP3 (Figura V.16), aunque dicho incremento fue leve (menor al 4%).

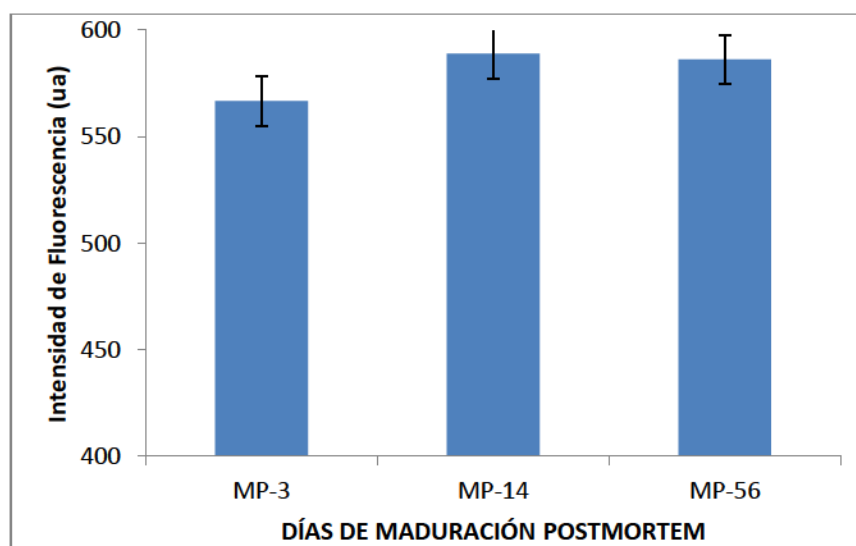


Figura V.16. Intensidad de fluorescencia del pico detectado atribuido a residuos de Triptófano (341 nm) en carne madurada por 3, 14 y 56 días, promedio de las tres dietas y ambas exposiciones aeróbicas.

La fluorescencia del triptófano provee información acerca de la estructura de la proteína. Se ha observado que cambios en la proteólisis e incrementos en el nivel del pH de quesos en maduración podrían producir cambios conformacionales en la molécula de

triptófano y por lo tanto en sus espectros de fluorescencia (Dufour, y col., 2001), probablemente los cambios de pH durante la proteólisis de la carne (maduración) podrían explicar de algún modo los resultados encontrados. Si bien, durante la exposición aeróbica no se observaron cambios significativos en la intensidad de fluorescencia del triptófano, se observó una tendencia ($P= 0.09$) a disminuir su intensidad con la exposición aeróbica, mostrando la carne expuesta por 5 días a condiciones aeróbicas (EA-5) alrededor del 3% menos de intensidad en la fluorescencia respecto a EA-0. Esto estaría en concordancia con lo reportado por Estévez y col., (2008) quienes encontraron una pérdida de la fluorescencia natural del triptófano en emulsiones de proteínas miofibrilares que fueron sometidas a estrés oxidativo (almacenamiento en condiciones oxidativas por 10 días). Estos autores reportaron un mayor cambio en la intensidad de fluorescencia en emulsiones que presentaban baja concentración proteica (1% y 0.5%). En las emulsiones de mayor concentración (2% de proteína miofibrilar) los autores no reportaron cambios evidentes hasta los 7 días de almacenamiento oxidativo; posiblemente las elevadas concentraciones de proteínas miofibrilares presentes en carne podrían explicar el escaso efecto del almacenamiento sobre el nivel de triptófano de la misma.

Por otra parte, se detectaron dos picos de fluorescencia entre 500 a 750 nm de emisión (máximos a 597 y 650 nm) a una excitación máxima de 432 nm (Figura V.17) en todas las carnes ensayadas.

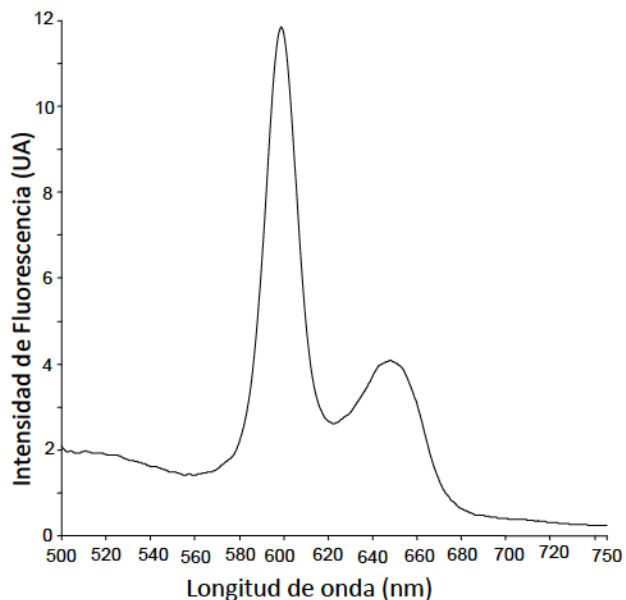


Figura V.17. Espectro de emisión registrado entre 500-750nm de emisión a una excitación de 432nm en muestras de carne bovina.

Estos picos podrían ser atribuidos a **porfirinas** presentes en la carne. Si bien la longitud de onda de excitación normalmente utilizada para este fluoróforo es de 420nm (Schneider y col., 2008), otros autores (Sahar y col., 2009) han observado similares picos (635-645nm y 597-600nm) en carne bovina después de la excitación a 380nm, que fueron atribuidos a las porfirinas presentes en la carne, estos autores señalaron el amplio espectro de excitación que podrían presentar estos fluoróforos.

Las porfirinas son compuestos capaces de emitir fluorescencia, pertenecen a un gran grupo de compuestos orgánicos que juegan importantes roles en varios procesos biológicos. Estos consisten en cuatro anillos pirrólicos unidos por puentes metano y pueden ligar metales como magnesio, hierro, zinc, níquel, y cobalto (Labbé, Vreman y Stevenson, 1999). Hemo es una porfirina con un átomo de hierro (Fe^{+2} , Fe^{+3}) en el centro. Zn Protoporfirina es un metabolito normal que es acumulado en cantidades trazas en los eritrocitos durante la síntesis de la hemoglobina (Labeé, Vreman y Stevenson., 1999) y se

ha señalado como un posible contribuyente en el color de jamones Parma (Wakamatsu, y col., 2004). Debido a que las porfirinas son fotosensibilizadores (Dolmans, Fukumura y Jain, 2003) y pueden estar involucradas en el proceso de fotooxidación, es muy interesante la investigación de estos compuestos en carne.

Para ambos picos atribuidos a porfirinas no se observó efecto de los tratamientos dietarios ($P > 0.05$), pero sí de la maduración posmortem ($P < 0.01$), de la exposición aeróbica ($P < 0.01$) y de su interacción (MP x EA, $P < 0.05$). No se encontraron diferencias ($P > 0.05$) entre EA-0 y EA-5 con los periodos de maduración de 3 y 14 d, pero sí con 56 d de maduración donde la intensidad de fluorescencia de los picos detectados en EA-5 fueron menores ($P < 0.05$) a los detectados en EA-0. Se encontró un incremento gradual ($P < 0.05$) de la intensidad de ambos fluoróscoros con la extensión del el período de maduración *post-mortem* al vacío para ambas exposiciones aeróbicas probadas (MP-3 < MP-14 < MP-56) (Figuras V.18 A y B)

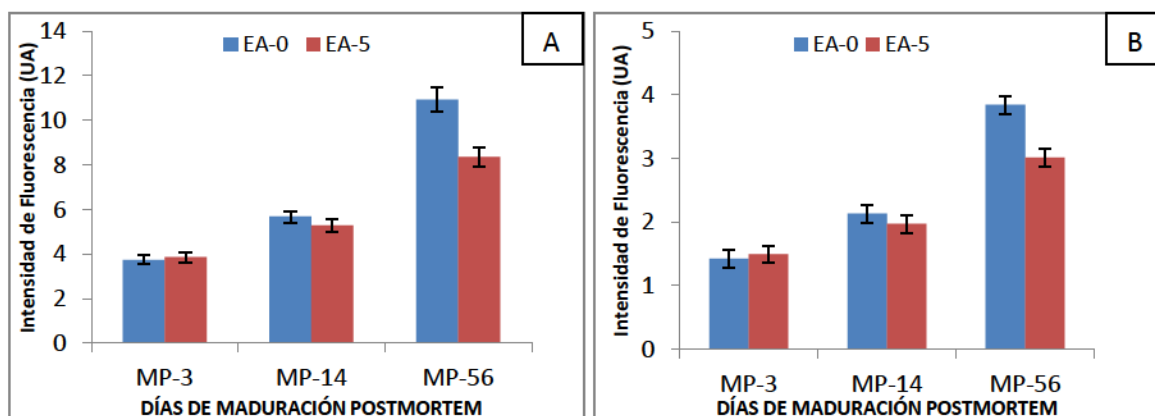


Figura V.18. Efecto del período de maduración posmortem al vacío (MP) y los días de exposición aeróbica (EA) sobre la intensidad del pico de fluorescencia atribuido a porfirinas **A)** (597nm) **B)** (650nm) de la carne promedio de todas las dietas.

La falta de efecto de los tratamientos dietarios sobre la formación de porfirinas en la carne, probablemente esté asociado a que los principales contribuyentes al contenido de

mioglobina en músculo (contenedor de las porfirinas) se encuentra mayormente influenciado por la edad y tipo de músculo del animal (Warris, 2000) y en menor medida por la dieta. Algunos autores han realizado estudios de espectroscopía de fluorescencia para investigar el comportamiento de porfirinas durante el almacenamiento en carne porcina y subproductos como jamones curados de Parma (Verberg, y col., 2006; Wakamatsu y col., 2004; Durek, y col., 2012;). Concordando con los resultados del presente estudio, Durek y col., (2012) encontraron que los dos picos consecutivos atribuidos a porfirinas ($592 \pm 3\text{nm}$ y $638 \pm 2\text{ nm}$) incrementaban al aumentar el tiempo de almacenamiento al vacío de porciones de carne porcina. Asimismo, estos autores reportaron una disminución de la intensidad de la fluorescencia en carne almacenada al vacío y subsecuentemente expuesta a condiciones aeróbicas, bajo efectos de luz halógena, esto último asociado a la fotosensibilidad de las porfirinas. Similares resultados fueron reportados por Verberg y col., (2006) en carne picada y hamburguesas de cerdo. Wakamatsu y col., (2004), por su parte, concluyeron que las condiciones anaeróbicas fueron las más propicias para el desarrollo de Zn protoporfirinas en jamones de Parma. Si bien, las vías de formación de porfirinas aun no han sido totalmente dilucidadas, tanto Verberg y col., (2006) como Wakamatsu y col., (2004) explicaron este incremento en anaerobiosis a la acción de enzimas endógenas involucradas en la formación de porfirinas, que es lo que posiblemente haya ocurrido en el presente trabajo.

Como ya fue mencionado, es sabido que las porfirinas son fotosensibilizadoras durante la exposición a la luz, pero al mismo tiempo son fotolábiles. Wold y col., (2005) reportaron que la degradación fotoinducida por los compuestos de porfirinas y clorofilas proveen una contribución significativa a la fotooxidación en quesos. Estudios espectroscópicos han mostrado que la fotodegradación de las porfirinas da como resultado nuevos productos fluorescentes con leves características diferentes (Juzenas y col., 2001; Rotomkis y col., 1996), sin embargo en el presente estudio no se evidenció

formación de nuevos compuestos luego de la exposición a la luz. Durek y col (2012) observaron un solapamiento parcial entre picos adjudicados a porfirinas en carne de cerdo que atribuyeron a la posible aparición de fotoproductos de porfirinas, esto mismo podría haber ocurrido en el presente estudio pero no hubo detección evidente.

Por otra parte, se detectó un tercer pico de fluorescencia registrado en el rango de los 500 a 750 nm de emisión, que presentó un máximo a los 615nm con una excitación máxima a 408nm (Figura V.19). Dicho pico podría ser atribuido a **clorofilas** o productos de degradación de las mismas, similares picos han sido atribuidos a clorofilas en aceite de oliva extra virgen (Sikorska y col., 2008). La presencia de estos compuestos podría esperarse en carne proveniente de animales en pastoreo (Griebenow, Martz y Morrow, 1994; Baublits, 2004; Elmore y col., (2004)).

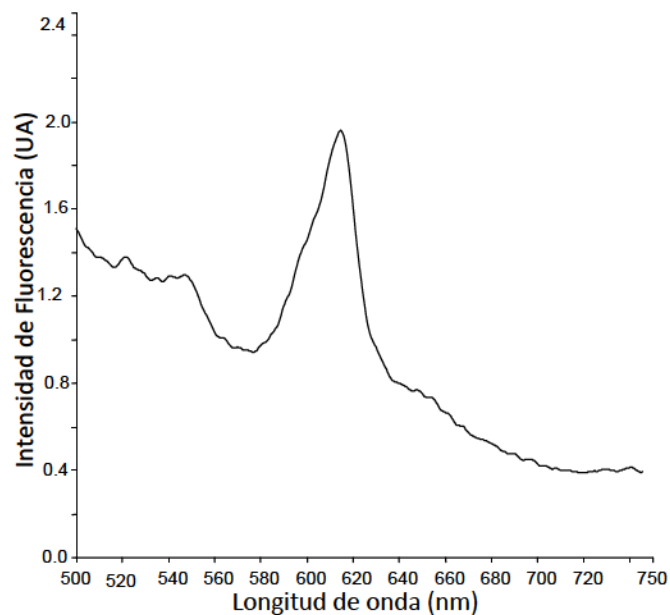


Figura V.19. Espectro de emisión registrado entre 500-750nm de emisión a una excitación de 408nm de muestras de carne bovina.

Al igual que que para porfirinas, se observó un efecto significativo de la interacción entre los días de maduración *post-mortem* y el tiempo de exposición aeróbica para el pico atribuido a clorofilas (MP x EA; $P= 0.04$) así como para cada uno de los efectos principales (MP; $P< 0.0001$ y EA; $P= 0.002$), pero no hubo efecto de la dieta ($P= 0.83$) sobre la intensidad de dicho fluoróforo. La intensidad del pico de fluorescencia disminuyó a los 5 días de EA respecto de EA-0 sólo para carne madurada al vacío por 56 días. Durante los 0 y 5 días de exposición aeróbica la carne madurada por largos períodos (MP-56) promedió los mayores ($P< 0.05$) valores de fluorescencia respecto a las restantes maduraciones, en EA-5 sólo MP-14 difirió de MP-56. (Figura V.20.). Las clorofilas y porfirinas presentan una estructura química muy semejante lo que podría explicar la similitud en el comportamiento de estos fluoróforos durante el almacenamiento de la carne; similar evolución en los espectros de fluorescencia ha sido reportado en clorofilas presentes en aceite de oliva almacenado en oscuridad y bajo luz (Sikorska y col., 2008).

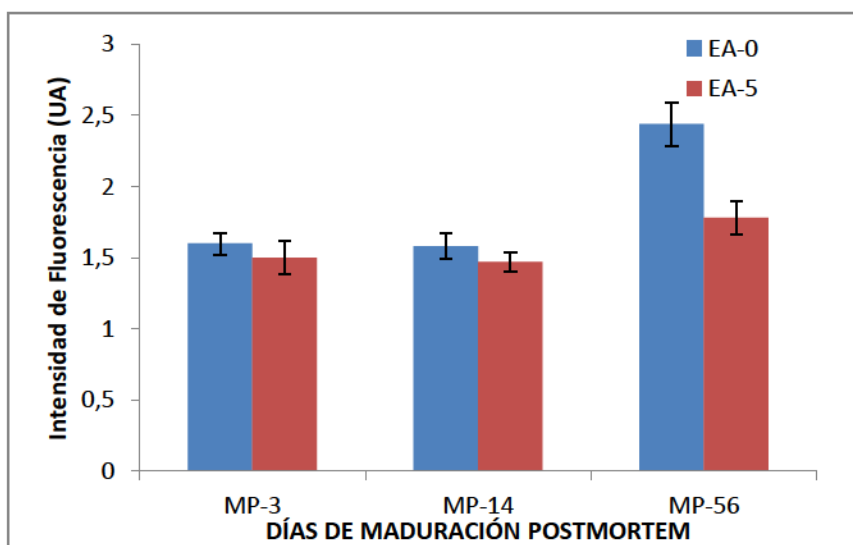


Figura V.20. Efecto del período de maduración postmortem al vacío (MP) y los días de exposición aeróbica (EA) sobre la intensidad del pico de fluorescencia atribuido a pigmentos clorofílicos (615nm) de la carne promedio de todas las dietas.

Por último se detectó un pico de fluorescencia de **400-550nm de emisión** (máximo 440nm) con un máximo de **excitación a los 350nm** (figura V.21.).

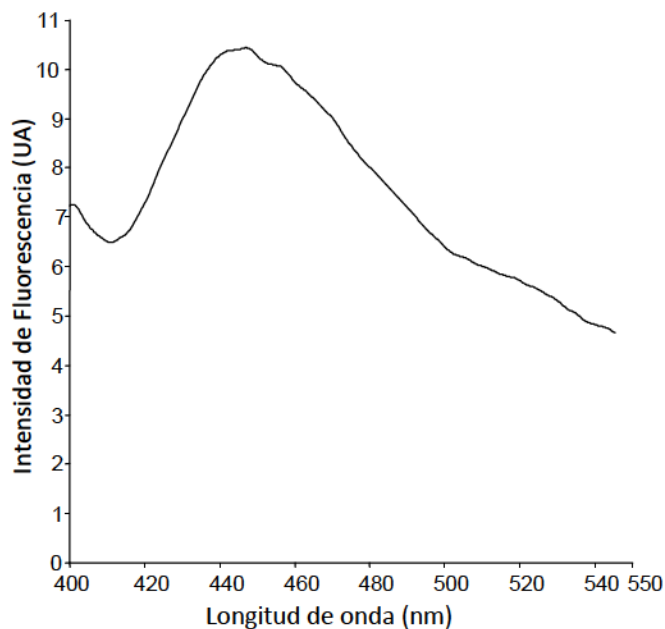


Figura V.21. Espectro de emisión registrado entre 400-550nm de emisión a una excitación de 350nm muestras de carne bovina.

Los compuestos formados como resultado de la reacción entre los productos de oxidación lipídica (aldehídos) y los grupos amino de las proteínas son fluoróforos conjugados con propiedades espectrales; estos pueden ser detectados registrando la fluorescencia a alrededor de los 450nm cuando es excitado a 350nm y por lo tanto pueden utilizarse como un índice de oxidación proteica (Heinonen, y col., 1998; Viljajen y col., 2004). Estos productos son generalmente estables y han sido utilizados para la evaluación del deterioro oxidativo en carne (Gatellier y col., 2007; Veberg y col 2006; Durek y col, 2012). Por lo tanto el pico con un máximo de emisión a los 440nm y

excitación a 350nm detectado en el presente trabajo podría atribuirse a productos de reacción entre **lípidos oxidados y proteínas**. Similares picos fueron observados por Armenteros y col (2009) al evaluar la oxidación proteica en carne fresca y diferentes productos cárnicos.

Ninguna de las interacciones evaluadas resultó significativa ($P > 0.05$) para el pico atribuido a productos de oxidación. Sin embargo se observó un efecto altamente significativo de la maduración *post-mortem* al vacío (MP) y la exposición aeróbica (EA) ($P < 0.0001$); el efecto de la dieta resultó no significativo ($P = 0.45$) para este parámetro. Independientemente de la EA, se observó un incremento significativo de la intensidad de fluorescencia a los 56 días de maduración *post-mortem*, que superó a los valores de fluorescencia de la carne madurada por 3 y 14 días (Figura V.22).

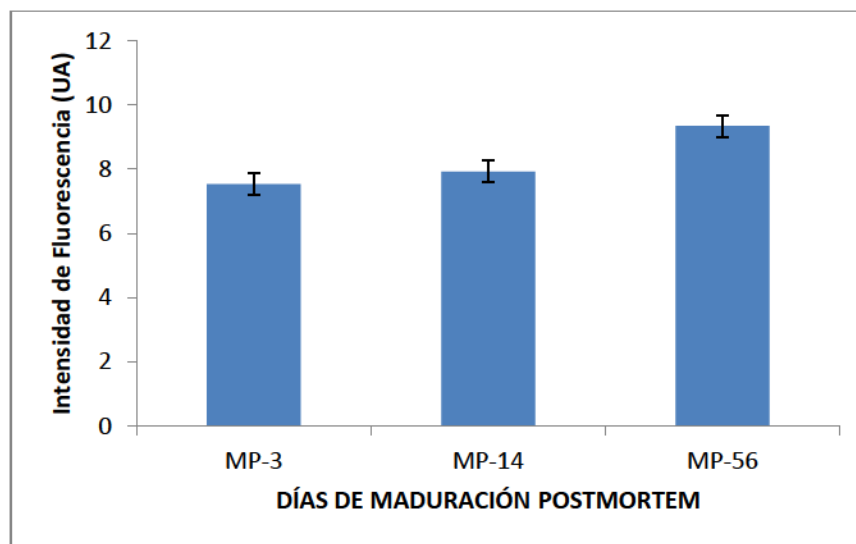


Figura V.22. Intensidad de fluorescencia del pico atribuido a productos de oxidación (440 nm) en carne madurada (MP) por 3, 14 y 56 días, promedio de las tres dietas y ambas exposiciones aeróbicas.

Por otra parte, la intensidad de fluorescencia de este pico para la carne expuesta por 5 días a exposición aeróbica superó ($P < 0.05$) en un 23% a la intensidad observada a

los 0 días de exposición aeróbica independientemente de la dieta ó maduración *post-mortem* (Figura V.23).

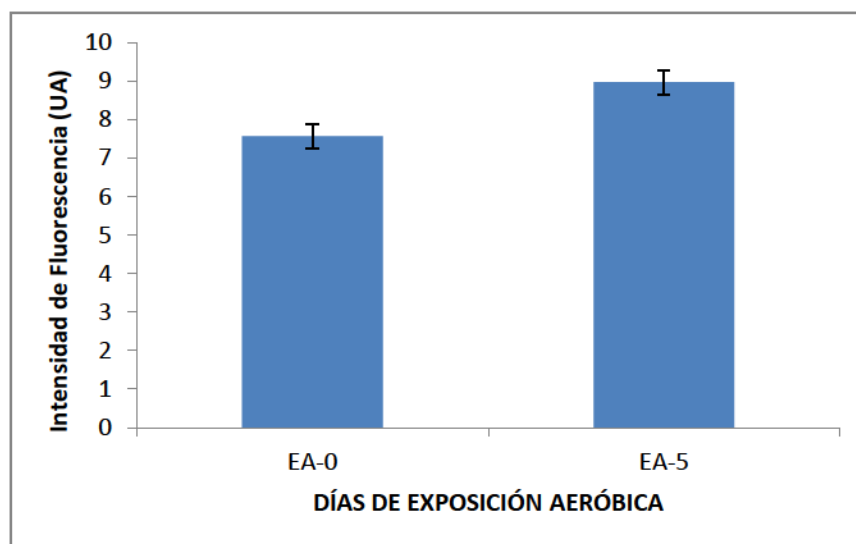


Figura V.23. Intensidad de fluorescencia del pico atribuido a productos de oxidación (440 nm) en carne expuesta por 0 y 5 días a exposición aeróbica, promedio de las tres dietas y tres maduraciones postmortem.

El incremento en la intensidad de fluorescencia observado a los 56 días de maduración *post-mortem*, podría atribuirse a la mayor oxidación lipídica observada en este período al evaluar los TBARS, que generó una mayor interacción lípido oxidado-proteína. A su vez, el incremento observado cuando la carne estuvo expuesta por 5 días a un ambiente de elevado oxígeno, concuerda con los resultados hallados por Verberg, y col., (2006) al evaluar hamburguesas de pavo envasadas al vacío ó en un envase de alta permeabilidad al oxígeno. Gatellier y col, (2007) encontraron una relación directa entre la oxidación lipídica de carne de pollo y la intensidad del pico de fluorescencia asignado a estos productos de oxidación.

La falta de efecto de los tratamientos dietarios sobre la intensidad de fluorescencia de los picos atribuidos a proteínas o su oxidación observadas aquí, podría deberse a los diferentes patrones de oxidación de proteínas y lípidos (Arnold y col.,1993). Como fue

mostrado por Insani y col., (2007), la alimentación del ganado vacuno tuvo un fuerte efecto sobre la oxidación lipídica, pero poca influencia sobre la oxidación proteica de la carne almacenada. De manera similar, Haug y col., (2007) no observaron modificación alguna en los espectros de fluorescencia front-face realizados en carne de pollo proveniente de dietas formuladas con selenio y ácidos grasos omega-3 (aceite de colza y lino), pero si en su nivel de TBARS.

V.3.7. Ensayo de aceptabilidad por consumidores

No se observaron diferencias entre tratamientos dietarios para los atributos olor ($P=0.87$), sabor ($P=0.41$) y aceptabilidad general ($P=0.65$) en carne que promediaron puntajes de 6.07 ± 0.27 , 5.5 ± 0.32 y 6.41 ± 0.31 , respectivamente. En tanto que si se observaron diferencias en "textura" atribuibles a los tratamientos dietarios evaluados. Los puntajes de textura fueron mayores CNTRL que en LINO-1, mientras que LINO-2 no difirió de ninguno de los otros dos tratamientos dietarios evaluados (Tabla V.3.)

Tabla V.3. Efecto de la dieta sobre las características sensoriales de la carne madurada por 3 días y almacenada por 5 días a condiciones aeróbicas

| Tratamiento | CNTRL | LINO-1 | LINO-2 | Error estándar |
|-----------------------|-------------------|-------------------|--------------------|----------------|
| Olor | 5.96 | 6.10 | 6.16 | 0.27 |
| Sabor | 5.01 | 5.48 | 6.01 | 0.32 |
| Textura (terneza) | 6.81 ^a | 5.45 ^b | 6.17 ^{ab} | 0.35 |
| Aceptabilidad general | 6.60 | 6.20 | 6.42 | 0.31 |

*letras diferentes dentro de la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

Como fue previamente mencionado los niveles de TBARS desarrollados en todas las muestras de carne estuvieron por debajo del valor umbral necesario para generar ranciedad o mal sabor en carne. Esto concuerda con los resultados de aceptabilidad sensorial obtenidos en este estudio; donde la dieta de los animales (CNTRL, LINO-1 y

LINO-2) no afectó la aceptabilidad sensorial de la carne. Rodas-Gonzales y col., (2007) tampoco encontraron diferencias en los puntajes de aceptabilidad sensorial del sabor y aceptabilidad general de la carne de novillos en pastoreo suplementados con diferentes dietas (concentrados, leguminosas). Kronberg y col. (2011) por su parte no observaron diferencias en la evaluación organoléptica cuando compararon carne de novillos alimentados exclusivamente a pasto con la de novillos en pastoreo suplementados con 0.20% PV de semilla de lino. Las leves diferencias encontradas en la aceptabilidad del atributo textura podrían atribuirse a la variación en la percepción de la ternura por parte de cada consumidor, que podría no requerir el mismo umbral de ternura para sentirse satisfecho, aunado a la influencia de otros factores como el sabor o la jugosidad, que podrían variar su percepción como carne tierna y su aceptabilidad general (Miller y col., 1995). Son necesarios futuros estudios como la utilización de un panel sensorial entrenado, y desarrollar descriptores específicos relativos a la oxidación de la carne.

V.4 CONCLUSIONES

Una mayor extensión del período de maduración al vacío redujo la estabilidad oxidativa del color y de los lípidos de la carne almacenada en condiciones aeróbicas, en conjunto con la aparición de compuestos fluorescentes asociado a la oxidación proteica. A su vez, se observó que con la maduración al vacío se incrementaron los niveles de porfirinas, compuestos fotosensibilizadores que podrían incrementar susceptibilidad oxidativa de la carne almacenada bajo oxígeno y luz. Esto estaría relacionado a la pérdida del poder reductor de la carne (FRAP) y al mayor consumo de los antioxidantes naturales presentes en el músculo. Una mejora en el perfil de ácidos grasos de la carne vacuna, mediante la suplementación con niveles elevados de semilla de lino, condujo a una disminución en el tiempo de vida útil del producto. Esto se debería a que el aporte de AGPI proveniente de la dieta LINO-2, provocaría una mayor susceptibilidad en la carne a

sufrir procesos de deterioro oxidativo, en tanto que los niveles de antioxidantes naturales incorporados no fueron suficientes para disminuir dicha oxidación. El aporte de antioxidantes provenientes de las pasturas y suplementos dietarios en la dieta LINO-1 (niveles medios), generó en la carne una capacidad antioxidante suficiente para reducir la peroxidación lipídica que provocaría su mayor nivel de AGPI; mejorando, así, la estabilidad lipídica y del color de la carne durante su almacenamiento refrigerado. Sin embargo, los niveles de antioxidantes naturalmente incorporados al tejido no fueron suficientes para inhibir por completo la oxidación en carne en ninguno de los tratamientos; esto en parte estuvo asociado al estado avanzado de madurez que presentaban las pasturas consumidas por los animales. La aceptabilidad sensorial de la carne fue buena y no fue afectada por el nivel de lino a la dieta de los animales. Si bien la dieta de los animales estudiadas aquí no afectó los espectros de fluorescencia de la carne en almacenamiento, este estudio reveló el potencial de las señales de fluorescencia para detectar degradación de proteínas, productos de oxidación proteína-lípidos y porfirinas como indicadores de cambios oxidativos relativos al almacenamiento de la carne bovina, utilizando un método rápido y no destructivo como la espectroscopía de fluorescencia

CAPITULO VI
CONCLUSIONES GENERALES

En el presente estudio se evidenció que a través del incremento del peso de animales en pastoreo y de la suplementación estratégica de estos animales es posible obtener un perfil de ácidos grasos saludable en la carne vacuna.

A pesar que los animales pesados, especialmente las categorías de hembras, son mayormente depreciadas en el mercado de hacienda, en este estudio se evidenció que el incremento en el peso de faena de vaquillonas terminadas en un sistema pastoril incrementa la deposición de ciertos ácidos benéficos para la salud (AGMI) y reduce la relación AGPI_n-6:n-3 de la carne, alcanzando al mismo tiempo el nivel de grasa intramuscular recomendado para asegurar la palatabilidad de la carne. Asimismo se demostró que las vaquillonas pesadas presentaron un mayor contenido (mg/100g de músculo) de CLA (Ácido Linoleico Conjugado) y de su precursor el ácido trans-vaccénico tanto en lípidos totales como neutros del músculo *Longissimus*, con posibles propiedades benéficas para la salud humana. Por lo tanto, es posible incrementar los índices productivos manteniendo ó mejorando el valor nutricional de la carne vacuna, lo que generaría una mayor competitividad del sector ganadero.

La suplementación de animales en pastoreo con niveles crecientes de semilla de lino (AGPI_n-3) permitió mitigar los efectos negativos de la suplementación con grano de maíz sobre la relación AGPI_n-6:n-3 de la carne, esto principalmente generado por un incremento lineal en la proporción de ácido linolénico en el músculo. Asimismo, el impacto de la suplementación sería dependiente del peso en el que los animales son suplementados; el impacto negativo del grano de maíz sobre la relación AGPI_n-6:n-3 en carne fue menor en los animales con un mayor peso al inicio de la suplementación. Esto indica nuevamente, que es posible mejorar los índices productivos a través del incremento del peso de animales en pastoreo, así como a través de la suplementación con grano de maíz, que en combinación con la suplementación estratégica con semilla de lino permitiría

mantener la calidad nutricional ó el perfil de ácidos grasos por la cual la carne pastoril argentina ha sido posicionada en el mercado mundial de las carnes.

Los antioxidantes naturales aportados por el pasto y los suplementos dietarios, principalmente α -tocoferol y β -caroteno, generaron en la carne una capacidad antioxidante suficiente para reducir el daño oxidativo que provocaría la mejora en el perfil de ácidos grasos de la carne a través de la incorporación de niveles medios de semilla de lino (0.125% de peso vivo; LINO-1), en tanto que dicha capacidad antioxidante no habría sido suficiente para reducir el exceso de pro-oxidantes aportado por los mayores niveles de lino (0.250% de peso vivo; LINO-2) reduciendo la estabilidad oxidativa de la carne proveniente de esta dieta.

La oxidación de los lípidos y de la mioglobina de la carne se incrementó al extender el período de maduración de la carne envasada al vacío y posteriormente expuesta a condiciones aeróbicas, esto ocurrió en paralelo con una disminución de la capacidad reductora (FRAP) de la carne y una disminución de la concentración (o consumo) de vitaminas antioxidantes en el músculo que interactuaron para contrarrestar la oxidación lipídica.

Si bien las dietas de los animales estudiadas aquí no afectaron los espectros de fluorescencia de la carne en almacenamiento, posiblemente asociado a la diferente tasa de oxidación entre los lípidos y proteínas, este estudio reveló el potencial de las señales de fluorescencia para detectar degradación de proteínas, productos de oxidación proteína-lípidos y porfirinas como indicadores de cambios oxidativos relativos al almacenamiento de la carne bovina, utilizando un método rápido y no destructivo como la espectroscopía de fluorescencia. Se observó un incremento en la producción de compuestos de interacción lípidos oxidados-proteínas con la mayor maduración de la carne al vacío y con la exposición de la misma a condiciones aeróbicas. Las porfirinas

incrementaron con el incremento de la maduración al vacío; esta determinación podría ser utilizada como un indicador temprano de posibles cambios oxidativos de la carne a ser comercializada en mercado minorista (exposición aeróbica), ya que las porfirinas son importantes compuestos fotosensibilizadores involucrados en los procesos de fotooxidación de las carnes.

Las características nutricionales de la carne vacuna pueden potenciarse o modificarse, según el caso, trabajando con diferentes sistemas o tipos de alimentación. En este sentido, conviene tener presente que tales acciones podrían conducir también a alteraciones, algunas veces perjudiciales, en su calidad comestible o en sus propiedades de conservación. Por otro lado, si las buenas características organolépticas y de conveniencia de las carnes bovinas pudieran combinarse con un bajo contenido en grasas, o mejor aún, con una composición lipídica más saludable, estaríamos desarrollando un producto de innegables beneficios para todos los sectores de la cadena productiva de carnes.

BIBLIOGRAFÍA

- Adlof, R.O., Duval, S., y Emken, E.A. (2000). Biosynthesis of conjugated linoleic acid in humans. *Lipids*, 35:131-5.
- Aharoni, Y., Orlov, A., Brosh, A., (2004). Effects of high-forage content and oilseed supplementation of fattening diets on conjugated linoleic acid (CLA) and trans fatty acids profiles of beef lipid fractions. *Animal Feed Science and Technology* 117, 43-60.
- Alasnier, C., Rémignon, H. y Gandeme, G. (1996). Lipid Characteristics Associated with Oxidative and Glycolytic Fibres in Rabbit Muscles. *Meat Science*, 43: 213-224.
- Alfaia, C.P.M., Alves, S.P., Martins, S.I.V., Costa, A.S.H., Fontes, C.M.G.A., Lemos, J.P.C., Bessa, R. J. B., Prates, J.A.M. (2009). Effect of the feeding system on intramuscular fatty acids and conjugated linoleic acid isomers of beef cattle, with emphasis on their nutritional value and discriminatory ability. *Food Chemistry*, 114: 939-946.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaflo lu, B., Berker, K. I., y Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the Cuprac assay. *Review-Molecule*, 12: 1496-1547.
- Arihara, K. (2006). Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Science*. 74: 219-229.
- Armenteros, M., Heinonen, M., Olliainen, V., Toldrá, F y Estévez, M. (2009). Analysys of protein carbonils in meat products by using the DNPH-method, fluorescence spectroscopy and liquid chromatography-electrospray ionization-mass sapectrometry (LC-ESI-MS). *Meat Science*, 83: 104-112.
- Arnold, R. N., Arp, S. C., Scheller, K. K., Williams, S. N., y Schaefer, D. M. (1993). Tissue equilibration and subcellular distribution of vitamin E relative to myoglobin and lipid oxidation in displayed beef. *Journal of Animal Science*, 71: 105–118.

- Baech, S.B., Hansen, M., Bukhave, K., Jensen, M., Sørensen, S.S., Kristensen, L., Purslow, P.P., Skibsted, L.H., y Sandström, B. (2003). Nonheme-iron absorption from a phytate-rich meal is increased by the addition of small amounts of pork meat. *Am J Clin Nutr.* 77:173-9.
- Banni y Martin (1998). Conjugated Linoleic Acid and metabolites. In: J.L. Sebedio and W.W. Christie (eds) *trans fatty acids in human nutrition*. The Oily Press Ltd, UK, pp 261-302.
- Banskalieva, V.; Sahlu, T.; Goetsch, A. (2000). Fatty acid composition of goat muscles and fat depots: a review. *Small Ruminant Research*, 37:255-268.
- Baron, C. P. (2010). Protein oxidation in food and its prevention. In G. Bartosz (Ed.), *Food oxidants and antioxidants: Chemical, biological, and functional properties* (pp. 115–131). New York: CRC Press.
- Barton, L., Bures, D., Kott, T., y Reháč, D., (2011). Effect of sex and age on bovine muscle and adipose fatty acid composition and stearoyl-CoA desaturase mRNA expression. *Meat Science* 89: 444-450.
- Baublits, R.T., Pohlman, F.W., Brown, A.H., Johnson, Z.B., Onks, D.O., y Sandelin, B.A. *Sensory Characteristics of Beef from Three Biological Types of Cattle Grazing Cool-Season Forages Supplemented with Soyhulls*. Arkansas Animal Science Department Report 2004
- Bauman, D.E., Perfield II, J.W., de Vet, M.J., y Lock, A.L. (2003). New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants. En: *Proceedings of the Cornell Nutrition Conference*. Pp 175-189.
- Beauchesne-Rondeau, E., Gascon, A., Bergeron, J., y Jacques, H. (2003). Plasma lipids and lipoproteins in hypercholesterolemic men fed a lipid-lowering diet containing lean beef, lean fish, or poultry. *American Journal of Clinical Nutrition*. 77:587-93

- Belury M. A., S. Y. Moya-Camarena, K. L. Liu, and J. P. Vanden Heuvel. (1997). Dietary conjugated linoleic acid induces peroxisomespecific enzyme accumulation and ornithine decarboxylase activity in mouse liver. *J. Nutr. Biochem.* 8:579-584.
- Belury, M. A. (2003). Conjugated linoleic acids in type 2 diabetes mellitus: implications and potential mechanisms. In J. L. Sebedio, W. W. Christie, & R. O. Adlof (Eds.). *Advances in conjugated linoleic acid research* (Vol. 2, pp. 267–281). Champaign, IL: AOCS Press.
- Benzie, I.F.F., y Strain, J. J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. In L. Parker & A. N. Glazer (Eds.). *Methods in enzymology*, (Vol. 299, pp. 15–27). New York: Academic Press.
- Bessa, R.J.B., Santos-Silva, J., Ribeiro, J.M.R., y Portugal, A.V. (2000). Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livestock Production Science*, 63:201-11.
- Beutner, S., Bloedorn, B., Frixel, S., Blanco, I.H., Hoffmann, T., Martin, H.D., Mayer, B., Noack, P., Ruck, C., Schmidt, M., Schulke, I., Sell, S., Ernst, H., Haremza, S., Seybold, G., Sies, H., Stahl, W., y Walsh R. (2001). Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids. The role of β -carotene in antioxidant functions. *Journal of the Science Food and Agriculture*, 81:559–68.
- Biffaretti, A. 2008. Oportunidades de marketing en la comercialización minorista de carnes. En: IPCVA (ed.) Boletín No. 12. p 12-17.
- Booth, R.G., S.K. Kon, W.J. Dann and T. Moore, (1935). A study of seasonal variation in butter fat. *Biochem. J.*, 29: 133-137.

- Boufaïed, H., Chouinard, P.Y., Tremblay, G.F., Petit, H.V., Michaud, R., Bélanger, G., (2003). Fatty acids in forages. I. Factors affecting concentrations. *Can. J. Anim. Sci.* 83, 501-511.
- Buttriss, J. L. y Diplock, A. T. (1984). HPLC methods for vitamin E in tissues. In L. Parker & A. N. Lazer (Eds.). *Methods in enzymology* (Vol. 105, pp. 131-138). New York: Academic Press.
- Cao, W., Chen, W., Sun, S., Guo, P., Song, J., y Tian, C. (2007). Investigating the antioxidant mechanism of violacein by density functional theory method. *Journal of Molecular Structure: Theochem* 817:1-4.
- Chan, W. K. M., C. Faustman, y. Decker, E. A. (1997). Oxymyoglobin oxidation as affected by oxidation products of phosphatidylcholine liposomes. *Journal of Food Science.* 62: 709-712.
- Chibisa, G.E., Christensen, D.A., Mutsvangwa, T. (2013). Replacing canola meal as the major protein source with wheat dried distillers' grains alters omasal fatty acid flow and milk fatty acid composition in dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 93: 137-147.
- Chicatún, A., Santini, F.J., Depetris, G.J., Faverin, C., y Villarreal, E.L. (2006). Calidad de la carne de novillos producidos bajo distintas estrategias de suplementación. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 26: 409-410.
- Chilliard, Y., Glasser, F., Ferlay, A., Bernard, L., Rouel, J., Doreau, M., (2007). Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109, 828-855.
- Chin, S.F., Storkson, J.M., Albright, K.J., Cook, M.E y Pariza, M.W. (1994). Conjugated Linoleic Acid is a growth factor for rats as shown by enhanced weight gain and improved feed efficiency. *J. Nutr.* 124: 2344-2349.

- Choe E y Min D. B. (2005). Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. *Journal of Food Science* 70:142–59.
- Choe E, Min DB. (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5:169–86.
- Choe, E. y Min, D.B. (2009). Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8: 345-358.
- CICCRA (Cámara de la Industria y Comercio de Carnes y Derivados de la República Argentina).(2013). Informe económico mensual. Documento N° 155. 23 pág.
- Connor, W.E. (2000). Importance of n-3 fatty acids in health y disease. *American Journal Clinical Nutrition*, 71: 171S-175S.
- Corazzin, M., Bovolenta, S., Sepulcri, A., y Piasentier, E. (2013). Effect of whole linseed addition on meat production and quality of Italian Simmental and Holstein bulls. *Meat Science*, 90: 99–105.
- Cook M. E., L. E. Whigham, M. Yang, D. Devoney, y M. W. Pariza. (2000). Regulation of inducible prostanoids and leukotrienes by conjugated linoleic acid (CLA). *Am. Chem. Soc. 220th Nat. Meeting*. Aug 20-24. Abstract AGFD-10
- Daley, C.A., Abbott, A., Doyle, P.S., Nader, G.A., y Larson, S. (2010). A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutrition Journal* 9, 10.
- Daly, C. M., Moloney, A.P., y Monahan, F.J. Lipid and colour atbility of beef from grazing heifers supplemented with sunflower oil alone or with fish oil. (2007). *Meat Science*, 77: 634-642.
- Dannenberger, D., Nuernberg, G., Scollan, N., Schabbel, W., Steinhart, H., Ender, K., y col. (2004). Effect of diet on the deposition of n _ 3 fatty acids, conjugated linoleic- and C18:1trans fatty acid isomers in muscle lipids of German Holstein bulls. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 6607–6615.

- Daniel, Z., Wynn, R. J., Salter, A. M., y Buttery, P. J. (2004). Differing effects of forage and concentrate diets on the oleic acid and conjugated linoleic acid content of sheep tissues: The role of stearoyl-CoA desaturase. *J. Anim. Sci.* 82: 747-758.
- Decker, E., Faustman, C. y Lopez-Bote, C. (2000). Oxidative processes in Muscle Foods. En: *Antioxidants in Muscle Foods: Nutritional Strategies to Improve Quality*. Decker, E., Faustman, C. y Lopez-Bote, C. Eds. Jhon Willer and Sons Publisher, Nueva York, Estados Unidos. Pp 3-23.
- De la Fuente J, Diaz MT, Alvarez I, Oliver MA, Font i Furnols M, Sanudo C, Campo MM, Montossi F, Nute GR, Caneque V: Fatty acid and vitamin E composition of intramuscular fat in cattle reared in different production systems. *Meat Science* 2009, 82:331-7.
- Delany J. P., F. B Iohm, A. A. Truett, J. A. Scimeca, and D. B. West. (1999). Conjugated linoleic acid rapidly reduces body fat content in mice without affecting energy intake. *Comp. Physiol.* 45:R1172- R1179
- Demeyer, D., Honikel, K., y De Smet, S. (2008). The World Cancer Research Fund report 2007: A challenge for the meat processing industry. *Meat Science*, 80, 953–959.
- De Smet, S., Raes, K., y Demeyer, D. (2004). Meat fatty acid composition as affected by genetic factors. *Animal Research*, 53: 81–88.
- Descalzo, A.M., Insani, E.M., Biolatto, A., Sancho, A.M., Garcia, P.T., Pensel, N.A., y Josifovich, J.A. (2005). Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Science*, 70:35-44.
- Descalzo, A. M., Rossetti, L., Grigioni, G., Irueta, M., Sancho, A. M., Carrete, J., y Pensel, N.A. (2007a). Antioxidant status and odour profile in fresh beef from pasture or grain-fed cattle. *Meat Science*, 75, 309-317.

- Descalzo, A. M., Rossetti, L., Sancho, A. M, García, P. T., Biolatto, A., Carduza, G. M., y Grigioni, G. M. (2007b). Antioxidant consumption and development of oxidation during ageing of buffalo meat produced in Argentina. *Meat Science*, 79, 582-588.
- Descalzo, A. M. y Sancho A. M. (2008). A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odour and quality of fresh beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79,423-436.
- Dewhurst, R. J., Shingfield, K. J., Lee, M. R. F., y Scollan, N. D. (2006). Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Animal Feed Science and Technology*, 131: 168–206.
- DiGiacomo, R.A., Kremer, J.M., y Shah, D.M. (1989). Fish-oil dietary supplementation in patients with Raynaud's Phenomenon: A double-blind, controlled, prospective study. *The American Journal of Medicine*, 86:158-64.
- Dilzer, A., y Park, Y. (2012). Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(6), 488–513.
- Dolmans, D. E. J. G. J., Fukumura, D., y Jain, R. K. (2003). Photodynamic therapy for cancer. *Nature Reviews Cancer*, 3: 380–387.
- Doyle E. (1998). Scientific forum explores CLA knowledge. *Toxicological Science INFORM* 9:69-73
- Duckett, S., Wagner, D., Yates, L., Dolezal, H., y May, S., (1993). Effects of time on feed on beef nutrient composition. *Journal Animal Science*, 71: 2079 - 2088.
- Duckett, S. K., Andrae, J.G., y Owens, F.N. (2002). Effect of high-oil corn or added corn oil on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. *J. Anim. Sci.* 80: 3353-3360.
- Duckett, S.K., Neel, J.P.S., Sonon, R.N., Jr., Fontenot, J.P., Clapham, W.M., Scaglia, G., (2007). Effects of winter stocker growth rate and finishing system on: II. Ninth tenth eleventh-rib composition, muscle color, and palatability. *J. Anim Sci.* 85, 2691-2698.

- Duckett, S.K., Pratt, S.L., Pavan, E., (2009). Corn oil or corn grain supplementation to steers grazing endophyte-free tall fescue. II. Effects on subcutaneous fatty acid content and lipogenic gene expression. *J. Anim Sci.* 87: 1120-1128.
- Duckett, S.K., Neel, J.P.S., Lewis, M.R., Fontenot, J.P y Clapham, W.M. (2013). Effects of forage species or concentrate finishing on animal performance, carcass and meat quality *Journal of Animal Science*, 91:1454-1467
- Dufour, É., Dalgarrondo, M., y Adam, L. (1998). Conformation of b-lactoglobulin at an oil/water interface as determined from proteolysis and spectroscopic methods. *Journal of Colloid and Interface Science*, 207: 264–272.
- Dufour, E., Devaux, M. F., Fortier, P. y Hebert, S. (2001). Delienation of the structure of soft chesses at the molecular level by fluorecence spectroscopy-relationship with texture. *Int.Dairy Journal.* 11: 465-473.
- Dufour, É., Frenchia, J. P., y Kane, E. (2003). Development of a rapid method based on front-face fluorecence spectroscopy for monitoring of fish freshness. *Food Research International*, 36: 415–423.
- Dunne, P. G., Monahan, F. J., O'Mara, F. P., y Moloney, A. P. (2005). Color stability, under simulated retail display conditions, of *M. longissimus dorsi* and *M. semimembranosus* from steers given long-term daily exercise and supplemented with vitamin E. *Meat Science*, 71: 480-489.
- Dunne, P.G., Monahan, F.J., O'Mara, F.P., Moloney, A.P. (2009) Colour of bovine subcutaneous adipose tissue: A review of contributory factors, associations with carcass and meat quality and its potential utility in authentication of dietary history. *Meat Science*, 81:28-45.
- Durek, J. Bolling, J.S., Knorr , D., Schwägele, F., y Schlüter, O. (2012). Effects of different storage conditions on quality related porphyrin fluorecence signatures of pork slices. *Meat Science*, 90: 252-258.

- Eagerman, B.A., Clydesdale, F.M. y Francis F.J., (1977). Determination of fresh meat color by objective methods. *Journal Food Science*, 42:707-710.
- Egelandsdal, B., Dingstad, G., Tøgersen, G., Lundby, F., y Langsrud, O. (2005). Autofluorescence quantifies collagen in sausage batters with a large variation in myoglobin content. *Meat Science*, 69: 35–46.
- Elmore, J. S., Warren, H. E., Mottram, D. S., Scollan, N. D., Enser, M., Richardson, R. I., et al. (2004). A comparison of the aroma volatiles and fatty acid compositions of grilled beef muscle from Aberdeen Angus and Holstein–Friesian steers fed diets based on silage or concentrates. *Meat Science*, 68: 27–33.
- Enser M., Hallett, K.G., Hewett, B., Fursey, G.A.J., Wood, J.D., y Harrington, G. (1998) Fatty acid content and composition of UK beef and lamb muscle in relation to production system and implications for human nutrition. *Meat Science*, 49:329-341.
- Enser, M., (1991). Animal carcass fats and fish oils. In: J.B. Rossel and J.L.R. Pritchard (Eds.), *Analysis of oilseeds, fats and fatty foods*. Elsevier Appl. Sci., London, 329-394.
- Estévez, M., Kylli, P., Puolanne, E., Kivikari, R., Kivikari, R, y Heinonen, M. (2008). Fluorescence spectroscopy as a novel approach for the assessment of myofibrillar protein oxidation in oil-in-water emulsions. *Meat Science*, 80: 1290-1296.
- Estevez, M., Ollilainen, V., & Heinonen, M. (2009). Analysis of protein oxidation markers – α -amino adipic and γ -glutamic semialdehydes – in food proteins by using LC–ESI multi-stage tandem MS. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57: 3901–3910.
- Fanego (2012). Comunicación personal. 15/10/2012
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (1997). *Grasas y aceites en la nutrición humana*. 3. Consulta FAO/OMS de expertos. [on line] [citado marzo 2014]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/V4700S/v4700s00.HTM>

- Faustman, C., y Cassens, R. G. (1990). The biochemical basis for discoloration in fresh meat: A review. *Journal of Muscle Foods*, 1: 217–243.
- Faustman, C., y Cassens, R. G. (1991). The effect of cattle breed and muscle type on discoloration and various biochemical parameters in fresh beef. *Journal of Animal Science*, 69: 184–193.
- Faustman, C., Chan, W. K. M., Schaefer, D. M., y Havens, A. (1998). Beef color update: The role for vitamin E. *Journal of Animal Science*, 76: 1019-1026.
- Faustman, C., Sun, Q., Mancini, R., y Suman S.P. (2010). Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. *Meat Science*, 86: 86-94.
- Fennema, O.R. (2000). Características de los tejidos musculares comestibles. En: Fennema, O.R. *Química de Alimentos*, 2ª. Ed. Acribia. Zaragoza, España. Pp. 1039-1111.
- Field, R., McCormick, R. , Balasubramanian, V., Sanson, D., Wise, J., Hixon, D., Riley, M. y Russell, W. (1996). Growth, carcass, and tenderness characteristics of virgin, spayed, and single-calf heifers. *J. Anim Sci.* 74: 2178-2186.
- Folch, J., Lees, M. y Stanley, G. H. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.
- Foss, B.J., Sliwka, H.R., Partali, V., Cardounel, A.J., Zweier, J.L., y Lockwood, S.F. (2004). Direct superoxide anion scavenging by a highly water-dispersible carotenoid phospholipids evaluated by electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 14:2807–2812.
- Fredrikson-Eriksson, S y Pickova, J. (2007). Fatty acids and tocopherol levels in M. Longissimus dorsi of beef cattle in Sweden-A comparison between seasonal diets. *Meat Science*, 76: 746-754.

- García, P. T., Pensel, N. A., Margaría, C. A., Olga Rosso, C. M., y Machado, C. (1999). Intramuscular fat, cholesterol and 18:2n-6/18:3 n-3 ratio in total lipids in two frame steers under different dietary regimen. In Proceedings of the 45th international congress of meat science and technology (pp. 76-77), 1-6 August 1999, Yocohama, Japan.
- Garcia, P.T., Pensel, N.A., Sancho, A.M., Latimori, N.J., Kloster, A.M., Amigone, M.A., Casal, J.J., (2008). Beef lipids in relation to animal breed and nutrition in Argentina. *Meat Science* 79, 500-508.
- Gatellier, P., Anton, M., y Renerre, M., (1995). Lipid peroxidation induced by H₂O₂-activated metmyoglobin and detection of a myoglobin-derived radical. *Journal.Agric.Food Chem.*, 43: 651.
- Gatellier, P., mercier, Y., y Renerre, M. (2004). Effect of diet finishing mode (pasture or mixed diet) on antioxidant status of Charolais bovine meat. *Meat Science*, 67, 385-394.
- Gatellier, P., Mercier, Y., Juin, H., y Renerre, M. (2005). Effect of finishing mode (pasture- or mixed-diet) on lipid composition, colour stability and lipid oxidation in meat from Charolais cattle. *Meat Science*, 69: 175-186.
- Gatellier, P., Gomez, S., Gigaud, V., Berri, V., Bihan-Duval, E. L., y Sante-Lhoutellier, V. (2007). Use of a fluorescence front faces technique for measurement of lipid oxidation during refrigerated storage of chicken meat. *Meat Science*, 76: 543–547
- Georgantelis, D.; Blekas, G.; Katikou, P.; Ambrosiadis, I., y Fletouris, D. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and a-tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. *Meat Science*, 75: 256-264.

- Giessauf, A., Steiner, E., y Esterbauer, H. (1995). Early destruction of tryptophan residues of apolipoprotein B is a vitamin E independent process during coppermediated oxidation of LDL. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1256: 221–232.
- Gobert, M., Gruffat, D., Habeanub, M., Parafitac, E., Bauchart, D., y Durand, D. (2010). Plant extracts combined with vitamin E in PUFA-rich diets of cull cows protect processed beef against lipid oxidation. *Meat Science* 85: 676–683.
- Goldberg, I. (1994). Introduction. In I. Goldberg, *Functional foods. Designer foods, pharmafoods, nutraceuticals* (pp. 3-16). London: Chapman and Hall.
- Gondret, F., Hocquette, J. F., y Herpin, P. (2004). Age-related relationships between muscle fat content and metabolic traits in growing rabbits. *Reproduction Nutrition Development*, 44: 1–16.
- Goutefongea, R., y Valin, C. (1978). Quality of beef. 2. Comparison of the organoleptic properties of beef from cows and from young bulls. *Annales de Technologie Agricole*, 27: 609–627.
- Gray, J. I., y Pearson, A. M., (1987). Rancidity and warmed-over flavour. *Advances in Meat Research*, 3: 221-269.
- Gray, J. I., Goma, E. A., y Buckley, D. J. (1996). Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, 43: s111–s123.
- Griel, A.E y Kris-Etherton, P.M. (2006). Beyond saturated fat: The importance of the dietary fatty acid profile on cardiovascular disease. *Nutrition Reviews*, 64:257-62.
- Griebenow, R. L., Martz F. A. y Morrow, R. E. (1994). Forage-Based Beef Finishing Systems: A Review. *J. Prod. Agric.* 10:84-91.
- Greene B.E., y Cumuze, T.H. (1981) Relationship between TBA numbers and inexperienced panellists assessments of oxidized flavour in cooked beef. *Journal of Food Science*, 47: 52–54.

- Griinari, J.M., Dwyer, D.A., McGuire, M.A., Bauman, D.E., Palmquist, D.L., Nurmela, K.V.V., (1998). Trans-Octadecenoic Acids and Milk Fat Depression in Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 81: 1251-1261.
- Grunert, K. G. (2006). Future trends and consumer lifestyles with regard to meat consumption. *Meat Science* 74: 149-160
- Ha, Y.L., Grimm, N.K. y Pariza, M.W. (1987). Anticarcinogens from fried ground beef. Heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis*, 8: 1881-1887.
- Halliwell, B. y Gutteridge, J. M. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in Enzymology*, 186: 1–85.
- Hartikainen, H., Xue², T., y Piironen, V. (2000). Selenium as an anti-oxidant and pro-oxidant in ryegrass. *Plant and Soil* 225: 193–200.
- Haug, A., Eich-Greatorex, S., Bernhoft, A., Wold, J.P., Hetland, H., Christophersen, O.A. y Song, T. 2007. Effect of dietary selenium and omega-3 fatty acids on muscle composition and quality in broilers. *Lipids in Health and Disease*, 6:29- 37
- Hayek M. G., S. N. Han, D. Y. Wu, B. A. Watkins, M. Meydani, J. L. Dorsey, D. E. Smith, and S. N. Meydani. (1999). Dietary conjugated linoleic acid influences the immune response of young and old C57BL/6NCrIBR mice. *J. Nutr.* 129:32-38.
- He, M.L., McAllister, T.A., Kastelic, J.P., Mir, P.S., Aalhus, J.L., Dugan, M.E.R., Aldai, N., McKinnon, J.J., (2012). Feeding flaxseed in grass hay and barley silage diets to beef cows increases alpha linolenic acid and its biohydrogenation intermediates in subcutaneous fat. *Journal of Animal Science* 90, 592-604.
- Heinonen, M., Rein, D., Satue-Gracia, M. T., Huang, S.-W., German, J. B., y Frankel, E. N. (1998). Effect of protein on the antioxidant activity of phenolic compounds in a lecithin-liposome oxidation system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 917–922.

- Herdmann, A., Martin, J., Nuernberg, G., Dannenberger, D., y Nuernberg, K. (2010). Effect of dietary n-3 and n-6 PUFA on lipid composition of different tissues of German Holstein bulls and the fate of bioactive fatty acids during processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58:, 8314–8321.
- Hocquette, J. F., Ortigues-Marty, I., Pethick, D. W., Herpin, P., y Fernandez, X. (1998). Nutritional and hormonal regulation of energy metabolism in skeletal muscles of meat-producing animals. *Livestock Production Science*, 56: 115–143.
- Hocquette, J. F., Jurie, C., Ueda, Y., Boulesteix, P., Bauchart, D., y Pethick, D. W. (2003). The relationship between muscle metabolic pathways and marbling of beef. In W. B. Souffrant & C. C. Metges (Eds.), *Progress in research on energy and protein metabolism*. EAAP publication no. 109 (pp. 513–516). The Netherlands: Wageningen Pers.
- Hoover, W.H., (1986). Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *J. Dairy Sci.* 69, 2755- 2766.
- Houseknecht K. L., J. P. Vanden Heuvel, S. Y. Moya-Camarena, C. P. Portocarrero, L. W. Peck, K. P. Nickel, y M.A. Belury. (1998). Dietary conjugated linoleic acid normalized impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty falfa rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 244:678-682.
- Howe, P. H., Meyer, B., Record, S., y Baghurst, K. (2006). Dietary intake of long-chain x-3 polyunsaturated fatty acids: contribution of meat sources. *Nutrition*, 22, 47–53.
- Hunninghake, D.B., Maki, K.C., Kwiterovick, P.O. Jr., Davidson, M.H., Dicklin, M.R., y Kafonek, S.D. (2000). Incorporation of lean red meat National Cholesterol Education Program Step I diet: a long-term, randomized clinical trial in free-living persons with hypercholesterolemic. *Journal of American Colleges of Nutrition*, 19:351-60.

- Hu, F.B., Stampfer, M.J., Manson, J.E., Rimm, E., Colditz, G.A., Rosner, B.A., Hennekens, C.H., Willett, W.C. (1997). Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. *New England Journal of Medicine*, 337:1491-9.
- Hur, S.J., Park, G.B., y Joo, S.T. (2007). Formation of cholesterol oxidation products (COPs) in animal products. *Food Control*, 18: 939-947.
- Insani, E.M., Eyherabide, A., Grigioni, G., Sancho, A.M., Pensei, N.A y Descalzo, A.M. (2008). Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated retail display of beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79: 442-452.
- Ip C., S. F. Chin, J. A. Scimeca, y M. W. Pariza. (1991). Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Res.* 51:6118-6124.
- IPCVA (Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina) (2007). Descripción del proceso logístico de exportación. En: Estudio sobre logística y costos de exportación en el comercio internacional de carne vacuna- análisis comparativo con países exportadores. Dardo Chiesa Ed. Documento de Trabajo N°6. Pp 37-50.
- Irshad A., Kandeepan G., Kumar S., Ashish Kumar A., Vishnuraj M. R., y Shukla V. (2012). Factors Influencing Carcass Composition of Livestock: a Review. *J Anim Prod Adv*, 3: 177-186
- Jiang, Q., Christen, S., Shigenaga, M. K., y Ames, B. N. (2001). γ -Tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74: 714-722.
- Jimenez-Colmenero, F. (2007). Healthier lipid formulation approaches in meat-based functional foods. Technological options for replacement of meat fats by non-meat fats. *Trends in Food Science and Technology*, 18: 567-578.
- Jenkins, T.C., (1993). Lipid Metabolism in the Rumen. *J. Dairy Sci.* 76: 3851-3863.

- Jeremiah, L. E., Dugan, M. E. R., Aalhus, J. L., y Gibson, L. L. (2003). Assessment of the relationship between chemical components and palatability of major beef muscles and muscle groups. *Meat Science*, 65: 1013–1019.
- Juarez, M., Dugan, M. E. R., Aalhus, J. L., Aldai, N., Basarab, J. A., Baron, V. S., y McAllister, T. A. (2011). Effects of vitamin E and flaxseed on rumen-derived fatty acid intermediates in beef intramuscular fat. *Meat Science*, 88: 434–440.
- Juárez, M., Dugan, M. E. R., Aldai, N., Basarab, J. A., Baron, V. S., McAllister, T. A., y Aalhus, L. (2012). Beef quality as affected by increasing the intramuscular levels of vitamin E and omega-3 fatty acids. *Meat Science*, 90: 764-769.
- Jo, C. y Ahn, D. U. (1998). Fluorometric analysis of 2-Thiobarbituric acid reactive substances in Turkey. *Pout Sci.* 77:475-480
- Juzenas, P., Iani, V., Bagdonas, S., Rotomskis, R., & Moan, J. (2001). Fluorescence spectroscopy of normal mouse skin exposed to 5-aminolaevulinic acid and red light. *Journal of Photochemistry and Photobiology B- Biology*, 61: 78–86.
- Kalmijn, S. (1997). Dietary fat intake and the risk of incident dementia in the Rotterdam Study. *Annals of Neurology*, 42:776-82.
- Karolyi, D., Đikić, M., Salajpal, K., y Jurić, I. (2009). Fatty acid composition of muscle and adipose tissue of beef cattle. *Italian Journal of Animal Science*, 8: 264–266.
- Kennedy, T. A., y Lieber, D. C. (1992). Peroxyl radical scavenging by bcarotene in lipid bilayers. Effect of oxygen partial pressure. *The Journal of Biological Chemistry*, 267: 4658–4663.
- Kepler C. R., and S. B. y Tove. (1967). Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. III. Purification and properties of linoleates D12-cis, D11-trans isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.* 242:5686-5692.

- Kerry, J. P., Buckley, D. J., Morrissey, P. A., O'Sullivan, K., y Lynch, P. B. (1998). Endogenous and exogenous α -tocopherol supplementation: effects on lipid stability (TBARS) and warmed-over flavour (WOF) in porcine *M. longissimus dorsi* roasts held in aerobic and vacuum packs. *Food Research International*, 31: 211-216.
- Killinger, K. M., Calkins, C. R., Umberger, W. J., Feuz, D. M. y Eskridge, K. M. (2004). Consumer sensory acceptance and value for beef steaks of similar tenderness, but differing in marbling level. *J. Anim Sci.* 82: 3294-3301.
- Kinght, T.W., Knowles, S., y Death, A.F. (2003). Factors affecting the variation in fatty acid concentrations in lean beef from grass-fed cattle in New Zealand and the implications for human health. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 46: 83–95
- Kirchofer, K. S., Calkins, C. R. y Gwartney, B. L.. (2002). Fiber-type composition of muscles of the beef chuck and round. *J. Anim. Sci.* 80, 2872–2878.
- Knekt, P., Jarvinen, R., Seppanen, R., Pukkala, E., y Aromaa, A. (1996). Intake of dairy products and the risk of breast cancer. *British Journal of Cancer*, 73:687-91
- Kris-Etherton, P.M., y Yu, .S. (1997). Individual fatty acid effects on plasma lipids and lipoproteins. Human studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 65:1628S-44S.
- Kris-Etherton, P.M (1999). Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. *Circulation*, 100:1253
- Kronberg, S.L., Barceló-Coblijn, G., Shin, J., Lee, K., y Murphy, E.J., (2006). Bovine muscle n-3 fatty acid content is increased with flaxseed feeding. *Lipids* 41, 1059-1068.
- Kropf, D. H. (1993). Colour stability: Factors affecting the colour of fresh meat. *Meat Focus International*, 1: 269–275.

- Labbé, R.F., Vreman, H.J., y Stevenson, D.K (1999). Zinc protoporphyrin: a metabolite with a mission. *Clinical Chemistry*, 45: 2060-2072.
- Lanari, M. C., D. M. Schaefer, Q. Liu, y Cassens, R. G. (1996). Kinetics of Pigment Oxidation in Beef from Steers Supplemented with Vitamin E. *Journal of Food Science* 61: 884-889.
- Latimori, N.J., Kloster, A.M., García, P.T., Carduza, F.J., Grigioni, G., Pensel, N.A., 2008. Diet and genotype effects on the quality index of beef produced in the Argentine Pampeana region. *Meat Science* 79, 463-469.
- Leheska, J.M., Thompson, L.D., Howe, J.C., Hentges, E., Boyce, J., Brooks, J.C., Shriver, B., Hoover, L., y Miller, M.F. (2008). Effects of conventional and grass-feeding systems on the nutrient composition of beef. *Journal Animal Science*, 86:3575-85.
- Lengyel, Z., Husvéth, F., Polgár, P. Szabó, F. , y Magyar, L. (2003). Fatty acid composition of intramuscular lipids in various muscles of Holstein-Friesian bulls slaughtered at different ages. *Meat Science*, 65: 593-598
- Levine, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A. G., et al. (1990). Determination of carbonyl groups in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, 186: 464-478
- Lindqvist, H., Nadeau, E., y Jensen, S.K. (2012). Alpha-tocopherol and β -carotene in legume-grass mixtures as influenced by wilting, ensiling and type of silage additive. *Grass and Forage Science*, 67: 119-128.
- Lippke, H., Ellis, W.C., Jacobs, B.F., 1986. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. *J. Anim. Sci.* 69, 403-412.
- Liu, Q., Scheller, K. K., Arp, S. C., Schaefer, D. M., y Williams, S. N. (1996). Titration of fresh meat color stability and malondialdehyde development with Holstein steers fed vitamin E-supplemented diets. *Journal of Animal Science*, 74: 117-126.

- Lock, A. L., y Bauman, D.E. (2003). Dairy products and milk fatty acids as functional food components. En: Proceedings of the Cornell Nutrition Conference. pp 159-173.
- Lucero-Borja, J., Pouzo, L.B., De la Torre, M.S., Lagman, L., Carduza, F., Corva, P.M., Santini, F.J y Pavan, E. (2014). Slaughter weight, sex and age effects on beef shear forcé and tenderness. *Livestock Science* 163: 140–149.
- Lund, M. N., Heinonen, M., Baron, C. P., y Estevez, M. (2011). Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular, Nutrition and Food Research*, 55: 83–95.
- Luciano, G., Pauselli, M., Servili, M., Mourvaki, E., Serra, A., Monahan, F.J., Lanza, M., Priolo, A., Zinnai, A., y Mele, M. (2013). Dietary olive cake reduces the oxidation of lipids, including cholesterol, in lamb meat enriched in polyunsaturated fatty acids. *Meat Science*, 93: 703-714
- Lynch, A.; Kerry, J. P.; Buckley, D. J.; Morrissey, P. A., y Lopez-Bote, C. (2001). Use of high pressure liquid chromatography (HPLC) for the determination of cda-tocopherol levels in forage (silage/grass) samples collected from different regions in Ireland. *Food Chemistry*, 72: 521–524.
- Machlin, L. J. (1984). Vitamin E. In L. J. Machlin (Ed.), *Nutritional, biochemical and clinical aspects* (pp. 99–145). New York: Marcel Dekker.
- MAGYP (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca) (2014). Sistema Integrado de Información Agropecuaria. [on line]. [Citado Febrero de 2014]. Disponible en: <http://www.siiia.gov.ar>.
- Maddock, T.D., Bauer, M.L., Koch, K.B., Anderson, V.L., Maddock, R.J., Barcelo-Coblijn, G., Murphy, E.J., Lardy, G.P., (2006). Effect of processing flax in beef feedlot diets on performance, carcass characteristics, and trained sensory panel ratings. *J. Anim Sci.* 84, 1544-1551.

- Mahecha, L., Nuernberg, K., Nuernberg, G., Ender, K., Hagemann, E y Dannenberger, D. (2009). Effects of diet and storage on fatty acid profile, micronutrients and quality of muscle from German Simmental bulls. *Meat Science*, 82: 365-371.
- Mahecha, L., Nuernberg, K., Nuernberg, G., Martin, J., Hubbermann, E.M., Knoeller, S., Claeys, E., De Smet, S., y Dannenberger, D.(2011). Antioxidant enzyme activities and antioxidant capacity in longissimus muscle from bulls fed diets rich in polyunsaturated fatty acids. *Food Chemistry*, 127: 379-386.
- Malau-Aduli, A. E. O., Siebert, B. D., Bottema, C. D. K., y Pitchford, W. S. (1997). A comparison of the fatty acid composition of triacylglycerols in adipose tissue from Limousin and Jersey cattle. *Australian Journal of Agriculture Research*, 48: 715–722.
- Martin, G. S., D. K. Lunt, K. G. Britain, y S. B. Smith. (1999). Postnatal development of stearoyl coenzyme A desaturase gene expression and adiposity in bovine subcutaneous adipose tissue. *J. Anim. Sci.* 77: 630-636.
- Mapiye, C., Turner, T.D., Rolland, D.C., Basarab, J.A., Baron, V.S., McAllister, T.A., Block, H.C., Uttaro, B., Aalhus, J.L., Dugan, M.E.R., (2013). Adipose tissue and muscle fatty acid profiles of steers fed red clover silage with and without flaxseed. *Livestock Science* 151: 11-20.
- Mc Afee, A.J., Mc Sorley, E.M., Cuskelly, G.J., Fearon, A.M., Moss, B.W., Beattie J.A.M., Wallace, J.M.W., Bonham, M.P., y Strain, J.J. (2011). Red meat from animals offered grass diets increases plasma and n-3 PUFA in healthy consumers. *British Journal of Nutrition*, 105: 80-89.
- McClure, E.K., Belk, K.E., Scanga, J.A., y Smith, G.C. (2002). Determination of appropriate Vitamin E supplementation levels and administration times to ensure adequate muscle tissue alpha-tocopherol concentration in cattle destined for the

- Nolan Ryan tender-aged beef program. AnimalSciences Research Report. The Department of Animal Sciences, ColoradoState University, Ref Type: Report
- McDowell, L. R., Williams, S. N., Hidiroglou, N., Njeru, C. A., Hill, G. M., Ochoa, L., y Wilkinson, N.S. (1996). Vitamin E supplementation for the ruminant. *Animal Feed Science and Technology*, 60: 226-273.
- Melanson, K., Gootman, J., Myrdal, A., Kline, G., Rippe, J.M. (2003). Weight loss and total lipid profile changes in overweight women consuming beef or chicken as the primary protein source. *Nutrition*, 19:409-14.
- Mensink, R.P y Katan, M.B. (1992). Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. *Arteriosclerosis Thrombosis Vascular Biology*, 12:911-9.
- Mensink, R.P., Zock, P.L., Kester, A.D., Katan, M.B. (2003). Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: A meta-analysis of 60 controlled trials. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77:1146-55.
- MERCADO DE LINIERS S.A. 2014. Clasificación ONCCA. [On line], [Citado 20 febrero 2014] disponible en <http://www.mercadodeliniers.com.ar/>.
- Miller, M.F. (1995) Performance, carcass yield and carcass quality characteristics of steers finished on Rhizoma peanut (*Arachis glabrata*)-tropical grass pasture or concentrate. *J. Anim. Sci.* 73:1881-1887.
- Min, B. R., Nam, K. C., Cordray, J. C., y Ahn, D. U. (2008). Factors affecting oxidative stability of pork, beef, and chickenmeat. *Animal Industry Report: AS 654, ASL R2257* (http://lib.dr.iastate.edu/ans_air/vol654/iss1/6).
- Mitchell, P. L., Karakach, T. K., Currie, D. L., y McLeod, R. S. (2012). t-10, c-12 CLA dietary supplementation inhibits atherosclerotic lesion development despite adverse cardiovascular and hepatic metabolic marker profiles. *PLoS One*, 7(12), e52634.

- Moloney, A.P., Kennedy, C., Noci, F., Monahan, F.J., y Kerry, J.P. (2012). Lipid and colour stability of *M. longissimus* muscle from lambs fed camelina or linseed as oil or seeds. *Meat Science*, 92: 1-7.
- Moreno, T., Keane, M.G., Noci, F. y Moloney, A.P. (2008). Fatty acid composition of *M. Longissimus dorsi* from Holstein–Friesian steers of New Zealand and European/American descent and from Belgian Blue Holstein–Friesian steers, slaughtered at two weights/ages. *Meat Science* 78: 157–169.
- Morrissey, P. A., Buckley, D. J., y Galvin, K. (2000). Vitamin E and the oxidative stability of pork and poultry. En Eric Decker, Cameron Faustman, & Clemente J. Lo´pez-Bote (Eds.), *Antioxidants in muscle foods* (pp. 263–287). John Wiley & Sons Inc.
- Morris, C. A., Evasn, D.A., Bienias, J.L., Tangney, C.C., Benett, D.A., Wilson, R.S., Aggarwal, N., y Schneider, J. (2003). Consumption of fish and n-3 fatty acids and risk of incident Alzheimer disease. *Archives of Neurology*. 60:940-946.
- Morrissey, P.A., Sheehy, P.J.A., Galvin, K., Kerry, J.P & Buckley, D.J. (1998). Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science*, 49, 73-86.
- Nassu, R.T., Dugan, M.E.R., He, M.L., McAllister, T.A., Aalhus, J.L., Aldai, N., Kramer, J.K.G., (2011). The effects of feeding flaxseed to beef cows given forage based diets on fatty acids of *longissimus thoracis* muscle and backfat. *Meat Science* 89, 469-477.
- National Research Council (US) (1988). Committee on Technological Options to Improve the Nutritional Attributes of Animal Products. *Designing Foods: Animal Product Options in the Marketplace*. Washington (DC): National Academies Press (US); 1988. The Role of Fat in the Palatability of Beef, Pork, and Lamb. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK218173/>

- NRC (National Research Council) (1996). *Carcinogens and Anticarcinogens in the Human Diet: A Comparison of Naturally Occurring and Synthetic Substances*. Washington, DC: The National Academies Press, 1996.
- Nuernberg, K., Dannenberger, D., Nuernberg, G., Ender, K., Voigt, J., Scollan, N.D., Wood, J.D., Nute, G.R., y Richardson, R.I. (2005) Effect of a grass-based and a concentrate feeding system on meat quality characteristics and fatty acid composition of longissimus muscle in different cattle breeds. *Livestock Production Science*, 94:137-47.
- Nürnberg K., Wegner J., y Ender K., (1998). Factors influencing fat composition in muscle and adipose tissue of farm animals, *Livest. Prod. Sci.* 56: 145–156.
- Noci, F., Monahan, F.J., French, P., y Moloney, A.P., (2005). The fatty acid composition of muscle fat and subcutaneous adipose tissue of pasture-fed beef heifers: Influence of the duration of grazing. *J. Anim. Sci.* 83: 1167-1178.
- Noci, F., French, P., Monahan, F.J., Moloney, A.P., (2007). The fatty acid composition of muscle fat and subcutaneous adipose tissue of grazing heifers supplemented with plant oil-enriched concentrates. *J. Anim Sci.* 85, 1062-1073.
- Nockels, C.F., Odde, K.G., y Craig, A.M. (1996). Vitamin E supplementation and Stress affect tissue alpha-tocopherol content of beef heifers. *J. Anim. Sci.*, 74: 672-677.
- Nute, G. R., Richardson, R. I., Wood, J. D., Hughes, S. I., Wilkinson, R. G., Cooper, S. L., y Sinclair, L. A., (2007). Effect of dietary oil source on the flavour and the colour and lipid stability of lamb meat. *Meat Science*, 77:547–55.
- Oba, M., Thangavelu, G., Dehghan-banadaky, M., Ambrose, D.J ., (2009). Unprocessed whole flaxseed is as effective as dry-rolled flaxseed at increasing α -linolenic acid concentration in milk of dairy cows. *Livestock Science*, 122: 73-76.

- Observatorio Ganadero (2012). Exportaciones de carne bovina 2012. Observatorio de la Cadena de la Carne Bovina de Argentina, informe N°2. Buenos Aires, Argentina. 25 pág.
- OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD). (2004). 57a ASAMBLEA MUDIAL DE LA SALUD. Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud. [online]. [citado octubre 2012]. Disponible en: www.propia.org.ar/descargas/apicobade.pdf.
- O'Quinn, T. G., Brooks, J. C., Polkinghorne, R. J., Garmyn, A. J., Johnson, B. J., Starkey, J.D., Rathmann, R. J., y Miller, M. F. (2012). Consumer assessment of beef strip loin steaks of varying fat levels. *Journal of Animal Science*, 90: 626–634.
- O'Sullivan, A., O'Sullivan, K., Galvin, K., Moloney, A.P., Troy, D. J., y Kerry, J. P. (2002). Grass silage versus maize silage effects on retail packaged beef quality. *Journal of Animal Science*, 80: 1556-1563.
- Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., y Deemer, E. K. (2002). Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferricreducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50, 3122–3128.
- Pariza M. W., y W. A. Hargraves. (1985). A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7,12 dimethylbenz[a]anthracene. *Carcinogenesis* 6:591-593.
- Pariza M. W., Y. Park, S. Kim, K. Sugimoto, K. Albright, W. Liu, J. Storkson, y M. Cook. (1997). Mechanism of body fat reduction by conjugated linoleic acid. *FASEB J.* 11:A139
- Park, P., y Goins, R. E. (1994). In situ preparation of FAME for analysis of fatty acid composition in food. *Journal of Food Science*, 59: 1262-1266.

- Park Y., Storkson J. M., Albright, K. J. Liu, K. J y Pariza, M. W. (1999). Evidence that the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces Body composition changes in mice. *Lipids*, 34:235-241.
- Pavan, E. (2006). Enhancing beef conjugated linoleic acid content through oil supplementation to grazing steers. Dissertation, University of Georgia, Athens, GA, USA.
- Pavan, E., y Duckett, S.K., (2007). Corn oil supplementation to steers grazing endophyte-free tall fescue. II. Effects on longissimus muscle and subcutaneous adipose fatty acid composition and stearoyl-CoA desaturase activity and expression. *J. Anim Sci.* 85, 1731-1740.
- Pavan, E., y Duckett, S.K., (2013). Fatty acid composition and interrelationships among eight retail cuts of grass-feed beef. *Meat Science*, 93: 371-377.
- Pethick, D. W., Harper, G. S., y Oddy, V. H. (2004). Growth, development and nutritional manipulation of marbling in cattle: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 44, 705–715
- Ponnampalam, E. N., Trout, G. R., Sinclair, A. J., Egan, A. R., y Leury, B. J. (2001). Comparison of the color stability and lipid oxidative stability of fresh and vacuum packaged lamb muscle containing elevated omega-3 and omega-6 fatty acid levels from dietary manipulation. *Meat Science* 58: 151-161.
- Ponnampalam, E. N., Burnett , V. F NorngC, S. Warner, R. D., y Jacobs, J. L. (2012). Vitamin E and fatty acid content of lamb meat from perennial pasture or annual pasture systems with supplements. *Animal Production Science*, 2012, 52, 255–262.
- Posner, B.M., Cobb, J.L., Belanger, A.J., Cupples, L.A., D'Agostino, R.B., y Stokes, J. (1991). Dietary lipid predictors of coronary heart disease in men. The Framingham Study. *Archives of Internal Medicine*, 151:1181-7.

- Poulson J., Suman, S. P., Rentfrow, G., Li, S. y Beach, C. M. (2012). Proteomics of Muscle-Specific Beef Color Stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 3196-3203.
- PROPIA (PROGRAMA DE PREVENCIÓN DEL INFARTO EN ARGENTINA). (2005). El aceite de girasol de alto oleico y la prevención de la aterosclerosis. [online]. [citado octubre 2012]. Disponible en: www.propia.org.ar/descargas/micoyen20.pdf
- Putnam J., Allshouse J. y Scott-Kantor L. (2002). U.S. per capita food supply trends: More calories, refined carbohydrates, and fats. *Food Review*, 25:2-15
- Realini, C. E., S. K. Duckett, G. W. Brito, M. Dalla Rizza, and D. De Mattos. 2004. Effect of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. *Meat Science* 66: 567-577.
- Rearte, D. H. 2007. Perspectiva de las cadenas cárnicas en Argentina, INTA, Balcarce, Bs. As. (En línea): <http://www.inta.gov.ar/balcarce/carnes/perspect.htm>
- Relling, A.E., Mattioli, G.A. (2013). Fisiología Digestiva del Rumiante Adulto. En: Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes. Relling y Mattioli eds. Departamento de Ciencias Biológicas. Departamento de Producción animal. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- Renner, M. (1990). Review: factors involved in the discoloration of beef meat. *International Journal of Food Science & Technology*, 25: 613–630.
- Ritzenthaler, K.L., McGuire, M.K., Falen, R., Shultz, T.D., Dasgupta, N., y McGuire MA. (2001). Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology. *Journal of Nutrition*, 131:1548-54

- Roncalés-Ravinal, P. (2010). Optimización de los sistemas de envasado y de la conservación de alimentos. Academia de Farmacia "Reino de Aragón". Zaragoza, España
- Rotomskis, R., Bagdonas, S., & Streckyte, G. (1996). Spectroscopic studies of photobleaching and photoproduct formation of porphyrins used in tumour therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology*, 33: 61–67.
- Sackmann, J. R., Duckett, S.K., Gillis, M. H., Realini, C. E., Parks, A. H. y Eggelston, R. B. (2003). Effects of forage and sunflower oil levels on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. *J. Anim. Sci.* 81: 3174-3181.
- Sahar, A., Boubellouta, T., Lepetit, J., y Dofour, É. (2009). Front-face spectroscopy as a tool to classify seven bovine muscles according to their chemical and rheological characteristics. *Meat Science*, 83: 672-677.
- Salter, A.M. (2013). Dietary fatty acids and cardiovascular disease. *Animal*, 7: 163–171.
- Sampels, S., Pickova, J., y Wiklund, E. (2004). Fatty acids, antioxidants and oxidation stability of processed reindeer meat. *Meat Science*, 67: 523–532.
- Sample, S. (2013). Oxidation and antioxidants in fish and meat from farm to fork. In I. Muzzalupo (Ed.), *Food industry* (pp. 114–144). Croatia: InTech Publishing.
- Shinn, S., Liyanage, R., Lay, J., y Proctos, A. (2014). Improved Fatty Acid Analysis of Conjugated Linoleic Acid Rich Egg Yolk Triacylglycerols and Phospholipid Species. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 62: 6608-6615.
- Scollan, N. D., Enser, M., Gulati, S. K., Richardson, I., y Wood, J. D. (2003). Effects of including a ruminally protected lipid supplement in the diet on the fatty acid composition of beef muscle. *British Journal of Nutrition*, 90: 709–716.

- Scollan, N., Hocquette, J.-F., Nuernberg, K., Dannenberger, D., Richardson, I. y 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: 17-33.
- Scott, L.W., Dunn, J.K., Pownell, H.J., Brauchi, D.J., McMann, M.C., Herd, J.A., Harris, K.B., Savell, J.W., Cross, H.R., y Gotto, A.M. Jr. (1994). Effects of beef and chicken consumption on plasma lipid levels in hypercholesterolemic men. *Archives of Internal Medicine*, 154:1261-1267.
- SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria). Información del Sistema Integrado de Gestión para la Sanidad Animal al 31/03/2013. [online]. [Citado Febrero 2014]. Disponible en: <http://www.senasa.gov.ar>.
- Shorthose, W. R., y P. V. Harris. (1990). Effect of Animal Age on the Tenderness of Selected Beef Muscles. *Journal of Food Science*, 55: 1-8.
- Sikorska, E., Khmelinskii, I.V., Sikorski, M., Caponio, F., Bilancia, T., Pasqualone, A., y Gomes, T. (2008). Fluorescence spectroscopy in monitoring of extra virgin olive oil during storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 43:52-61.
- Silveira Rodriguez, M. B; Monereo Megias, S. Y Molina Baena, B. (2003). Alimentos funcionales y nutrición óptima: ¿Cerca o lejos?. *Revista Española de Salud Pública*, 77:317-331.
- Schor, A., Cossu, M. E., Picallo, A., Ferrer, J. M. , Naón, J. J. G., & Colombatto, D. (2008). Nutritional and eating quality of argentinean beef: A review. *Meat Science*, 79: 408-422
- Scollan, N. D., Enser, M., Gulati, S. K., Richardson, I., y Wood, J. D. (2003). Effects of including a ruminally protected lipid supplement in the diet on the fatty acid composition of beef muscle. *British Journal of Nutrition*, 90: 709–716.

- Scollan, N., Hocquette, J.F., Nuernberg, K., Dannenberg, D., Richardson, I., y 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: 17-33.
- Sherbeck, J. A., Wulf, D. M., Morgan, J. B., Tatum, J. D., Smith, G. C., y Williams, S. N. (1995). Dietary supplementation of vitamin E to feedlot cattle affects beef retail display properties. *Journal of Food Science*, 60: 250–252.
- Schneider, J., Wulf, J., Surowsky, B., Schmidt, H., Schwägele, F., y Schlüter, O. (2008). Fluorometric detection of protoporphyrins as an indicator for quality monitoring of fresh intact pork meat. *Meat Science*, 80: 1320–1325.
- Skjervold, P. O., Taylor, R. G., Wold, J. P., Berge, P., Abouelkaram, S., Culioli, J., et al. (2003). Development of intrinsic fluorescent multispectral imagery specific for fat, connective tissue, and myofibers in meat. *Journal of Food Science*, 68: 1161–1169.
- Sikel, H., Bilger, W. y Ohlson, M. (2012). High levels of α -tocopherol in norwegian alpine grazing plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 7573-7580.
- Simonne, A.H., Green, N.R., y Bransby, D.I. (1996). Consumer acceptability and betacarotene content of beef as related to cattle finishing diets. *Journal of Food Science*, 61:1254-1256.
- Simopoulos, A. (1991). Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *American Journal of Clinical Nutrition*, 54:438-63.
- Sinclair A.J., Johnson, L., O'Dea, K., Holman, R.T. (1994). Diets rich in lean beef increase arachidonic acid and long-chain omega 3 polyunsaturated fatty acid levels in plasma phospholipids. *Lipids*, 29:337-43.

- Siri-Tarino, P. W., Sun, Q., Hu, F. B., y Krauss, R. M. (2010). Meta-analysis of prospective cohort studies evaluating the association of saturated fat with cardiovascular disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 91, 535–546.
- Smith, S.B., Lunt, D.K., Chung, K.Y., Choi, C.B., Tume, R.K., Zembayashi, M., (2006). Adiposity, fatty acid composition, and delta-9 desaturase activity during growth in beef cattle. *Animal Science Journal* 77: 478-486.
- Singh, K. K., Mridula, D. , Jagbir Rehal y Barnwal P. (2011) Flaxseed: A Potential Source of Food, Feed and Fiber. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 51, 210-222
- Stadtman, E. R. (1990). Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: Biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radical Biology and Medicine*, 9: 315–325.
- Stelzleni, D. y D. Johnson. (2008). Effect of days on concentrate feed on seNSory off-flavor score, off-flavor descriptor and fatty acid profiles for selected muscles from cull beef cows. *Meat Science* 79: 382–393
- Tanaka, K. (2005). Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. *Animal Science Journal*, 76: 291-303.
- Tejerina, D., García-Torres, S., Cabeza de vaca, M., Vázquez, F. M., y Cava, R. (2011). Acorns (*Quercus rotundifolia* Lam.) and grass as natural sources of antioxidants and fatty acids in the “montanera” feeding of Iberian pig: Intra- and inter-annual variations. *Food Chemistry*, 124: 997-1004.
- Thomas B. J. (2002). Efficiency of conversion of alpha-linolenic acid to long chain n-3 fatty acids in man. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 5:127-32.
- Thompson, J. M. (2004). The effects of marbling on flavour and juiciness scores of cooked beef, after adjusting to a constant tenderness. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 44: 645–652.

- Touré, A., y Xueming, X. (2010). Flaxseed Lignans: Source, Biosynthesis, Metabolism, Antioxidant Activity, Bio-Active Components, and Health Benefits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9: 261-269.
- Traber, M.G. (1999). Utilization of vitamin E. *Biofactors*.10:115-12.
- Troy, D.J. y Kerry, J.P. (2010). Consumer perception and the role of science in the meat industry. *Meat Science*, 86: 214-226.
- Tsuchihashi, H., Kigoshi, M., Iwatsuki, M., y Niki, E. (1995). Action of β -carotene as antioxidant against lipid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 323, 137-147.
- Turpeinen, A.M., Mutanen, M., Aro, A.S.I., Basu, S.P.D., y Griinar, J.M. (2002) Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76:504-10.
- Turk, S.N., y Smith, S.B., (2009). Carcass fatty acid mapping. *Meat Science* 81: 658-663.
- Udenfriend, S. (1969). *Fluorescence assay in biology and medicine* (Vol. 2, pp. 539-556). New York: Academic Press.
- Ulbricht, T. L. V., and D. A. T. Southgate. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet* 338: 985-992.
- Valenzuela, A.; Sanhueza, J. y Nieto, S. (2003). Revision: Natural antioxidants in functional foods: from food safety to health benefits. *Grasa y Aceites*, 54: 295-303.
- Van Esch, G.T. (1996). Toxicology of tert-butyl-hydroquinone (TBHQ). *Food and Chemical Toxicology*, 24: 1063-1066.
- Vander Heuvel, J. P. (1999). Peroxisome proliferator-activated receptors: A critical link among fatty acids, gene expression and carcinogenesis. *J. Nutr.* 129: 575S-580S
- Veberg, A., Olsen, E., Vogt, G., Mielnik, M., Nilsen, A. N., y Wold, J. P. (2006). Front face fluorescence spectroscopy – A rapid method to detect early lipid oxidation in freeze stored minced turkey meat. *Journal of Food Science*, 71: 364–370.

- Vernon R.G y Flint D.F. (1988). Lipid metabolism in farm animals, Proc. Nutr. Soc. 47: 287–293.
- Vidal-Carou, C.M. (2008) Alimentos Funcionales. Algunas reflexiones en torno a su necesidad, seguridad y eficacia y a cómo declarar sus efectos sobre la salud. HUMANITAS humanidades médicas temas del mes on line N°24, 1-27p.
- Viljanen, K., Sunberg, S., Ohshima, T., y Heinonen, M. (2002). Carotenoids as antioxidants to prevent photooxidation. European Journal of Lipid Science and Technoly, 104:353–359.
- Viljanen, K., Kylli, P., Kivikari, R., y Heinonen, M. (2004). Inhibition of protein and lipid oxidation in liposomes by berry phenolics. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52: 7419–7424.
- Vivian, J. T., y Callis, P. R. (2001). Mechanisms of tryptophan fluorescence shifts in proteins. Biophysical Journal, 80: 2093–2109.
- Wakamatsu, J., Okui, J., Ikeda, Y., Nishimura, T., y Hattori, A. (2004). Establishment of a model experiment system to elucidate the mechanism by which Zn–protoporphyrin IX is formed in nitrite-free drycured ham. Meat Science, 68: 313–317.
- Walshe, B. E., Sheehan, E. M., Delahunty, C. M., Morrissey, P. A., y Kerry, J. P. (2006). Composition, sensory and shelf life stability analyses of Longissimus dorsi muscle from steers reared under organic and conventional production systems. Meat Science, 73: 319–325.
- Wang, Y., Jacome-Sosa, M. M., y Proctor, S. D. (2012). The role of ruminant trans fat as a potential nutraceutical in the prevention of cardiovascular disease. Food Research International, 46: 460–468.
- Warris, P.D. (2000). Meat Science: An introductory text. CABI Publishing. New York. USA.

- WHO (World Health Organisation) (2003). Report of a Joint Expert Consultation: Diet, Nutrition and the prevention of chronic diseases. WHO Technical Report Series 916. FAO/WHO, Ginebra, 2003.
- Williams, C. M., y Burdge, G. (2006). Long-chain n _ 3 PUFA: plant v. marine sources. *Proceedings of the Nutrition Society*, 65: 42-50.
- Wold, J.P., Veberg, A., Nilsen, A., Iani, V., Juzenas, P., y Moan, J. The role of naturally occurring chlorophyll and porphyrins in light-induced oxidation of dairy products. A study based on fluorescence spectroscopy and sensory analysis. *International Dairy Journal*, 15: 343-353.
- Wood, J. D., y Enser, M. (1997). Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. *British Journal of Nutrition*, 78: S49–S60.
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Gheard, P.R., Richardson, R.I., Hughes, S.I. y Whittington, F.M. (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science* 78: 343-358.
- Wulf, D. M., Morgan, J. B., Tatum, J. D. y Smith, G. C. (1996). Effects of animal age, marbling score, calpastatin activity, subprimal cut, calcium injection, and degree of doneness on the palatability of steaks from limousin steers. *Journal of Animal Science* 74: 569-576.
- Wright, J.S., Johnson, E.R., y DiLabio, G.A. (2001). Predicting the activity of phenolic antioxidants: theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. *Journal of American Chemical Society*, 123:1173–83.
- Xiao, S., Zhang, W. G., Lee, E. J., & Ahn, D. U. (2013). Effects of diet, packaging and irradiation on protein oxidation, lipid oxidation of raw broiler thigh meat. *Animal Industry Report*, AS 659, ASL R2761.

- Yang, A., McLennan, S. R., Armstrong, J., Larsen, T. W., Shaw, F. D., y Tume, R. K. (1993). Effect of short-term grain feeding on bovine body-fat colour: a cautionary note. *Australian Journal of Agricultural Research*, 44: 215–220.
- Yang, A., Brewster, M. J., Lanari, M. C., y Tume, R. K. (2002a). Effect of vitamin E supplementation on a-tocopherol and b-carotene concentrations in tissues from pasture-and grain-fed cattle. *Meat Science*, 60, 35–40.
- Yang, A., M. C. Lanari, M. Brewster, and R. K. Tume. (2002b). Lipid stability and meat colour of beef from pasture- and grain-fed cattle with or without vitamin E supplement. *Meat Science* 60: 41-50.
- Zembayashi, M. (1993). Comparison of growth and distribution of carcass tissues between steers and heifers. *Animal Science Technology (Jpn)*. 64:260.