



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

*MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA  
PRODUCCIÓN Y SALUD ANIMAL*

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“SUPLEMENTACIÓN DE SELENIO EN NOVILLOS DE ENGORDA, EFECTO EN  
PARÁMETROS DE CALIDAD DE LA CARNE EN CONGELACIÓN”**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

María de Jesús Soto Martínez

TUTOR:

Jorge Luis Tórtora Pérez  
FESC

COMITÉ TUTOR:

José Luis Arjona Román  
FESC  
Everardo González Padilla  
FMVZ

Cuautitlán Izcalli, Estado de México  
Junio 2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## DEDICATORIA

A mi padre, que me tomo de la mano cuando empecé a caminar y me soltó para seguir sola, te recuerdo haber trabajado durante todo el día, porque tu no querías que viviéramos como tú lo hiciste niño, pero te esperaba con ansias por que llegaba de las Lecherias con dulces de café, sabes pá, no te reprochó el tiempo ni nada todo lo contrario gracias por tu preocupación. Me enseñaste que con trabajo, esfuerzo y perseverancia se pueden lograr los sueños y los puedes ver realizados, que no hay que conformarse. Que hay que ser una persona libre de pensamiento, digna y no quebrantar los ideales. Solo te pido algo quiero que procures tu salud, por mi hermanita y mi mama, y aun me haces falta a mí, tu eres mi inspiración.

A mi mama, mi mayor ejemplo y orgullo, mama recuerdo que te abstenías al comprarte algo para ti, preferías comprar comida y tener dinero para los pasajes, uniformes y cosas para la escuela. A pesar que a ti tus padres no te dieron la oportunidad de continuar con tus estudios, tú te has esforzado para que mis hermanos y yo logremos obtener un título universitario. Sabes escogiste el trabajo más pesado y que nunca se acaba el de ser mama y lo has hecho bien, gracias por tu impulso, ejemplo y apoyo, este logro que he alcanzado, en realidad es tuyo.

A mis hermanos, Mari tu eres muy pequeña y aun te falta mucho camino que recorrer, tu eres la hija de mi corazón y siempre estaré a tu lado, digan lo que digan no espero nada de ti, solo que tengas un desarrollo integral y feliz, y que la circunstancias que están a tu alrededor no afecten tu formación, tu sonrisa es mi motor. Raúl, a pesar de tu estatura eres un niño solo te digo que no te des por vencido, eres muy inteligente solo que te falta disciplina y perseverancia. Luis, no hay peor ciego que el que no quiere ver. Naivi ponte las pilas a pesar de todo formas parte de este proyecto de mi vida, te quiero, pero nadie va a venir a hacer algo por ti si tú no lo haces. Logan, no sabes que falta me has hecho, pero crecer duele, a Alin, Jusset y Cami.

Román, llegaste en un momento complicado, pero importante en mi vida, en el cual he tomado decisiones trascendentes en mi vida, gracias por tu cariño, compañía y apoyo en este trayecto.

Dedico también este trabajo a mi querida UNAM y más aun a mi amada FES Cuautitlán, que siempre será mi hogar.

*Queda prohibido no sonreír ante los problemas, no luchar por lo que quieres, abandonarlo todo por miedo, no convertir en realidad tus sueños.*

**Pablo Neruda**

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México y en especial a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por mi formación profesional de calidad y también contribuir a la formación personal.

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal de la UNAM, por la oportunidad para seguirme preparando.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el fomento a la investigación en México.

Al Dr. Jorge Tortora Pérez, por su paciencia, confianza, por sus consejos y apoyo, y por segunda vez poder realizar un trabajo de investigación con él, es un placer poder trabajar con usted, le tengo mucho cariño, respeto y admiración, gracias.

A mi comité, Dr. José Luis Arjona Román y Dr. Everardo González Padilla, por su tiempo, exigencias y las críticas constructivas durante este proceso, contribuyeron a forjarme un carácter.

A la Dra. Rosalía, por su cariño, apoyo en el desarrollo del proyecto e intervención en el análisis estadístico, por sus consejos, llamadas de atención; por la contribución a mi crecimiento y formación profesional y también personal. Le tengo mucho cariño.

Al Dr. Jonathan Coria, por su apoyo y transmitir sus conocimientos, también a sus alumnos de licenciatura a Miguel y Octavio.

A la Dra. Patricia Ramírez Noguera y Dr. Roberto, por ser mi profesora durante la maestría, abrirme las puertas del laboratorio de Toxicología, permitirme integrarme con sus alumnos y hacerme sentir como parte de su equipo de trabajo, por su apoyo y su guía. A Sofí y a Denis, por su tiempo, apoyo y amistad.

Al Laboratorio de Farmacología en especial a Gaby Rodríguez, por su apoyo en este trabajo, por compartir su conocimiento y brindarme su amistad.

A la Unidad de Producción Pecuaria (UPP) “Ganadería Addtul”, al Dr. Luis, por su apoyo y confianza que depositaron en este proyecto, al MVZ. Luis Vázquez, Olegario Ruiz, Ezequiel Aguilar Mota, Erik Ruiz Lagunés, Francisco Huerta Delgado, Anyelo Tejada, Jaime Gustavo Aguilar Mota, Diego Romero Ruiz, Ever Pérez Galindo, Alexis Jarvio Jácome.

Al laboratorio de Bromatología, por el apoyo de la doctora Deneb Camacho M., que contribuyo en la realización de algunas pruebas y permitió el uso de algunos aparatos.

Al Dr. Noé Orlando Juárez López, del Departamento de Genética y Bioestadística de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, por el apoyo en el análisis estadístico.

A mis compañeros del área de Medicina Preventiva, por su apoyo y comprensión en este proceso, a Norma y Saraí además de su apoyo también por brindarme su amistad y orientación.

Al laboratorio Animal Care Productos, por el soporte otorgado para la realización de este trabajo.

Agradecimiento al DGAP-UNAM por el apoyo financiero al proyecto clave IT201417 y PIAPI 1820.

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de la suplementación de selenio y vitamina B<sub>12</sub>, en la carne de novillos en engorda intensiva. Los bovinos fueron finalizados en Veracruz y sacrificados al alcanzar 450 ± 20 kg de peso. Conforme a las prácticas realizadas en la unidad de producción se realizó la suplementación de selenio parenteral en cuatro oportunidades 0 (recepción), 32, 106 y 169 días desde la recepción hasta la finalización. Se formaron 3 grupos experimentales, un control, otro suplementado con vitamina B<sub>12</sub> y otro con selenio más vitamina B<sub>12</sub>. De todos los grupos se obtuvieron muestras de sangre, donde se midieron niveles de selenio, glutatión reducido (GSH), ácido tiobarbitúrico (TBARS) y glutatión peroxidasa (GSH-Px), durante el proceso de la engorda. Cuando se sacrificaron se tomaron muestras del músculo *Longgisimus thorasi* de los animales de los tres grupos, a los cuales se les evaluó pH, color, fuerza al corte, capacidad de retención de agua (CRA), actividad de agua (Aw) y humedad, en diferentes períodos **M**<sub>0</sub> (refrigeración), **M**<sub>1</sub> (1 mes de congelación), **M**<sub>2</sub> (2 meses en congelación) y **M**<sub>3</sub> (3 meses de congelación). La carne del grupo Se+ Vit. B<sub>12</sub>, mostró mejores resultados en color, capacidad de retención de agua y pH (P<0.05).

**Palabras clave:** calidad de la carne, selenio, estabilidad oxidativa.

## Índice

<b>I. Introducción</b> .....	1
<b>II. Antecedentes</b> .....	2
II.I Selenio (Se) .....	2
II.II Glutación total (GSH) .....	3
II.III Glutación peroxidasa (GPX) .....	4
II.IV Vitamina B <sub>12</sub> .....	6
II.V Maduración y calidad de la carne .....	7
II.VI Carne y selenio.....	12
II.VII Conservación en frío.....	12
<b>III. Justificación</b> .....	16
<b>IV. Hipótesis</b> .....	17
<b>V. Objetivo general</b> .....	17
<b>V.I Objetivos particulares</b> .....	17
<b>VI. Metodología</b> .....	18
VI.I Animales y tratamientos .....	18
VI.II Muestras de Alimento .....	21
VI.III Muestras de sangre y plasma .....	21
VI.IV Obtención de muestras de plasma .....	21
VI.V Cuantificación de selenio total en sangre .....	22
VI.VI Medición de Glutación total (GSH) en plasma .....	22
VI.VII Determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico (TBARS) en plasma.....	23
VI.VIII Determinación de la actividad de la glutación peroxidasa (GPX) en plasma ...	23
VI.IX Muestras de Carne .....	23
VI.IX.I Procesamiento de muestras de carne .....	24
VI.IX.II Cuantificación de selenio (Se) total en carne .....	25
VI.IX.III Cuantificación de glutación total, sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico y glutación peroxidasa en muestras de carne (GSH, TBARS y GSH-PX).....	25
VI.IX.IV Evaluación de parámetros de calidad en la carne de los grupos experimentales. ....	25
VI.IX.IV.I Medición de pH en carne.....	25
VI.IX.IV.II Medición de color en carne.....	26
VI.IX.IV.III Determinación de fuerza de corte en carne .....	26



VI.IX.IV.IV Determinación de la capacidad de retención de agua (CRA) en carne .....	27
VI.IX.IV.V Determinación de humedad en carne.....	27
<b>VII. Análisis Estadístico .....</b>	<b>28</b>
<b>VIII. Resultados Y Discusión .....</b>	<b>29</b>
<b>IX. Conclusiones.....</b>	<b>46</b>
<b>X. Bibliografía.....</b>	<b>47</b>
<b>XI. Anexos .....</b>	<b>53</b>

## Tabla de cuadros

<b>Cuadro 1. Contenido de selenio y actividad de glutatión peroxidasa en sangre completa de ovinos y bovinos (tomada de: Stowe y Herdt, 1992).....</b>	<b>5</b>
<b>Cuadro 2. Umbrales de tolerancia <math>\Delta E^*</math> .....</b>	<b>26</b>
<b>Cuadro 3. Resultados del análisis estadístico del selenio, glutatión reducido, glutatión peroxidasa y TBARS, en sangre y/o plasma de los novillos finalizados en estabulación .....</b>	<b>29</b>
<b>Cuadro 4. Resultados del análisis estadístico de los peso de los novillos finalizados en estabulación.....</b>	<b>32</b>
<b>Cuadro 5. Pesos de las canales de los bovinos experimentales .....</b>	<b>33</b>
<b>Cuadro 6. Resultados del análisis estadístico del selenio, glutatión reducido, glutatión peroxidasa y TBARS, en carne de los novillos .....</b>	<b>34</b>
<b>Cuadro 7. Resultados del análisis estadístico de los parámetros de calidad en carne de los novillos .....</b>	<b>37</b>
<b>Cuadro 8. pH en carne de los bovinos de los grupos experimentales:control, vitamina B<sub>12</sub> y selenio + vitamina B<sub>12</sub> durante el almacenamiento. ....</b>	<b>38</b>
<b>Cuadro 9. Parámetro L* en carne de los bovinos de cada grupos experimental control, vitamina B<sub>12</sub> y selenio + vitamina B<sub>12</sub>, durante el almacenamiento. ....</b>	<b>40</b>
<b>Cuadro 10. Delta E en carne de los bovinos de cada grupos experimental control, vitamina B<sub>12</sub> y selenio + vitamina B<sub>12</sub>, durante la congelación. ....</b>	<b>41</b>
<b>Cuadro 11. Porcentaje Capacidad de Retención de Agua (% CRA) en carne de los bovinos de los grupos experimental control, vitamina B<sub>12</sub> y selenio + vitamina B<sub>12</sub>, durante el tiempo congelación. ....</b>	<b>43</b>

## Lista de figuras

<b>Figura 1. Estructura de la vitamina B<sub>12</sub> caracterizada por anillos tetrapirrólicos que protegen un átomo de cobalto (tomado de: Viglierchio, 2000).</b> .....	6
<b>Figura 2. Experimental: Etapa 1</b> .....	19
<b>Figura 3. Experimental: Etapa 2</b> .....	20
<b>Figura 4. Contenido promedio de selenio de la sangre completa de los bovinos, de los tres grupos en el tiempo de estabulación.</b> .....	30
<b>Figura 5. Cuantificación promedio de glutatión reducido en plasma de los bovinos, de los tres grupos en el tiempo de estabulación.</b> .....	31
<b>Figura 6. Pesos promedio de los bovinos de los tres grupos en el tiempo de estabulación.</b> .....	33
<b>Figura 7. Contenido de glutatión en carne de los bovinos de los tres grupos durante el almacenamiento. M<sub>0</sub>: refrigeración</b> .....	35
<b>Figura 8. Contenido de glutatión peroxidasa en carne de los bovinos de los tres grupos durante el almacenamiento. M<sub>0</sub>: refrigeración, M<sub>1</sub>: un mes de congelación, M<sub>2</sub>: dos meses de congelación, M<sub>3</sub>: tres meses de congelación.</b> .....	36

# I. Introducción

La maduración del músculo a carne y su almacenamiento, ya sea en refrigeración o congelación, son procesos fundamentales para definir su terneza, jugosidad, sabor y color para que se mantenga atractiva para el consumidor (Mamani *et al.*, 2011). Durante el almacenamiento, la calidad de la carne se deteriora y se pueden propiciar efectos indeseables en sus características organolépticas, derivadas de la oxidación de proteínas y fosfolípidos de las membranas celulares y mitocondriales; lo que ocasiona daño y pérdida de la estructura, incluida la regulación de líquidos de las células musculares (Ponce *et al.*, 2013). Las enzimas antioxidantes dependientes de selenio (Se) protegen a la célula; una de ellas, la glutatión peroxidasa (GPX) actúa contra los radicales libres oxidantes que son producto del propio proceso metabólico de maduración (Marí *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2010).

El selenio es parte estructural de la GPX y de cerca de treinta enzimas más, todas ellas relacionadas con procesos óxido-reductivos (Rotruck *et al.*, 1973; Salinas, 2010). El selenio en la carne es una de las fuentes de mayor biodisponibilidad para los humanos y actualmente se jerarquiza su relevancia en la salud humana, en particular para la adecuada función tiroidea (Shi y Spallholz, 1994; Ho *et al.*, 1997; Cabrera *et al.*, 2010). Por otra parte, la vitamina B12 está relacionada con el adecuado metabolismo del individuo, su deficiencia causa desde cansancio y debilidad hasta problemas neurológicos. En este trabajo se realizó la suplementación parenteral de selenio y vitamina B<sub>12</sub> para cubrir los requerimientos de novillos en finalización, mejorar su disponibilidad y mantener los parámetros de calidad de su carne por mayor tiempo y así prolongar su vida de anaquel.

## II. Antecedentes

### II.1 Selenio (Se)

El selenio (Se) ha sido reconocido como oligoelemento esencial en el mantenimiento de las funciones fisiológicas de los humanos debe ser aportado en la dieta en cantidades de 70 µg/día (Brown y Arthur, 2001; Arthur *et al.*, 2003; Rayman, 2002). Los efectos beneficiosos del Se están relacionados con el contenido de selenoproteínas y enzimas dependientes de selenio en el organismo (Broome *et al.*, 2004). La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2003), Beckett y Arthur (2005) y Abdelghany y Tórtora (2010) señalan que en la alimentación humana las principales fuentes de este mineral son el huevo y las carnes rojas, en especial la del cerdo. Cuando la producción animal ocurre en condiciones de bajo aporte del elemento su carencia puede llegar a convertirse en un problema de salud pública.

El selenio es indispensable en la salud humana y animal, es necesario para la función del sistema inmune; actúa en la prevención de algunas formas de cáncer, ayuda a la salud cardiovascular, la calidad del músculo esquelético y a la regulación de la tiroides (Köhrle *et al.*, 2000). Es importante en la reproducción, la protección del DNA y en la prevención del daño causado por radicales libres. Este mineral recibió originalmente atención en la alimentación animal, por su relación con la Distrofia Muscular Nutricional (enfermedad del músculo blanco), donde los animales pierden drásticamente el tono muscular y les resulta difícil ponerse de pie (Abdelghany y Tórtora, 2010).

Shi y Spallholz (1994) y Ho *et al.* (1997), mencionan que el selenio se encuentra presente en muchos alimentos; su cantidad en los vegetales depende de la concentración del selenio en el suelo donde son cultivados. La cantidad del elemento en productos de origen animal depende del su contenido en los alimentos que los animales consumen. El selenio de origen animal es el de mayor disponibilidad para los humanos.

La digestibilidad y la absorción de este mineral en ovejas es de alrededor del 19 % (Ammerman y Millar, 1975) y en vacas del 11 % (Koenig *et al.*, 1991). Su absorción ocurre en el duodeno. En sangre se reduce a selenito, uniéndose a las proteínas del plasma es transportado al hígado y al bazo, donde se reduce a selenio elemental (Juniper *et al.*, 2008).

En rumiantes, la digestibilidad del elemento es baja lo que se atribuye a que el selenio se transforma en el rumen a formas poco asimilables Whanger (2002) encontró que la microbiota ruminal de ovejas adultas tuvo una concentración promedio de selenio 46 veces mayor, que la de la dieta que estaban consumiendo; y observaron que el selenio microbiano, debería de ser de alta digestibilidad para el rumiante, como selenometionina; sin embargo, la selenometionina no es utilizada eficientemente por las células.

Los suplementos con selenio se pueden formular a partir de componentes orgánicos como la selenometionina, con el inconveniente que son costosos. La otra alternativa es usar fuentes inorgánicas que se pueden administrar parenteralmente (inyecciones subcutáneas), por vía oral directa (sales, pellets y cápsulas) y vía oral indirecta (fertilización de forrajes). La administración parenteral es el mejor método para restaurar las concentraciones del selenio cuando es necesario corregir deficiencias severas o agudas. Por la vía parenteral se conoce la cantidad introducida al animal. En rumiantes se manejan dosis en forma de selenato de sodio de 0.05, 0.10, 0.15 mg de Se/kg peso vivo (PV). La mayoría de los preparados inyectables comerciales de Se son elaborados con selenito de sodio, que son recomendados a dosis de 0.05 - 0.1 mg selenio/kg PV (Ramírez, 2008).

Algunos minerales como azufre, arsénico, cadmio, cobalto, cobre, estaño, hierro, mercurio, plata, plomo, telurio y zinc en el suelo y en la dieta pueden interferir en la absorción del selenio en plantas y/o animales, lo que induce signos compatibles con la deficiencia de selenio (Van Vleet, 1982). El calcio de la dieta también interfiere en la absorción, concentraciones menores a 0.6 o mayores a 0.8 % en materia seca, disminuye la absorción del selenio hasta un 20 % (Gerloff, 1992).

## II.II Glutación total (GSH)

El glutatión es un tripéptido de gamma-glutamil-cisteinilglicina, constituye el tiol celular no proteínico más abundante y ampliamente distribuido en los tejidos animales (Martinez, *et al.*, 2006). Está presente en las células en elevadas concentraciones de 5 a 10 mM, principalmente en su forma reducida (GSH). Gran parte de sus funciones se deben a la presencia del grupo tiol reducido que le confiere la cisteína y promueve su estabilidad intracelular. El glutatión puede actuar en reacciones enzimáticas, como antioxidante, como sustrato de la glutatión peroxidasa o en reacciones no enzimáticas, protegiendo la oxidación

de grupos –SH de las proteínas. Además reacciona con agentes oxidantes como el O<sub>2</sub>, OH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y peróxidos lipídicos; incluso actúa en la regeneración de otros antioxidantes como el alfa-tocoferol o el ácido ascórbico (San y Martin, 2009).

### II.III Glutación peroxidasa (GPX)

Las membranas celulares, se componen de dobles capas fosfolipídicas ricas en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) que determinan su elasticidad y fluidez. La peroxidación de los PUFA implica la destrucción de sus dobles enlaces y la pérdida de elasticidad de la membrana (Luna *et al.*, 1997); una de las moléculas que se forman en este proceso son los hidroperóxidos.

La glutación peroxidasa (GPX) en sus distintas isoformas cataliza la reducción de los hidroperóxidos utilizando glutación reducido. Esta actividad es necesaria para neutralizar los radicales libres (ROS) producidos en la respiración y el metabolismo celular; para evitar el daño oxidativo a las membranas celulares (Combs y Combs, 1986). Sin la eliminación de los hidroperóxidos, las células musculares, pancreáticas, hepáticas y los glóbulos rojos de la sangre serían destruidos con rapidez.

Esta enzima dependiente del selenio desempeña un papel fundamental en los procesos de óxido-reducción intracelulares, ya que cataliza las reacciones que ayudan a anular los efectos oxidantes del hidroperóxido (agua oxigenada) y peróxidos de ácidos grasos (hidroperóxidos orgánicos) que se generan en el organismo. El hecho de que exista correlación, entre selenio sanguíneo y GSH-Px (Stevens *et al.*, 1985; Wheatley y Beck, 1988; Hamliri *et al.*, 1990) y que su cuantificación en sangre sea rápida y sencilla, ha permitido que esta enzima se considere, como una medida indirecta y la más importante, en el diagnóstico de procesos carenciales de selenio (Wheatley y Beck, 1988; Mackintosh *et al.*, 1989).

La GSH-Px tiene un peso molecular de 80 000 daltons, con 4 subunidades idénticas y cada una de ellas contiene un residuo de seleno cisteína (SeCys) (4 átomos de Se por mol), que es esencial para su actividad enzimática; SeCys es un análogo de la cisteína que contiene azufre (S). La GSH-Px cataliza la reducción de peróxidos a alcoholes actúa principalmente en mitocondrias catalizando dos tipos de reacciones: 1) la reacción de agua oxigenada a radical hidroperóxido en presencia de glutación (GSH) y selenio y 2) la reducción del

hidroperóxido a compuestos más estables también en presencia de GSH. La GPx comparte su sustrato (hidroperóxidos) con la catalasa y puede reaccionar de manera efectiva con lípidos y otros hidroperóxidos orgánicos. Además mantiene el potencial de óxido-reducción de la célula, ya que mantiene en estado reducido a los grupos tiol de las proteínas. Este interfiere en dos tipos de reacciones: la interacción enzimática con los radicales libres y la otra forma es proporcionando un electrón para la reducción de peróxidos en la reacción catalizada por la GPx (Martínez *et. al.*, 2006).

La actividad de la glutatión peroxidasa en neutrófilos de bovinos que recibieron una dieta con 0.01 g Se/kg de materia seca (MS) fue menor ( $P < 0.05$ ) que en neutrófilos de bovinos alimentados con un aporte adecuado en la ración (0.3 g/kg MS). Los bovinos pueden necesitar desde días a semanas de suplementación oral para restituir la función normal de sus neutrófilos (Taylor *et al.*, 2003). En el cuadro 1 se presenta el contenido de selenio y de la actividad de GPX en la sangre de ovinos y bovinos y las recomendaciones de suplementación.

**Cuadro 1. Contenido de selenio y actividad de glutatión peroxidasa en sangre completa de ovinos y bovinos (tomada de: Stowe y Herdt, 1992).**

Se (ppm)	Nivel de (Se)	GSH-PX (mv/g hb)	Interpretación
0.01 - 0.04	Deficiente	<15	Suplementación necesaria
0.05 - 0.075	Bajo	15 - 20	Suplementación benéfica
0.076 - 0.10	Deficiencia moderada	20 - 30	Suplementación recomendada
>0.10	Adecuada	>30	Suplementación no necesaria

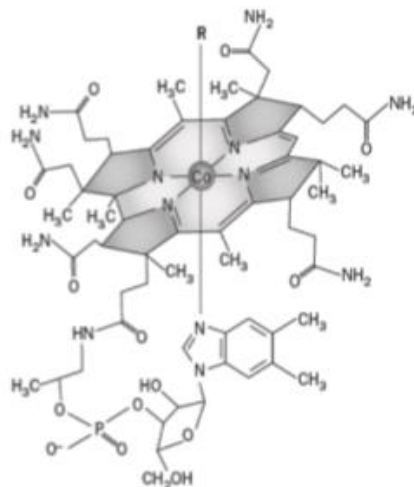
La actividad de la glutatión peroxidasa puede diferir entre especies, tipos musculares y entre animales de una misma especie. Las variaciones en las actividades de estas enzimas entre distintos tipos genéticos pueden causar diferencias en la estabilidad oxidativa de la carne (Hernández *et al.*, 2004). La familia de la glutatión peroxidasa son enzimas relativamente estables en la carne durante el almacenamiento en refrigeración, por lo tanto, pueden



proteger contra los radicales libres durante el almacenamiento post-mortem (Gatellier *et al.*, 2004).

#### II.IV Vitamina B<sub>12</sub>

La vitamina B<sub>12</sub> o cobalamina es una vitamina hidrosoluble perteneciente al grupo B, miembro de una familia conocida como corrinoideas; estos compuestos contienen un núcleo de corrina formado por una estructura anular tetrapirrólica y tiene cobalto (Co). La vitamina B<sub>12</sub> también llamada factor antianemia perniciosa, contiene un 4 % de Co (Underwood, 1983). Este metal se considera como traza porque es requerido en cantidades cercanas a los 100 mg/kg MS (Miller *et. al.*, 1991). Las formas activas de esta vitamina son la metilcobalamina, adenosilcobalamina e hidroxicobalamina. Las cobalaminas tienen gran afinidad para unirse a las glucoproteínas.



**Figura 1. Estructura de la vitamina B<sub>12</sub> caracterizada por anillos tetrapirrólicos que protegen un átomo de cobalto (tomado de: Viglierchio, 2014).**

La vitamina B<sub>12</sub> se comporta como una coenzima y su papel fundamental reside en la transferencia de grupos de un carbono. Los microorganismos, bacterias y levaduras, pueden sintetizar la vitamina B<sub>12</sub> por lo que, los casos de deficiencia en rumiantes es poco frecuente, ya que la flora ruminal aporta las cantidades necesarias para satisfacer los requerimientos necesarios del animal (Underwood, 1983).

El cobalto en la mayoría de los tejidos se encuentra en una concentración menor a 0.2 mg/kg. La acumulación no ocurre en ningún órgano o tejido en particular, aunque el hígado, el corazón y los huesos contienen la mayor concentración. La absorción de la vitamina B<sub>12</sub>

depende de una glucoproteína que es el factor intrínseco sintetizado por las células parietales de la mucosa gástrica y de la mucosa sana del ileon para que ligar y transportar el complejo B<sub>12</sub> – factor intrínseco.

La ocurrencia de toxicosis por cobalto es menos común que la deficiencia; los niveles tóxicos son unas 3000 veces mayores que los requerimientos en la mayoría de las especies. Los signos de toxicosis incluyen policitemia en animales monogástricos y reducción de la absorción de nutrimentos y del peso corporal, emaciación, anemia, debilidad, incremento de la hemoglobina, empaquetamiento de células rojas y en rumiantes incluso elevación del nivel de Co en hígado. Las medidas para aliviar la toxicosis del Co incluyen incrementar la proteína dietaría o administrar metionina, selenio y vitamina E (Miller *et al.*, 1991).

## II.V Maduración y calidad de la carne

El *Codex Alimentarius* (2005) define la carne como: “todas las partes de un animal que han sido dictaminadas como inocuas y aptas para el consumo humano o se destinan para este fin”; en tanto la definición en la norma oficial mexicana NOM-009-ZOO-1994, proceso sanitario de la carne, aparece como: “estructuras compuestas por fibra muscular estriada, acompañada o no de tejido conjuntivo elástico, grasa, fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos de las especies animales autorizadas para el consumo humano”.

La calidad de la carne se afecta por factores como la estructura muscular, su composición química, el estrés previo al sacrificio, los cambios musculares *post mortem* (pm), la manipulación, tratamiento y almacenamiento del producto y los posibles efectos microbiológicos por contaminación (Lee *et al.*, 2010). A medida que el músculo se convierte en carne, ocurren muchos cambios, incluyendo el agotamiento gradual del ATP disponible, el cambio del metabolismo aeróbico al anaeróbico, que favorece la producción de ácido láctico disminuyendo el pH del tejido hasta 5.4 - 5.8, aumenta la fuerza iónica, por la falta de ATP para mantener la homeóstasis iónica celular y por la incapacidad creciente de la célula para mantener condiciones reductoras (Lonergan *et al.*, 2010). Las propiedades tecnológicas de la carne como el pH, la capacidad de retención de agua, la textura, el color y su estabilidad permiten evaluar su aptitud y comportamiento en las etapas de conservación, comercialización, industrialización y preparación para el consumo (Mamani *et al.* 2011).

De acuerdo con Lawrie y Ledward (2006) y Troy y Kerry (2010), los parámetros más importantes en la evaluación de la calidad de la carne son: apariencia (color), terneza, menor goteo (capacidad de retención de agua (Water Holding Capacity), alto marmoleo, la grasa visible moderada, olor, jugosidad y sabor. Por el contrario, la decoloración, la textura suave, el abundante goteo, el menor marmoleo, grasa visible excesiva y el olor anormal, son indicadores de mala calidad.

**El color** es uno de los rasgos de calidad más importantes de la carne fresca, debe ser atractivo y uniforme a lo largo de todo el corte; determina su apariencia, junto con la cantidad y distribución de la grasa, el goteo en la superficie, exudados en la bandeja y la textura (Becker, 2000; Glitsh, 2000). El color está determinado por el contenido y el grado de oxidación del hierro del grupo hem de la mioglobina (Mb) y de la hemoglobina (Hb), (Ouali *et al.*, 2006; Joo *et al.*, 2013) y por la adhesión de compuestos (oxígeno, agua y óxido nítrico) a esas moléculas (Meléndez *et al.*, 2017). La Mb determina un atractivo color rojo claro y un color rojo oscuro en ausencia de oxígeno; la oxidación del hierro del grupo hem, de ferroso ( $Fe^{2+}$ ) a férrico ( $Fe^{3+}$ ) genera el color marrón que es característico de mala calidad y se asocia a la liberación de radicales de oxígeno (Ouali *et al.*, 2006). La concentración de oxígeno residual y la formación de radicales oxidantes se considera la principal causada de la alteración del color de la carne y contribuyen a la decoloración y los cambios durante el procesamiento y almacenamiento del producto. La estabilidad del color depende de la velocidad de oxidación de la Mb (Faustman *et al.*, 2010); la tasa de decoloración es específica de cada músculo. La pérdida por goteo y exudados depende de la capacidad de retención de agua o "CRA" (WHC de sus siglas en inglés) de la carne y está estrechamente relacionada con el color, debido a su relación con la pérdida de Mb y reflectancia en la superficie (Joo *et al.*, 1995).

**La Capacidad de Retención de Agua (CRA o WHC)** o expresión de jugosidad determina la pérdida de peso por liberación de agua y solutos, que se produce en toda la cadena de distribución y transformación de la carne, afectando especialmente en términos de jugosidad y palatabilidad (Zhang *et al.*, 2005), se mide por el método de compresión, que es mejor que el método de centrifugación a baja velocidad o la técnica de ultracentrifugación. El método de compresión es también denominado "método de presión sobre papel filtro" (Karmas y Turk, 1976), se basa en la cuantificación del agua expulsada por una muestra de carne al aplicarle una presión elevada (sea por peso o por ajuste con

tornillos) entre dos placas de vidrio o metacrilato. Es un método muy utilizado por su rapidez, fiabilidad, sencillez y reproducibilidad, detecta pequeñas diferencias en la CRA (Tsai y Ockerman, 1981), es adecuado sobre todo para mediciones en carne fresca, así como para cuantificar las pérdidas durante el almacenamiento en refrigeración; sin embargo, no es útil en muestras que contengan gran cantidad de grasa o agua.

Estudios histopatológicos revelan que en el tejido linfoide de los animales deficientes en selenio, hubo aumento de la vacualización celular, siendo esta pérdida de integridad de la membrana la responsable de su alteración funcional de permeabilidad. En el ganado bovino este proceso afecta sobre todo a los individuos de aptitud cárnica que presentan un crecimiento más rápido con mayor demanda de selenio y un mayor desarrollo de las fibras musculares (Abdelghany y Tórtora, 2010). La CRA puede alterar otras propiedades físicas, incluida la textura, firmeza y propiedades alimenticias de la carne cocida. La pérdida por goteo se origina de los espacios entre los haces de fibras musculares y el perimio y de los espacios entre las fibras musculares y el endomisio. Estos espacios aparecen durante el *rigor mortis*, cuando el músculo se convierte en carne. La exudación por goteo y la textura suave resultan de la combinación de la disminución del pH y las altas temperaturas en el músculo *post-mortem* (Joo *et al.*, 2013), esto se debe a que el punto isoeléctrico de las proteínas cárnicas se encuentra en torno a 5 – 5.5, cercano al pH de la carne (Zhan *et al.*, 2007; Ruíz, 2015); en este rango de pH, las fibras musculares se “acortan” y pierden una gran parte de su capacidad de retención de agua (Warner *et al.*, 1997; Monsón *et al.*, 2005).

La **textura** es un parámetro complejo compuesta de varias propiedades entre ellas están: la fuerza de corte y terneza. La **fuerza de corte** se define como la propiedad de la textura que se manifiesta por la resistencia a la deformación en la aplicación de una fuerza al morder un alimento. Para evaluar esta propiedad mecánica, una muestra se corta con una cuchilla, a través del comportamiento en cizalla, con ciclo de compresión uniaxial la evaluación se realiza a partir de una curva de fuerza-deformación. La **terneza** puede ser definida como la facilidad con que la carne se mastica; es influida por la edad, sexo, peso, raza del animal y por el estrés *ante-mortem*, que modifica los procesos de acidificación de la carne (Muchenje *et al.*, 2009). Además, de depender del contenido de colágeno, la estabilidad térmica y la estructura de las miofibrillas del músculo (Monsón *et al.*, 2005). Sin embargo durante el almacenamiento, el producto se vuelve más tierno debido a los cambios proteolíticos y de pH que modifican la arquitectura de las miofibrillas; son varias las

proteínas clave que se modifican en la maduración *post-mortem* (Lonergan *et al.*, 2010). Las fibras musculares ocupan del 75 al 90 % del volumen muscular, su morfología es un factor determinante de la masa (Lee *et al.*, 2010) muscular. La miosina y la actina son las dos proteínas más abundantes en las miofibrillas del músculo esquelético y deben tenerse en cuenta cuando se trata de entender el mecanismo de “ablandamiento” de la carne. La miosina es la proteína primaria en la miofibrilla y por lo tanto la que más contribuye a la estructura y resistencia al corte en la carne. Incluso un pequeño cambio en la relación de actina-miosina, con la formación de puentes cruzados, podría afectar el acceso de las proteasas al sustrato. La actina es la segunda proteína muscular más abundante (Weaver *et al.*, 2007).

En el metabolismo *post-mortem* hay una disminución del pH en el tejido muscular del animal desde el valor fisiológico de aproximadamente 7.4, hasta un valor final de entre 5.5 y 5.9 en la carne roja y en la de ave, respectivamente. Las consecuencias de la reducción del pH son beneficiosas; pero, no deseables para el valor del producto (Monsón *et al.*, 2005). El pH es un parámetro importante relacionado con la susceptibilidad de la carne a su deterioro; se usa para decidir el proceso al que se va a destinar la carne (Wirth, 1987). La influencia del pH sobre la calidad de la carne se debe en gran parte a su relación con la estabilidad de las proteínas musculares (Ruíz *et al.*, 2004). El pH ácido de la carne retrasa el crecimiento microbiano, por lo tanto alarga su vida útil en comparación con un producto con pH neutro. Sin embargo, a medida que se alcanza un pH ácido, el tejido experimenta pérdida de agua y de peso. El punto isoeléctrico de la miosina es de aproximadamente 5.0, en este pH, la suma de las cargas positivas y negativas es igual a 0, las interacciones proteína-proteína son máximas y las interacciones proteína-agua son mínimas. El punto isoeléctrico de las proteínas cárnicas se encuentra en torno a 5 – 5.5, cercano al pH de la carne (Zhan *et al.*, 2007; Ruíz, 2015); en este rango de pH, las fibras musculares se “acortan” y pierden una gran parte de su capacidad de retención de agua (Warner *et al.*, 1997; Monsón *et al.*, 2005).

Cuando la velocidad de la glucólisis y el descenso del pH *post-mortem* son rápidos o excesivos, ocurre el fenómeno de “carne pálida, suave y exudativa” o carne PSE (por sus siglas en inglés: *pale, soft, exudative*), común en cerdo, pavo y pollo. Por el contrario, en el ganado bovino y porcino, el estrés por tiempo prolongado, provoca agotamiento de las reservas de glucógeno y como resultado, la carne mantiene un pH alto y con apariencia

oscura, lo que da lugar a la carne “oscura, firme y seca” o carne DFD (del inglés, *dark, firm, dry*). El pH final de la carne de  $\geq 5.9$  medido a las 24 o 48 h *post-mortem* es un buen indicador del corte oscuro de bovinos (Silva *et al.*, 2005).

El análisis de **humedad** permite conocer el contenido de agua en una muestra, se basa en la pérdida del agua por efecto del calentamiento en estufa de aire forzado. La carne contiene entre un 70 a 75 % de agua, aproximadamente; el 70 % es agua libre que se encuentra en los espacios entre las células (fibras) musculares (Nielsen, 2003).

El componente más variable de la carne en cuanto a su composición, es la **grasa**. Esta variación es función de múltiples factores que incluyen: la especie animal, la región anatómica, la fuente y el sistema de alimentación, la edad y su genética, además se reflejan en su composición, punto de fusión, color, susceptibilidad a la oxidación, presencia de agentes oxidantes y el consecuente desarrollo de sabores rancios. La oxidación lipídica es un factor de deterioro de la calidad de la carne, provocando cambios en el color, sabor, textura y valor nutritivo (Ponce *et. al*, 2013).

La estabilidad oxidativa de la carne depende del balance e interacción entre los agentes pro- y anti-oxidantes presentes en el tejido muscular, así como de la composición y la disponibilidad de sustratos susceptibles de oxidarse (Descalzo y Sancho, 2008). La oxidación lipídica es un factor de deterioro de la calidad de la carne, provocando cambios en el color, sabor, textura y valor nutritivo (Ponce *et. al*, 2013). La peroxidación lipídica es un proceso complejo, en el cual los ácidos grasos insaturados de los fosfolípidos de las membranas celulares son atacados por radicales que provocan la pérdida de un hidrógeno, formándose hidroperóxidos que son de difícil cuantificación porque se degradan rápidamente. Al final de la cadena de formación de radicales libres se forman lípidos peróxidos. La lipoperoxidación constituye el patrón de oro cuando se trata de probar el efecto de los radicales libres en algún tipo de daño celular y existen varias formas de cuantificarla. Una de ellas es a través de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS): la prueba se basa en la reacción del ácido con el malondialdehído (MDA), producto de la oxidación de los hidroperóxidos, formando un compuesto coloreado susceptible de ser medido directamente. Es un procedimiento sencillo, pero de baja sensibilidad, por lo que se recomienda utilizar procedimientos fluorométricos o cromatográficos para aumentarla (Visioli *et al.*, 1998).

## II.VI Carne y selenio

La carne y los productos cárnicos aportan nutrimentos para la salud humana, proporcionando todos los aminoácidos esenciales (lisina, treonina, metionina, fenilalanina, triptófano, leucina, isoleucina y valina), así como una buena cantidad de vitaminas, minerales y diversos nutrimentos esenciales para el crecimiento y el desarrollo (Cabrera *et al.*, 2010). El consumo de carne es una buena manera de satisfacer los requerimientos cualitativos y cuantitativos de minerales esenciales de alta biodisponibilidad, como en el caso del propio selenio (McAfee *et al.*, 2010) hierro, fósforo y zinc.

La suplementación con selenio en la dieta mejora la textura y el color de la carne de pollo (Edens, 1996) y de cerdo (Mahan y Parrett, 1996; Mahan *et al.*, 1999). Por el contrario, la suplementación con Se-metionina en la dieta de corderos ha fracasado, aunque, si aumentaron los niveles de Se en la carne (López *et al.*, 2012).

En el trabajo realizado por Cabrera *et al.* (2010) se demostró que la carne bovina, de animales Hereford y Braford, contiene cantidades importantes de micronutrientes, especialmente selenio, zinc y hierro, por lo que es una fuente importante de estos oligoelementos en la dieta humana. Este contenido de oligoelementos es un atributo nutricional para estas carnes para su valorización en el mercado.

## II.VII Conservación en frío

Por su alto contenido en agua y disponibilidad de proteínas, la carne es un alimento perecedero, es un sustrato ideal para una amplia variedad de microorganismos, por lo que debe enfriarse después del faenado. La reducción de la vida de anaquel y la pérdida de frescura incluyen el desarrollo de microorganismos, la oxidación y los procesos autolíticos enzimáticos. La velocidad con la que ocurren estos procesos depende de la carga microbiana, de la temperatura de almacén y de la exposición al oxígeno y a la luz (Ponce *et al.*, 2013).

La conservación por frío implica el almacenamiento de los alimentos a temperaturas de 0 a 6°C, esta condición no elimina los microorganismos, ni las reacciones enzimáticas, pero determina que avancen lentamente y permite guardar por 4 días e incluso un mes si la carne esta empacada al alto vacío, y 10 meses congelada a una temperatura de -18 °C, el

producto sin pérdida de calidad (Albertí *et al.*, 2005). Hay una compleja relación entre la refrigeración y la dureza de la carne, por la contracción del músculo en frío que se denomina “acortamiento por frío”. En el proceso de enfriamiento, el aire que circula dentro del refrigerador arrastra agua de los productos, produciendo una deshidratación superficial, que en el caso de la carne es conocida como quemadura por frío y determina oscurecimiento y endurecimiento. La vida de anaquel en carne almacenada a  $-1^{\circ}\text{C}$  con un empaque permeable al oxígeno, es de 3 semanas (Ponce *et al.*, 2013).

Después de la refrigeración, la congelación es el tratamiento que menos modificaciones produce en los alimentos. Una vez descongelados, los alimentos son casi idénticos a los productos crudos empleados como materia prima. La congelación consiste en someter a los alimentos a temperaturas por debajo de  $0^{\circ}\text{C}$ , de forma que parte del agua del alimento se convierte en hielo. Al mismo tiempo, como el agua se solidifica, se produce desecación, lo que contribuye de forma significativa a una mejor conservación (Umaña, 2010). La congelación generalmente mantiene la calidad de los productos; sin embargo, dicha calidad se ve influida por el proceso de congelación y las condiciones de almacenamiento. La velocidad y el tiempo de congelación son factores importantes que determinan la calidad final del producto congelado. La congelación a temperaturas inferiores a  $-10^{\circ}\text{C}$  es uno de los métodos más efectivos para conservar la carne limitando el crecimiento de los microorganismos; en tanto, las reacciones enzimáticas y no enzimáticas y las reacciones oxidativas están prácticamente detenidas. A temperaturas por debajo de los  $-18^{\circ}\text{C}$  el crecimiento microbiano se detiene, por la formación de cristales de hielo que modifican la disponibilidad de agua y se evitan las reacciones deteriorativas (Singh y Heldman, 2001), que participan en la pérdida de calidad (Rahman y Vélez, 2004;). Las características de calidad del producto están relacionadas con el tamaño de los cristales. El efecto principal de la congelación sobre la calidad, es el daño que ocasiona en las células el crecimiento de los cristales de hielo.



a) Cuando la velocidad de congelación es lenta, el líquido exterior a las células musculares se enfría más rápidamente que el intracelular; cuando el extracelular es super enfriado, alcanza una temperatura crítica; entonces, el agua se separa de los solutos y forma cristales de hielo dentro de la célula y en los espacios extracelulares, lo que deforma y rompe las paredes de las células que contactan *con los cristales*. La presión de vapor de los cristales de hielo extracelulares es inferior a la del interior de las células, *esto* provoca una deshidratación celular progresiva por ósmosis con engrosamiento de los cristales *de hielo* extracelulares y el aumento de los espacios *donde se encuentran*. A medida que avanza la cristalización, las sales extracelulares se concentran y crean un gradiente osmótico a través de la membrana celular, contribuyendo a la deshidratación celular. Las células deshidratadas y plasmolisadas disminuyen considerablemente su tamaño. Las *membranas* celulares se rompen por la acción mecánica de los cristales de hielo y del encogimiento excesivo de las células. El desplazamiento del agua y la ruptura de las membranas celulares alteran la textura y dan lugar a la aparición de exudados durante la descongelación.

Durante la descongelación, las células son incapaces de recuperar su forma y turgencia originales, el alimento se reblandece y el material celular se pierde por goteo. La expulsión de una parte del contenido celular puede provocar el contacto entre enzimas y sus sustratos, que en ocasiones se encuentran en compartimentos separados.

b) Con la congelación rápida, la cristalización se produce simultáneamente en los espacios extracelulares e intracelulares, el desplazamiento del agua es menor, produciendo un gran número de cristales pequeños y las consecuencias sobre el producto son menores en comparación con la congelación lenta (Umaña, 2010).

La temperatura habitual de almacenamiento en congelación es de -18 a -20 °C (Zhang *et al.*, 2005). Entre los cambios indeseables que se pueden producir en la carne congelada durante su almacenamiento, se incluyen la decoloración por oxidación de la hemoglobina y la mioglobina, el desarrollo de rancidez oxidativa de las grasas insaturadas y el endurecimiento debido a la desnaturalización y agregación de proteínas. Los cambios en las proteínas son de los principales efectos secundarios en la carne. La congelación y descongelación generan cambios que dependen de: la velocidad con que se congele y descongele, el tiempo de almacenamiento en congelación, las fluctuaciones de la temperatura del congelador durante el almacenamiento y las características de la atmósfera que rodeen a la carne congelada (Mancini y Hunt, 2005). Para prevenir la desnaturalización proteica, se pueden incorporar a la carne, antes de la congelación, crioprotectores (Silva *et al.*, 2005; Gómez *et al.*, 2007).

### III. Justificación

La deficiencia de selenio en rumiantes de México, se asocia a la baja concentración de selenio en los suelos volcánicos del país a lo que se agrega la menor eficiencia en su absorción en los rumiantes (López *et. al.*, 2012). El selenio es parte crítica en la función de más de 30 enzimas que participan en el metabolismo oxidativo, entre ellas la glutatión peroxidasa, que protege la integridad de las membranas celulares del daño oxidativo.

La suplementación con selenio en cerdos, pollos y peces, ha mejorado los parámetros de calidad de su carne: capacidad de retención de agua (CRA) y parámetros de textura. Estos parámetros deben conservarse en la refrigeración, congelación y descongelación de la carne. Estudios realizados recientemente en corderos, suplementando el mineral en la dieta, no tuvieron el efecto en la calidad de la carne demostrado en los monogástricos. En bovinos falta información sobre el efecto de la suplementación con selenio y la calidad de la carne. En este trabajo se estudió el efecto de la suplementación subcutánea con selenio + vitamina B<sub>12</sub> como vehículo, en bovinos en los parámetros de calidad de su carne dependientes de procesos oxidativos, como el color y en CRA (conservación de agua), características que afectan su vida de anaquel.

## IV. Hipótesis

La suplementación subcutánea de selenio y vitamina B<sub>12</sub> en novillos mejorará los parámetros de calidad de la carne dependientes de procesos oxidativos pH, color, fuerza de corte y retención de agua (CRA) en carne sometida a congelación.

## V. Objetivo general

- Evaluar el efecto de la aplicación subcutánea de selenio y vitamina B<sub>12</sub> en novillos de engorda, en los parámetros de calidad de la carne sometida a congelación-descongelación, en particular de aquellos dependientes directa o indirectamente de procesos oxidativos.

### V.I Objetivos particulares

- Determinar el efecto de la suplementación de Se y vitamina B<sub>12</sub> en novillos midiendo parámetros de calidad de su carne: pH, color, fuerza de corte y retención de agua (CRA).
- Determinar los niveles de Se en sangre y en tejido muscular de los animales suplementados y controles.
- Determinar el glutatión, la actividad de la glutatión peroxidasa y reacciones de oxidación lipídica por la técnica de TBARS, en la carne proveniente de novillos suplementados y no suplementados con Se,
- Evaluar la ganancia de peso en los grupos experimentales: control, vitamina B<sub>12</sub> y selenio + vitamina B<sub>12</sub> de los bovinos desde la recepción hasta la finalización.

## VI. Metodología

Se emplearon novillos de la unidad de producción pecuaria “Ganadería Addtul” ubicada en el Municipio Puente Nacional en el centro del Estado de Veracruz, en las coordenadas 19° 20" latitud norte y 96° 29" longitud oeste, a una altura de 100 metros sobre el nivel del mar. El clima es cálido, con una temperatura de 26.5° C; su precipitación pluvial media anual es de 979.3 milímetros.

### VI.I Animales y tratamientos

Se utilizaron 21 bovinos machos, cruce de *bos taurus* x *bos indicus* con un peso inicial de 200 ± 12 kg, clínicamente sanos. Se seleccionaron procurando un lote homogéneo en: condición corporal, peso, procedencia, edad y fenotipo racial.

Al llegar a la unidad de producción pecuaria (UPP), los animales fueron pesados inmediatamente al bajar del transporte.

Se ubicaron en el mismo corral con suficiente espacio de comederos y bebederos, se identificaron con aretes plásticos con numeración del 151 al 171, lo que facilitó su manejo dentro del corral y en los diferentes muestreos. El alimento que se ofreció durante la engorda se analizó para conocer la concentración de selenio en la dieta.

Los animales se mantuvieron en las condiciones de manejo y alimentación de la UPP, recibieron la misma dieta “*ad libitum*”. Los bovinos tuvieron ayuno de 8 h antes de pesarlos, este manejo también se ocupó para la aplicación de Selenio y tomar la muestra de sangre.

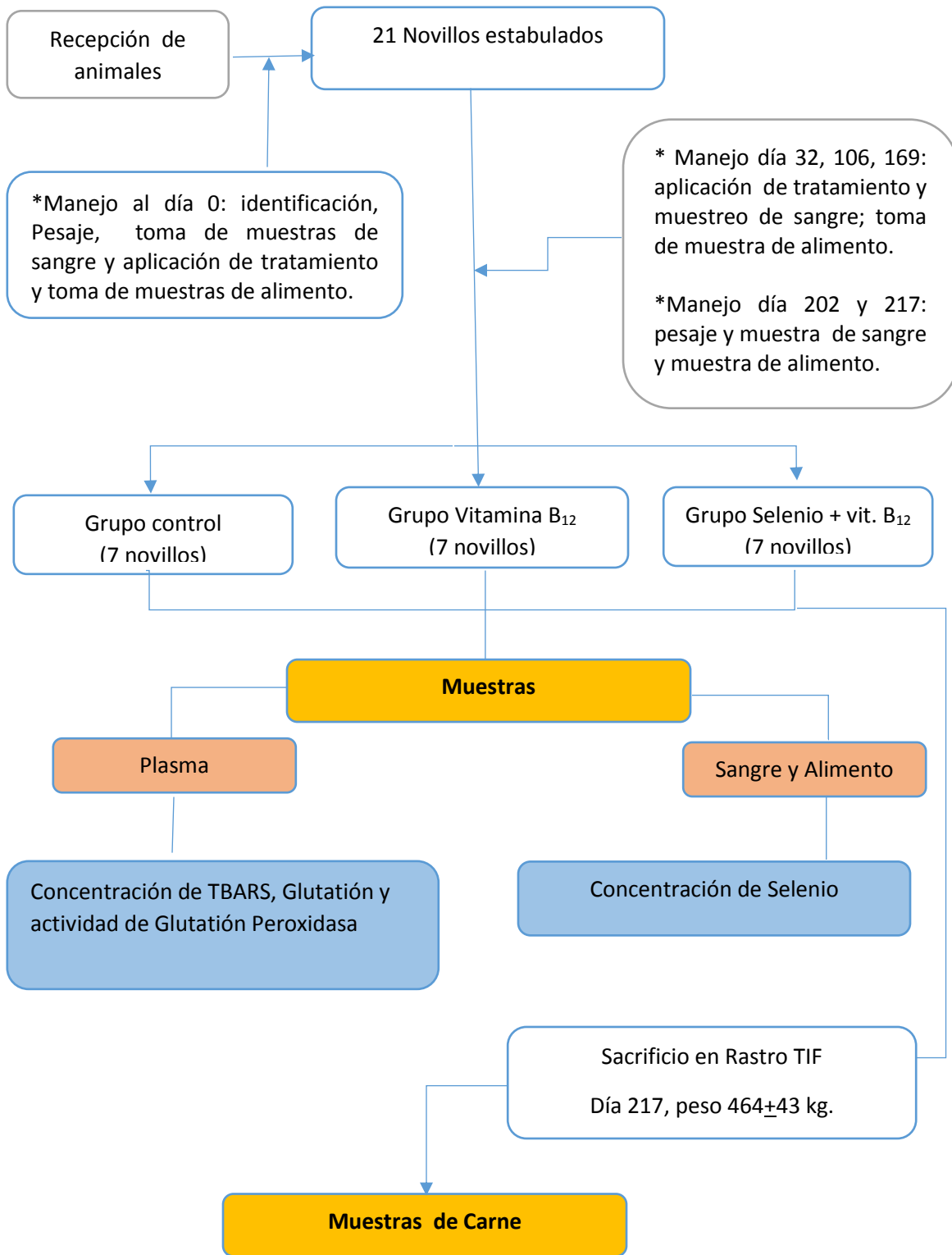
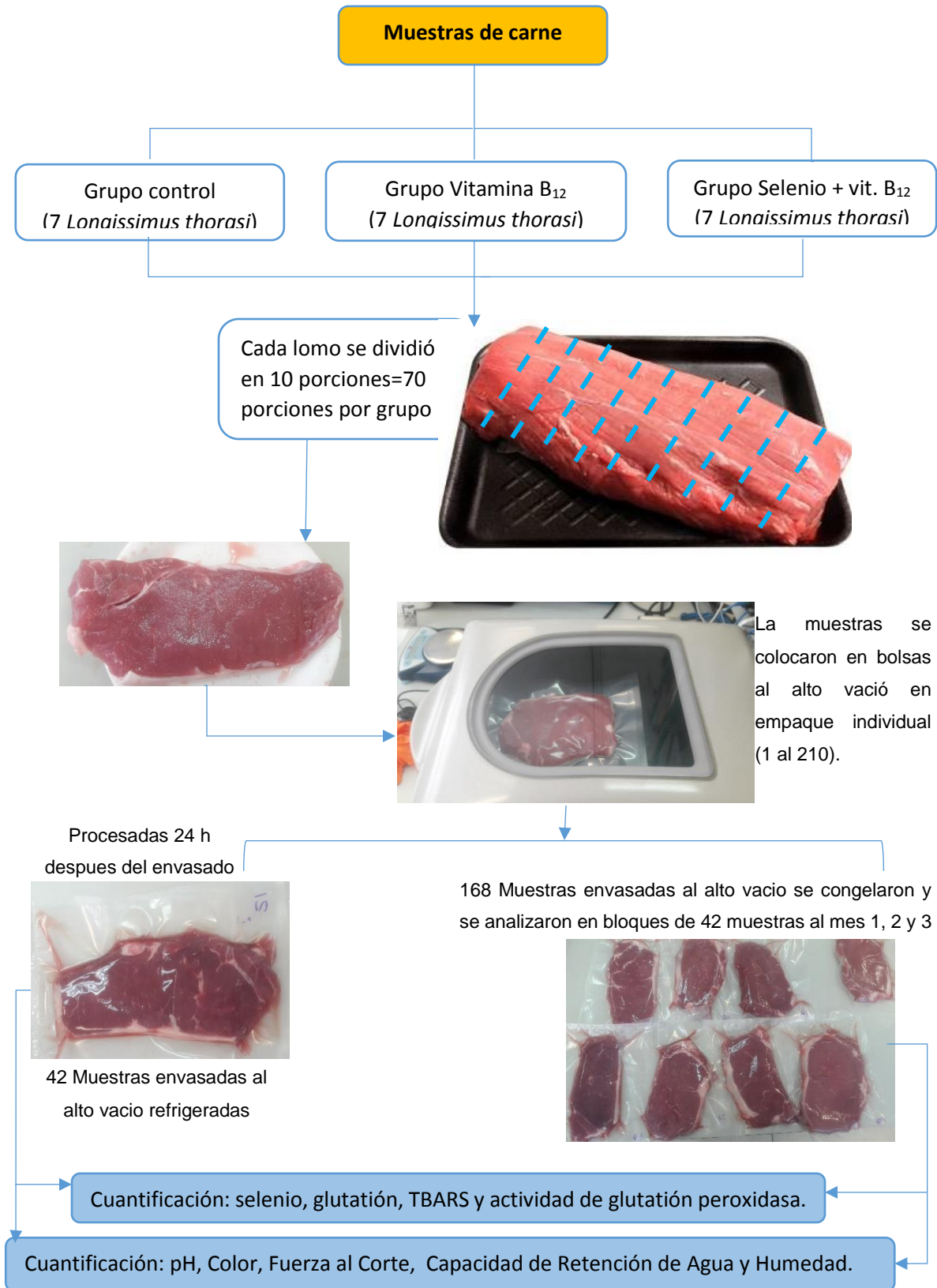


Figura 2. Experimental: Etapa 1



**Figura 3. Experimental: Etapa 2**

Se formaron 3 grupos con siete animales cada uno, seleccionados al azar. Un grupo control el cual no fue suplementado, Tratamiento 1; Tratamiento 2 (Vitamina B<sub>12</sub>), se les inyectó vía subcutánea, en la parrilla costal 3.63 mL de Hidroxianocobalamina (Vitamina B<sub>12</sub><sup>1</sup>) equivalente a 20 000 mcg/mL; Tratamiento 3 (Se-Vit. B<sub>12</sub><sup>2</sup>), aplicado de forma subcutánea 10 mL, que contienen selenio como selenato de potasio 40 mg y 20 000 mcg Hidroxianocobalamina, en cada aplicación. Estas aplicaciones se realizaron en cuatro ocasiones ajustándose a medidas de manejo de la engorda que implicaba inyección para otros fines: una al inicio de la engorda, día 0 o recepción de los animales, la segunda aplicación 32 días después de la llegada con un peso de 250 kg por animal, la tercera aplicación fue a los 106 días con un peso de alrededor de 320 kg y a los 169 días con un peso 350 kg. Los animales se finalizaron a los 217 días con un peso por animal de 464 ± 43 kg y se llevaron al sacrificio.

## VI.II Muestras de Alimento

Se tomó aproximadamente 1 kg de la dieta recibida, directamente de los comederos, de la superficie, de la parte medio (15 cm) y el fondo (30 cm), los días 0, 32, 106 y 169, para cuantificar el contenido de selenio aportado en la dieta.

## VI.III Muestras de sangre y plasma

Al tiempo de realizar la aplicación subcutánea del producto que correspondía a cada grupo en los días 0, 32, 106 y 169, se tomaron 10 mL de sangre de la yugular de los 21 bovinos experimentales, en tubos al vacío BD Vacutainer® con heparina de sodio. Los días 202 y 217 se tomaron muestras de sangre, sin aplicar tratamiento.

## VI.IV Obtención de muestras de plasma

Se obtuvo plasma centrifugando cada muestra de sangre, para determinar glutatión reducido (GSH), sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) y glutatión peroxidasa (GSH-Px) en plasma. Las muestras de sangre se centrifugaron a 12 500 × g a 4°C por 10 min, para separar el plasma que fue conservado en congelación. De cada

---

<sup>1</sup> Super Vitamina B<sub>12</sub> 5500. Laboratorios Tornel.

<sup>2</sup> Seleject B12. Animal Care Products SA de CV



muestra de plasma, se reservaron 5 µl para determinar la concentración de proteína total en plasma de acuerdo con el método de Bradford (1976).

#### VI.V Cuantificación de selenio total en sangre

Se evaluaron los niveles de selenio en sangre completa por medio de espectrofotometría de absorción atómica, con flujo de hidruros (Abdelghany *et al.*, 2007). Se optimizó el procedimiento de digestión (Gleason, 2004; ver Anexo 1). Para la obtención de los resultados se utilizó una curva de calibración directa (Anexo 2) y se obtuvo la ecuación de la recta para cuantificar el selenio. Ecuación de la recta:

$$(1) Y = mx + b$$

$$(2) x = \frac{y-b}{m}$$

Donde:

m= pendiente

x = concentración

b= punto de intercepción

y= absorbancia

#### VI.VI Medición de Glutación total (GSH) en plasma

La técnica se basó en la reacción de glutatión reducido (GSH) contenido en la muestra con él ácido 5, 5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB), con lo cual se produce ácido 2-nitro5-tiobenzoico (GS-TNB) que es un producto de color amarillo (Hu, 1994). De cada muestra, se reservaron 150 µL de plasma y se les adicionó 7.5 µL de ácido sulfosalicílico 5%, se agitó en un agitador tipo vortéx y se centrifugó a 12 500 x g a 4 °C por 10 min. Se separó el sobrenadante del cual se tomaron 150 µL, se le agregaron 450 µL de solución amortiguadora de fosfatos y se agitó. Se tomaron 50 µL de la mezcla anterior y se le adicionaron 150 µL de buffer de reacción y se incubó en placas de 96 pozos a 37°C por 25 min en baño maría. Transcurrido el tiempo de incubaron, se realizó la lectura por triplicado a una longitud de onda de 405 nm en un lector de microplacas ELISA (RT21100C) (Hu, 1994). Para calcular la cantidad de GSH se realizó una curva de calibración (Anexo 2) y mediante la ecuación (1 y 2) de la recta interpolando la absorbancia.

#### VI.VII Determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico (TBARS) en plasma

El ensayo de ácido tiobarbitúrico o lipoperoxidación (TBARS) se realizó de acuerdo con lo descrito por Ohkawa *et al.*, 1979, con algunas modificaciones. La técnica consiste en la detección del malondialdehído que al reaccionar con el ácido tiobarbitúrico forma un aducto de color rosa. A 150  $\mu$ L de plasma, se le adicionaron 150  $\mu$ L de ácido perclórico, se agitó y se incubó durante 15 min en hielo, se centrifugó a 12 500  $\times$  g a 4°C, durante 10 min, se separó el sobrenadante y se tomaron 150  $\mu$ L. A estos se les agregó 150  $\mu$ L ácido tiobarbitúrico al 67 % y se agitó. Esta mezcla se colocó en baño maría a 90°C de temperatura, por 30 minutos. Se dejó reposar hasta llegar a temperatura ambiente, se tomaron 200  $\mu$ L, se colocaron en la placa de 96 pozos y se realizó la lectura por triplicado a una longitud de onda de 532 nm, en un lector de microplacas certificadas Er-500. Para calcular la cantidad de GSH se realizó una curva de calibración (Anexo 3) y mediante la ecuación (1 y 2) de la recta, interpolando la absorbancia.

#### VI.VIII Determinación de la actividad de la glutatión peroxidasa (GPX) en plasma

La actividad de glutatión peroxidasa (GPX) se realizó de acuerdo con lo descrito por Esworhthy *et al.* (1993). La técnica se basa en la medición de la disminución de la absorción del nicotinamín adenín dinucleótido fosfato reducido (NADPH<sup>+</sup>H), por reacción de la GPX que utiliza el glutatión reductasa (GSH) para convertir el peróxido (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en agua (H<sub>2</sub>O). La producción de glutatión oxidado (GSSG) es utilizado por la glutatión reductasa (Renerre *et al.*, 1996) y se produce la conversión de NADPH<sup>+</sup>H a nicotinamín adenín dinucleótido fosfato oxidado (NADP). Se separó el sobrenadante y se tomaron 30  $\mu$ L, se adicionó el buffer de reacción (GSH 10 mM Azida de sodio 1:125 M, NADPH 2mM, GRx 100 U/mL) en una placa de 96 pozos, para su lectura a una longitud de onda de 340 nm (Lector de placas multiskan FC; mod. 511190). Para obtener la actividad GSH-PX, se utilizó el procedimiento recomendado por el laboratorio productor (Anexo 5).

#### VI.IX Muestras de Carne

A los 217 días cuando los animales de los tres grupos experimentales alcanzaron el peso de finalización de 450  $\pm$  20 kg, se llevaron a sacrificio en el rastro TIF 353, ubicado en el km 2.5 de la carretera San Juan – Vargas. La distancia entre la UPP y el rastro fue de aproximadamente 100 km, la duración del trayecto fue de 60 minutos. Los animales fueron

separados en un corral del rastro y 60 minutos después entraron a la línea de sacrificio, se obtuvieron las canales y se identificaron individualmente con etiquetas numeradas.

La muestra de carne de cada canal fría se obtuvo 24 h después del faenado, del músculo *Longissimus thorasi (dorsi)*, desde la costilla 9 a la 12, aproximadamente 20 cm, con peso aproximado de 1.5 kg. Esta muestra se mantuvo entera y refrigerada a 4 °C, durante 48 h posteriores al sacrificio. Se transportó en una hielera con refrigerantes durante cuatro horas, del estado de Veracruz a la Unidad de Investigación (UIM) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FES-C), en el Estado de México. En la UIM, cada muestra se seccionó en 10 rebanadas de 2 cm de grosor, 70 rebanadas por grupo, con peso de 150 g, en total 210 muestras entre los tres grupos experimentales (figura 3). Todas las muestras fueron colocadas en bolsas individuales y empacadas al alto vacío, 42 se colocaron 24 h más en refrigeración, transcurrido este tiempo se analizaron y 168 se sometieron a congelación lenta, a temperatura de -18 °C, hasta su análisis.

#### VI.IX.I Procesamiento de muestras de carne

En el laboratorio de la FES-C se tomaron las 42 muestras refrigeradas, 14 del grupo control, 14 del grupo Vitamina B<sub>12</sub> y 14 del grupo Se + Vit B<sub>12</sub>. Las muestras almacenadas en bolsas al alto vacío que permanecieron 24 h más a 4 °C carne refrigerada al **M<sub>0</sub>**. De cada porción de 150 g, se separaron 15 g para los análisis. Se realizó la determinación de los parámetros de calidad de carne en el siguiente orden: pH, color, fuerza al corte y CRA (capacidad de retención de Agua). Además se cuantificaron GSH, TBARS, GSH-Px y selenio en la carne.

Las determinaciones para los parámetros de calidad, concentración de selenio y actividad oxidante en la carne congelada (-18 °C), para cada tiempo se usaron 42 rebanadas, 14 por grupo y los análisis se realizaron por triplicado en cada segmento excepto para determinar humedad, que solo se procesaron nueve muestras, al final de cada mes, durante tres meses: **M<sub>1</sub>** luego de un mes en congelación, **M<sub>2</sub>** dos meses en congelación y **M<sub>3</sub>**, tres meses en congelación, como se muestra en el figura 3.

#### VI.IX.II Cuantificación de selenio (Se) total en carne

Después de haber descongelado la carne, se siguió el procedimiento que se aplicó en las muestras de sangre. Se evaluaron concentraciones de selenio en carne por medio de espectrofotometría de absorción atómica, con flujo de hidruros (Gleason, 2004).

#### VI.IX.III Cuantificación de glutatión total, sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico y glutatión peroxidasa en muestras de carne (GSH, TBARS y GSH-PX)

Para estos análisis se utilizó una muestra de carne 0.3 g, que se colocó en un tubo Ependorf, se agregó buffer de lisis en relación 1:3 y se homogenizaron con el ultraturrax. Esta muestra se sonicó con 3 pulsos de 10 segundos, con una amplitud de 97 MHz, finalmente se centrifugó a 12 500 × g a 4°C por 10 min. Se tomó el sobrenadante y se reservaron 10 µL para determinar la concentración de proteína total en carne, de acuerdo con el método de Bradford (1976). Después de haber obtenido el homogeneizado de cada muestra de carne, se siguieron los procedimientos de las pruebas de GSH, TBARS y GSH-Px, que se utilizaron con las muestras de plasma.

#### VI.IX.IV Evaluación de parámetros de calidad en la carne de los grupos experimentales.

Se inició con el análisis de pH, color, fuerza de corte (Fc), actividad de agua, y se finalizó con capacidad de retención de agua (CRA). Las muestras fueron descongeladas a la temperatura de 4°C por 24 horas. Se calculó la pérdida por descongelado: peso congelado - peso descongelado; el resultado se expresó en porcentaje de peso perdido en jugos exudados.

##### VI.IX.IV.I Medición de pH en carne

La medición del pH NMX-F-317-S-1978 (Determinación de pH en alimentos), se realizó a cada muestra descongelada con un potenciómetro portátil con electrodo de penetración (Hanna®, modelo HI 98230); se ajustó previamente a su uso, con buffers de referencia de pH 4 y 7. Se introdujo al centro del corte con las fibras perpendiculares, evitando el contacto con la grasa (Mamani, *et al.*, 2011). El electrodo se enjuagó con alcohol etílico al 95% y se secó entre cada medición. Éstas se realizaron por triplicado, en distintas zonas de la muestra.

#### VI.IX.IV.II Medición de color en carne

Las mediciones de color se hicieron en zonas homogéneas y representativas de la carne magra descongelada, después de una hora de oxigenación, para ello se utilizó el método instrumental de reflectancia superficial (colorímetro Minolta de la serie CR 200) en el espacio de color CIELAB (CIE, 1986; Hui *et al.*, 2006). La medición del color se realizó por triplicado moviendo el campo sobre la superficie de corte, obteniéndose los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , donde la coordenada  $L^*$  describe luminosidad, y las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$  describen tonos entre rojo-verde y amarillo-azul, respectivamente. Con los valores de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  se calculó Delta E ( $\Delta E$ ) con la formula CIELAB, 1976.

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_0^* - L_1^*)^2 + (a_0^* - a_1^*)^2 + (b_0^* - b_1^*)^2}$$

**Cuadro 2. Umbrales de tolerancia  $\Delta E^*$**

$\Delta E^*$	Calidad
1	Excelente
1-2	Buena
2-4	Normal
-5	Suficiente
> 5	Mala

La norma ISO 12647-2 es la encargada de los estándares de impresión, y aborda los umbrales de tolerancia para Delta E, que se muestran en el cuadro 2. Si  $\Delta E^*$  se aproxima a 2.3 siendo en todo caso inferior a 3, se puede traducir como diferencia apenas perceptible, que se produce entre dos niveles de intensidad de un estímulo sensorial. Valores superiores a 5 se proponen como inaceptables en la mayoría de procesos ya que indican que la diferencia de color es especialmente evidente. El ojo humano tiene dificultades para diferenciar un tono púrpura incluso con un  $\Delta E$  5 de o más, pero es capaz de diferenciar un  $\Delta E$  0,5 en una escala de grises.

#### VI.IX.IV.III Determinación de fuerza de corte en carne

La fuerza de corte se midió con el texturómetro (Brookfield CT3™), en muestras descongeladas que se les cortaron segmentos de 3 por 3 cm, por 2 cm de grosor, con

celda de carga de 25 kg; con una resolución 1 a 25 000 g/2.0g de carga, por lo que el intervalo de medición es de 2 a 25 000 g; una resolución 2.0 g y una exactitud  $\pm 0.5\%$  sensor de fuerza resistivo (FSR). Este valor se aplica a todo el intervalo de temperaturas defuncionamiento. La precisión es 0.2 % FSR, a una temperatura ambiente estable (20°C - 25°C).

Los resultados de fuerza al corte, la fuerza es el pico de corte y dureza es el área debajo de la gráfica, por lo tanto es la fuerza  $\times$  la distancia recorrida por la cuchilla. Las mediciones se realizaron por triplicado (Torres *et al.*, 2015).

#### VI.IX.IV.IV Determinación de la capacidad de retención de agua (CRA) en carne

Se empleó una muestra de carne descongelada según el método de Grau y Hamm (1953), modificado por Sañudo *et al.*, 1986. Se pesó el papel filtro en una balanza analítica y 0.3  $\pm$  0.05 g de carne, que se colocó dentro del papel filtro doblado por la mitad, se colocó la muestra entre dos placas de vidrio y se sometió a compresión con una pesa de 2 kg durante 5 min. Se retiró la muestra de carne y se pesó de nuevo el papel filtro.

$$\% \text{Jugo liberado} = \frac{(\text{Peso final del papel filtro} - \text{Peso inicial del papel filtro})}{\text{Peso de la muestra}} * 100$$

$$\% \text{CRA} = 100\% - \% \text{ líquido liberado}$$

#### VI.IX.IV.V Determinación de humedad en carne

Se retiró la cubierta de la muestra de carne (grasa, fascias) y se pesaron aproximadamente 2 g. La muestra se colocó en un crisol, previamente pesado. Se pesó el crisol/gasa y el crisol/gasa con muestra, se registraron los pesos y se llevaron y mantuvieron en la estufa con regulador de temperatura, a 100-105°C, durante 4 h. Cuando se sacaron de la estufa, las muestras se colocaron en el desecador, se dejaron enfriar y se pesaron. La diferencia de peso antes y después del paso por la estufa se registró como la humedad de la pieza (NMX-F-544-1992). Los porcentajes de materia seca (%MS) o humedad (%H) se calculan por diferencia de pesos, de la siguiente manera:

$$\text{MS} = [\text{Peso de la muestra seca (g)} / \text{peso de la muestra húmeda (g)}] \times 100$$

$$\% \text{ H} = 100 - \% \text{ MS}$$

## VII. Análisis Estadístico

Para el análisis de los 126 datos de cada parámetro se ingresaron al programa Excel para crear una base de datos y luego se analizaron en Minitab. Primero los datos fueron analizados por grupo experimental para ver si había diferencia significativa entre datos de grupo, se aplicó ANOVA de una vía y posteriormente prueba de Tukey.

Revisando lo anterior, se analizaron los grupos por meses y se compararon entre ellos aplicando ANOVA de una vía y prueba de Tukey. Con los resultados obtenidos de estos análisis se realizaron gráficas en Excel.

Para mejorar el manejo y reducir la información obtenida de los resultados se utilizó un segundo paquete estadístico R 3.4.3, aplicando 3 pruebas Mauchly's Test, ANOVA y Corrección de Esfericidad, con el siguiente procedimiento: si la prueba de Mauchly's Test, arrojaba un valor  $<0.05$  se procedía a realizar la prueba de Corrección de Esfericidad. Si la prueba de Mauchly's Test, arrojaba un valor  $>0.05$  se aplicaba ANOVA.

Los resultados significativos con valor de  $<0.05$ , para Corrección de Esfericidad y ANOVA, se tomaron en cuenta en la discusión. También se realizó una prueba de T, para ver diferencias en el tiempo. El siguiente diseño experimental se aplicó para las viables: selenio, GSH, TBARS, GSH-PX, pH,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $L^*$ ,  $\Delta E$ , CRA y fuerza de corte.

### **Diseño experimental: Análisis de varianza para medidas repetidas en el tiempo**

$$Y_{ijk} = \mu + T_j + P_k + (TP)_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

$Y_{ijk}$  = la medición del sujeto  $i$ , de tratamiento  $j$ , a periodos  $k$ .

$\mu$  = media general

$T_j$  = efecto de tratamiento  $j = J=1, \dots, t$

$P_k$  = efecto de periodo  $k = K=1, \dots, p$

$(TP)_{jk}$  = efecto de la interacción de tratamiento  $j$  y de periodo  $k$ .

$\varepsilon_{ijk}$  = error aleatorio

## VIII. Resultados Y Discusión

Con base en los cuadros, se tomaron en cuenta los resultados para discutirlos más adelante, en el orden que aparecen.

### Resultados en sangre y plasma

El cuadro 3 presenta los resultados de los análisis estadísticos para las concentraciones sanguíneas y plasmáticas de selenio, glutatión, actividad de la glutatión peroxidasa y concentraciones de TBARS de los novillos experimentales.

**Cuadro 3. Resultados del análisis estadístico del selenio, glutatión reducido, glutatión peroxidasa y TBARS, en sangre y/o plasma de los novillos finalizados en estabulación**

Variable	Mauchly's Test		Corrección de Esfericidad	
	Tiempo	Tx/ Tiempo	Tiempo	Tx/Tiempo
Se	0.001	0.001	<b>0.000**</b>	0.922
GSH	0.000	0.000	<b>0.000**</b>	0.468
GSH-Px	0.000	0.000	0.204	0.397
TBARS	0.000	0.000	0.149	0.131

Los resultados con \*\* indican que tienen diferencia significativa ( $P < 0.05$ ). V.R, variable; Tx, tratamiento; Tx/Tiempo: interacción tratamiento: tiempo.

### Contenido de selenio en alimento y en sangre completa

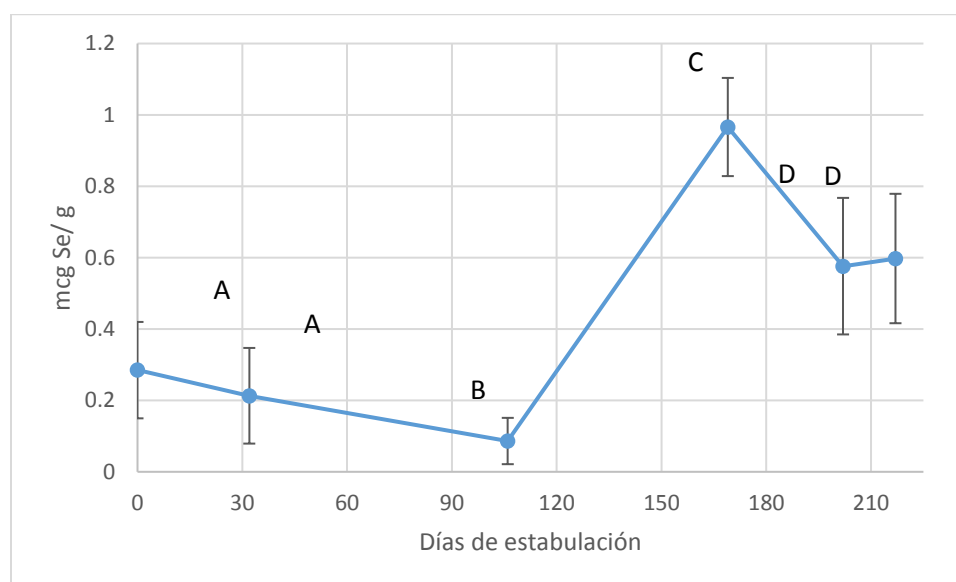
Las concentraciones de selenio (ng/g) en la dieta fueron: a los 0 días, 1.47; 32 días, 1.25; 106 días, 1.15 y a los 169 días, 23.9; valores por debajo de lo recomendado por el National Research Council (NRC) (2000) 100 ng/g de selenio para bovinos productores de carne.

En el Cuadro 3, se muestra que el contenido de selenio en sangre de los bovinos que integraban los tres grupos, fue significativo respecto al tiempo.

El contenido de selenio en sangre de los bovinos se incrementó hasta el día 169 significativamente, para los tres grupos, después de esta fecha el contenido de selenio bajó (Figura 4). No se observaron diferencias atribuibles al tratamiento. Esto pudo ocurrir por los requerimientos de los animales en las etapas de crecimiento, además de complicaciones en su salud que presentaron algunos de ellos, lo que probablemente aumento la utilización de selenio. Los animales iniciaron la engorda con concentraciones plasmáticas muy baja



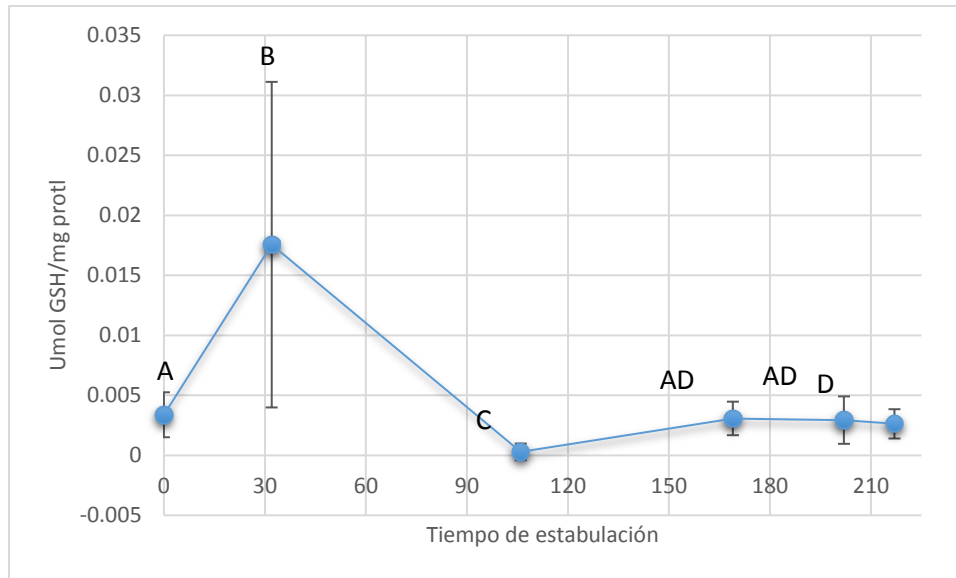
del elemento y recibieron una dieta carente del mismo. Los animales privilegian el poco selenio disponible y lo aportan a órganos centrales (sistema nervioso central, tiroides, hipófisis) antes de que pueda aparecer en sangre (Abdelghany y Tórtora, 2010). Lee *et al.* (2006) y Cozzi *et al.* (2011) suplementaron en la dieta a bovinos con selenio de diferentes fuentes, entre ellas  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  siendo la fuente que tuvo menos concentración en sangre, debido a que se suplementó en la dieta. Sin embargo, Pan *et al.* (2007) observaron que la concentración de selenio en sangre y riñón de gallinas alimentadas con  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  era más alta que la de las gallinas alimentadas con selenio de una fuente orgánica e indicaron que el selenio orgánico se deposita principalmente en el huevo y el tejido corporal, mientras que el selenio inorgánico permanece más tiempo en sangre.



**Figura 4.** Contenido promedio de selenio de la sangre completa de los bovinos, de los tres grupos en el tiempo de estabulación. Las barras perpendiculares corresponden a la desviación estándar. Diferentes literales indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

### Quantificación de glutatión total (GSH) en plasma

En el caso del GSH en plasma, sólo se observó un efecto significativo ( $P < 0.05$ ) del tiempo (Cuadro 3), el cual se presenta en la figura 5. El contenido de GSH fue elevado en el día 32, después de la primera administración. Posterior a este día la concentración de GSH bajó drásticamente al día 106, sin diferencia en las posteriores mediciones, hasta el día 217. No se detectaron diferencias atribuibles al tratamiento.



**Figura 5. Cuantificación promedio de glutatión reducido en plasma de los bovinos, de los tres grupos en el tiempo de estabulación.** Las barras perpendiculares corresponden a la desviación estándar. Diferentes literales indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

### **Actividad de glutatión peroxidasa y sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico**

En el caso de la actividad de glutatión peroxidasa y cuantificación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en plasma no hubo diferencias significativas (Cuadro 3) atribuibles a las variables en estudio. Cabe mencionar que la actividad al día 32 de GSH-PX coincide con el resultado de una elevada cuantificación de glutatión en el mismo día (Figura 5). Además se realizó una correlación de GSH con GSH-PX y esta resultó positiva del 0.96. Los resultados de GSH-PX no estuvieron relacionados con la cuantificación de selenio, este comportamiento tendría que ver con la distribución del selenio en el individuo ya que existen órganos prioritarios, como: hígado, riñones, pulmones, corazón, intestinos y músculos son los principales órganos responsables de su homeostasis.

Respecto a los resultados de TBARS en plasma, no fueron significativos, solo demuestra que si hubo reacciones oxidativas de lípidos, pero no hubo diferencias entre grupos experimentales, ni en el tiempo. Esto pudo deberse a que los lipoperóxidos producidos en las muestras no fueron detectados, ya que el método utilizado fue poco sensible. Los valores promedio de TBARS (U mol/mg de proteína) de los tres grupos durante los días de estabulación fueron: en el día 0,  $6.59e-09$ ; día 32,  $4.77e-10$ ; día 106,  $6.56e-11$ ; día 169,  $1.30e-09$ ; en el día 204,  $3.74e-09$  y en el 217,  $2.57e-09$ .

En este trabajo no se observó una correlación significativa entre los niveles de selenio en sangre periférica de los bovinos suplementados con Selenio-Vit B<sub>12</sub> y la actividad de GSH-Px. La GSH-Px no es una enzima prioritaria en el sistema y su síntesis ocurre una vez que se ha completado el resto de la batería enzimática (Abdelghany y Tórtora, 2010).

Posiblemente, los radicales libres generados en los animales de experimentación fueron capaces de verse inhibidos por el glutatión que se encuentra en concentraciones promedio de 12 mM en células de mamíferos. Sus funciones asociadas al mantenimiento del potencial de óxido-reducción de la célula favorecen el estado reducido de los grupos tiol de las proteínas.

### **Ganancia de peso de los grupos experimentales: control, vitamina B<sub>12</sub> y selenio + vitamina B<sub>12</sub> (peso de bovinos desde la recepción hasta la finalización).**

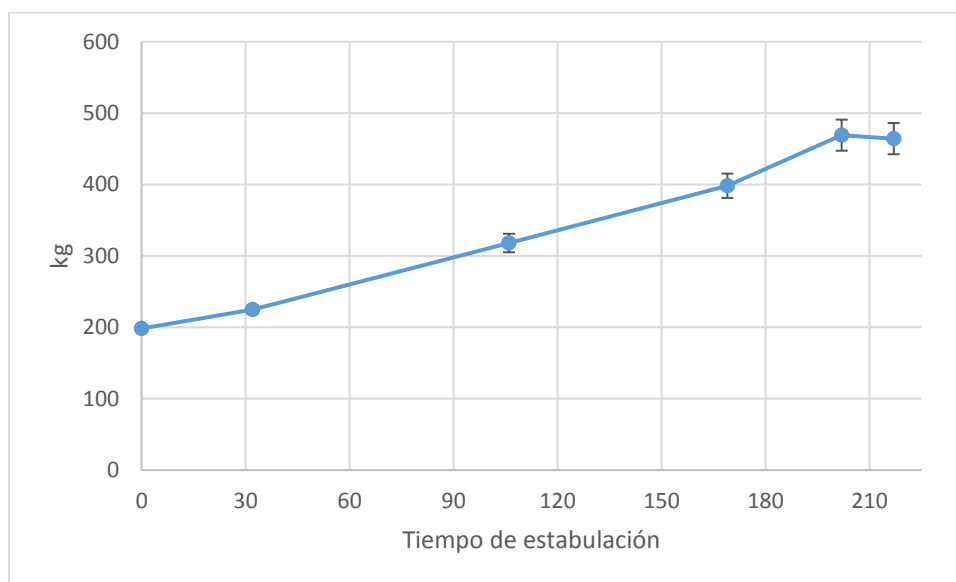
Los resultados de la ganancia de peso, solo tuvieron efecto respecto a los periodos en los que se registró el peso (Cuadro 4), no hubo diferencias significativas (P > 0.05) entre los grupos experimentales.

**Cuadro 4. Resultados del análisis estadístico de los peso de los novillos finalizados en estabulación**

Variable	Mauchly's Test		ANOVA			Corrección de Esfericidad	
	Tiempo	Tx: Tiempo	Tx	Tiempo	Tx: Tiempo	Tiempo	Tx: Tiempo
<b>PESO</b>	0.000	0.000	0.304	0.000	0.330	<b>0.000**</b>	0.345

Los resultados con \*\* indican que tienen diferencia significativa (P < 0.05). V.R: variable, Tx: tratamiento, Tx: Tiempo: interacción tratamiento: tiempo.

Los promedios de los pesos (kg) a la finalización de los bovinos a los 217 días, por grupo fueron: control, 467.29 ± 57.70 kg; vitamina B<sub>12</sub>, 484.71 ± 20.07 kg) y selenio + vitamina B<sub>12</sub>, 441.29 ± 42.64 kg (Figura, 6). Lee *et al.*, (2006) analizaron los efectos de la suplementación de diferentes fuentes de selenio como: hongos enriquecidos con selenio, levadura selenizada y selenito de sodio, en novillos finalizados al alcanzar 633.8125 ± 39.33 kg, y no encontraron diferencias significativas (P>0.05), en el peso final, ganancia de peso total, ganancia de peso diaria y peso de las canales. González (2014), analizó la suplementación con minerales entre ellos Se, con un peso final aproximado en sus cuatro tratamientos de 447± 10.75 kg, reportó que no encontró (P > 0.05) un efecto significativo respecto al peso final de los bovinos.



**Figura 6. Pesos promedio de los bovinos de los tres grupos en el tiempo de estabulación.** Las barras perpendiculares corresponden a la desviación estándar. Diferentes literales indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Los pesos de las canales obtenidas de los tres grupos experimentales no tuvieron diferencias significativas entre sí (Cuadro 5). Lee *et al.*, 2006, en su trabajo con suplementación de selenio, mencionan no haber encontrado diferencia significativa en el porcentaje de rendimiento, pero González (2014), con mezclas minerales, sí encontró diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) en la merma de canal que fue menor al 1.5 %. El tamaño reducido de los grupos en este ensayo pudo afectar la significancia de la prueba.

**Cuadro 5. Pesos de las canales de los bovinos experimentales**

Canal	Tratamiento	Promedio (kg)	DS
Peso Canal caliente (PC)	Control	281.94	29.50
	Vitamina B12	296.46	22.84
	Se+ Vit. B12	299.96	17.19
Peso Canal Frio (PF)	Control	273.76	22.84
	Vitamina B12	285.24	31.66
	Se+ Vit. B12	292.14	33.39

PC, peso de la canal después del sacrificio; PF, peso de la canal 24 h posteriores al sacrificio; **Control**, grupo no suplementado; **Vitamina B<sub>12</sub>**, grupo suplementado con vitamina B<sub>12</sub>; **Se+ Vit. B<sub>12</sub>**, grupo suplementado con selenio más vitamina B<sub>12</sub>.

## Resultados en carne

Los resultados estadísticos de selenio, glutatión reducido, actividad de la glutatión peroxidasa y TBARS en la carne de los animales experimentales se presentan en el Cuadro 6.

**Cuadro 6. Resultados del análisis estadístico del selenio, glutatión reducido, glutatión peroxidasa y TBARS, en carne de los novillos**

Variable	Mauchly's Test		Corrección de Esfericidad	
	Tiempo	Tx: Tiempo	Tiempo	Tx: Tiempo
Se	0.000	0.000	<b>0.000**</b>	2.530
GSH	0.000	0.000	<b>0.001**</b>	0.243
GSH-Px	0.000	0.000	<b>0.045**</b>	0.395
TBARS	0.000	0.000	0.368	0.313

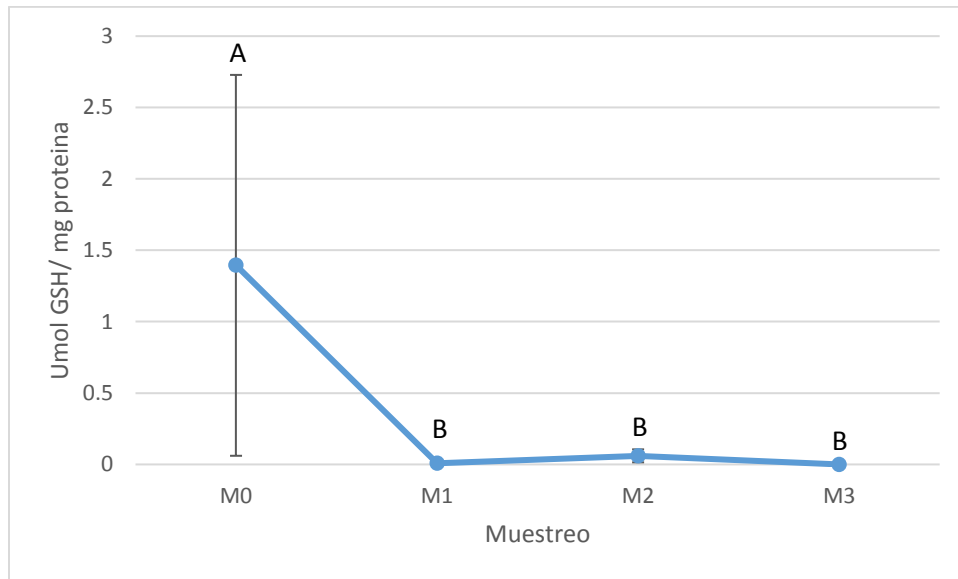
Los resultados con \*\* indican que tienen diferencia significativa ( $P < 0.05$ ). V.R: variable, Tx: tratamiento, Tx: Tiempo: interacción tratamiento: tiempo.

### Contenido de Selenio en Carne

Los resultados fueron significativos respecto a los periodos en los cuales se realizaron los muestreos **M<sub>0</sub>**, **M<sub>1</sub>**, **M<sub>2</sub>**, **M<sub>3</sub>** (Cuadro 6). En el **M<sub>0</sub>** (1.39 mcg Se/g), se detectó la concentración de selenio más alta en la carne de los bovinos de los tres grupos, **M<sub>1</sub>** (0.060 mcg Se/g), **M<sub>2</sub>** (0.008 mcg Se/g) y **M<sub>3</sub>** (0 mcg Se/g), pero no hubo diferencias por tratamiento, Lee *et al.*, (2006) analizó el contenido de selenio en tejidos como el miembro posterior y obtuvo los siguientes resultados ( $p < 0.05$ ): en el grupo control 0.4505 mcg Se/g; : hongos enriquecidos con selenio, 0.7065 mcg Se/g; levadura selenizada 1.1062 mcg Se/g; y selenito de sodio, 0.4983 mcg Se/g. El resultado del **M<sub>0</sub>** es similar al encontrado por Lee *et al.*, (2006) en el grupo levadura selenizada, el contenido de selenio encontrado es adecuado. En 100 g de carne de res se pueden tener hasta 28.1 mcg de selenio, es importante, por ser el de mayor biodisponibilidad para el humano, cuyas necesidades han sido estimadas en 60-75 mcg/día (Holben y Smith, 1999).

## Glutación total (GSH) en carne

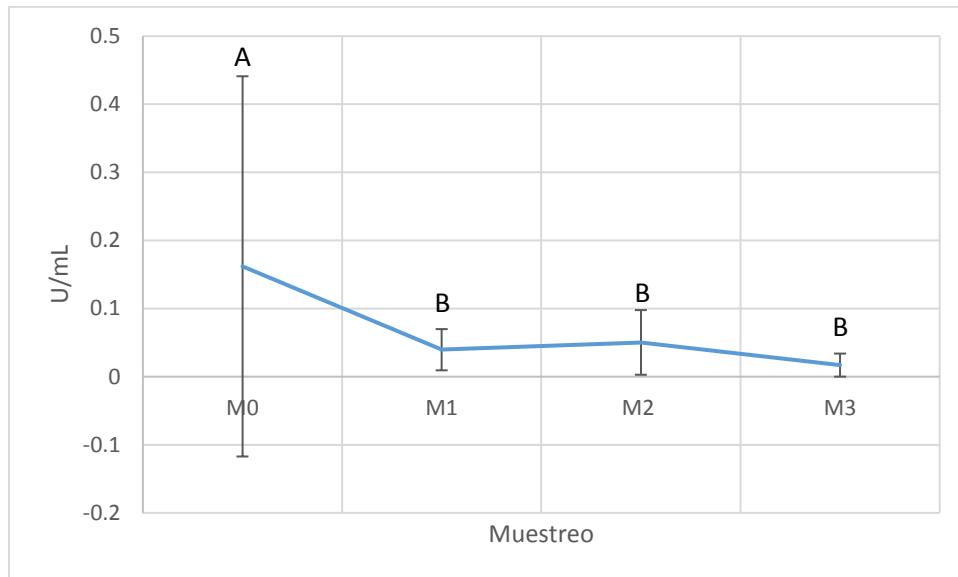
Los niveles de GSH en carne mostraron influencia en relación a los periodos en los cuales se realizaron los muestreos **M<sub>0</sub>**, **M<sub>1</sub>**, **M<sub>2</sub>**, **M<sub>3</sub>** (Cuadro 6). El **M<sub>0</sub>**, fue significativamente diferente del GSH en carne almacenada en congelación durante **M<sub>1</sub>**, **M<sub>2</sub>**, **M<sub>3</sub>** (Figura, 7). Los datos pueden indicar la oxidación de GSH en el proceso de congelación, no hubo diferencias por tratamiento.



**Figura 7. Contenido de glutatión en carne de los bovinos de los tres grupos durante el almacenamiento. M<sub>0</sub>: refrigeración, M<sub>1</sub>: un mes de congelación, M<sub>2</sub>: dos meses de congelación, M<sub>3</sub>: tres meses de congelación. Las barras perpendiculares corresponden a la desviación estándar durante el tiempo de almacenamiento de la carne. Diferentes literales indican diferencias significativas (P < 0.05).**

## Actividad de glutatión peroxidasa en carne

La actividad de GSH-Px en carne tuvo efecto respecto a los periodos en los que se realizaron lo muestreo de **M<sub>0</sub>**, **M<sub>1</sub>**, **M<sub>2</sub>**, **M<sub>3</sub>** (Cuadro 6). El **M<sub>0</sub>** tuvo la mayor actividad, pero no hubo diferencia significativa respecto a **M<sub>1</sub>**, **M<sub>2</sub>**, pero estos fueron diferentes a **M<sub>3</sub>** que tuvo una actividad de GSH-PX más baja. Es posible que en la carne la enzima se consuma y deteriore. No ocurrieron diferencias atribuibles al tratamiento.



**Figura 8. Contenido de glutatión peroxidasa en carne de los bovinos de los tres grupos durante el almacenamiento. M<sub>0</sub>: refrigeración, M<sub>1</sub>: un mes de congelación, M<sub>2</sub>: dos meses de congelación, M<sub>3</sub>: tres meses de congelación.** Las barras perpendiculares corresponden a la desviación estándar, durante el tiempo de almacenamiento de la carne. Diferentes literales indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

**Sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico en carne (TBARS)**, no hubo significancia estadística respecto a estos resultados, pero sí indica que en la carne hubo reacciones de oxidación. Los valores promedio de los tres grupos experimentales durante el tiempo de almacenamiento fueron: **M<sub>0</sub>**:  $0.001 \pm 0.003e-03$ ; **M<sub>1</sub>**:  $1.4667e-05 \pm 2.203e-05$ ; **M<sub>2</sub>**:  $0.00064 \pm 0.0006$  y **M<sub>3</sub>**:  $3.3333e-06 \pm 4.9329e-06$ .

## Calidad de la carne

Los resultados estadísticos de los parámetros de calidad de la carne (pH, color, CRA y fuerza de corte, se presentan en el Cuadro 7.

**Cuadro 7. Resultados del análisis estadístico de los parámetros de calidad en carne de los novillos**

Variable	Mauchlx's Test		ANOVA			Corrección de Esfericidad	
	Tiempo	Tx:Tiempo	Tx	Tiempo	Tx: Tiempo	Tiempo	Tx: Tiempo
pH	0.000	0.000	0.298	0.000	0.008	0.000	<b>0.012**</b>
L*	0.302	0.302	0.538	0.000	<b>0.041**</b>	0.000	0.573
a*	0.455	0.455	0.33	<b>0.000**</b>	0.373	0.000	0.370
b*	0.627	0.627	0.409	<b>0.000**</b>	0.261	0.000	0.268
FC	0.520	0.529	0.525	<b>0.008**</b>	0.5202	0.126	0.507
CRA	0.083	0.083	0.893	0.000	<b>0.053**</b>	0.000	0.070

Los resultados con \*\* indican que tienen diferencia significativa ( $P < 0.05$ ). V.R: variable, Tx: tratamiento, Tx: Tiempo: interacción tratamiento: tiempo.

**Control**, grupo no suplementado; **Vitamina B<sub>12</sub>**, grupo suplementado con vitamina B<sub>12</sub>; **Se+ Vit. B<sub>12</sub>**, grupo suplementado con selenio más vitamina B<sub>12</sub>.

pH, potencial de hidrogeniones; ΔE, diferencia de color; L\*, luminosidad; a\*,rojo- verde ; b\*, amarillo- azul; CRA, capacidad de retención de agua; FC, Fuerza al corte; Humedad, porcentaje de humedad.

### pH en carne

El pH mostró una interacción del tratamiento con los periodos en los cuales se realizaron los muestreos de **M<sub>0</sub>**, **M<sub>1</sub>**, **M<sub>2</sub>**, **M<sub>3</sub>**. El pH promedio de los tres grupos en el M<sub>0</sub> fue de  $5.4 \pm 0.08$ , el cual está dentro de los valores reportados por Rodríguez *et. al.*, (2013),  $5.38 \pm 0.04$  en muestras refrigeradas, medidas a las 72 h. Los valores de pH que se obtuvieron en las mediciones realizadas en las muestras de carne cambiaron con la congelación, el pH en el M<sub>0</sub> fue diferente ( $P < 0.05$ ) al pH en M<sub>1</sub> ( $5.7 \pm 0.7$ ), M<sub>2</sub> ( $5.7 \pm 0.2$ ) y M<sub>3</sub> ( $5.6 \pm 0.07$ ). Cozzi *et al.* (2011) evaluaron el efecto de la suplementación dietética con diferentes fuentes de selenio a novillos Charolais y una de las fuentes inorgánicas de Se fue Selenito de sodio; midieron el pH de la carne de estos bovinos a los 6 (pH, 5.51) y 11 días (pH, 5.53), en refrigeración, sin encontrar efecto en el pH de la carne en refrigeración, pero sí en el tratamiento siendo diferente el grupo Selenito de sodio respecto a los otros 2 grupos, en la evaluación realizada a los 6 días. El cuadro 8 presenta el comportamiento del pH en los diferentes tratamientos en los muestreos realizados.



**Cuadro 8. pH en carne de los bovinos de los grupos experimentales: control, vitamina B<sub>12</sub> y selenio + vitamina B<sub>12</sub> durante el almacenamiento.**

Mes	Muestra	Promedio	DS
M <sub>0</sub>	Control	5.44 <sup>C</sup>	0.08
	Vitamina B <sub>12</sub>	5.44 <sup>C</sup>	0.09
	Se+ Vit. B <sub>12</sub>	5.41 <sup>C</sup>	0.08
M <sub>1</sub>	Control	5.68 <sup>B</sup>	0.07
	Vitamina B <sub>12</sub>	5.76 <sup>AB</sup>	0.08
	Se+ Vit. B <sub>12</sub>	5.69 <sup>B</sup>	0.07
M <sub>2</sub>	Control	5.84 <sup>A</sup>	0.36
	Vitamina B <sub>12</sub>	5.73 <sup>B</sup>	0.09
	Se+ Vit. B <sub>12</sub>	5.67 <sup>B</sup>	0.07
M <sub>3</sub>	Control	5.69 <sup>B</sup>	0.08
	Vitamina B <sub>12</sub>	5.72 <sup>B</sup>	0.08
	Se+ Vit. B <sub>12</sub>	5.69 <sup>B</sup>	0.07

M<sub>0</sub>: refrigeración, M<sub>1</sub>: un mes de congelación, M<sub>2</sub>: dos meses de congelación, M<sub>3</sub>: tres meses de congelación.  
<sup>ABC</sup> Diferentes superíndices indican diferencias significativas (P < 0.05).

En el M<sub>2</sub> el grupo control tuvo un pH alto  $5.84 \pm 0.36$ , comparado con los grupos vitamina B<sub>12</sub> ( $5.73 \pm 0.09$ ) y Se + vitamina B<sub>12</sub> ( $5.67 \pm 0.07$ ) (Cuadro 8). En un estudio (Mamani *et al.*, 2011) en el que se evaluó el pH a los 60 días de almacenamiento de muestras de carne de bovino en condiciones de congelación se midió un pH de  $5.59 \pm 0.12$ , similar al pH reportado, en la carne del grupo con selenio. En congelación el tratamiento con Se mantuvo los valores de pH más bajos y estables en los tres tiempos de evaluación M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> y M<sub>3</sub> (P<0.005).

## Color de la carne

El color de la carne fresca es una propiedad importante y un factor de aceptación que influye en la adquisición de la misma por los consumidores. El color es un espacio de tres canales  $L^* a^* b^*$ , donde la  $L^*$ , luminosidad, está relacionada con el estado, tamaño y posición de las fibras musculares;  $a^*$ , se refiere los niveles de variación entre rojo y verde y  $b^*$ , a la variación entre amarillo y azul, y se relaciona con el estado químico de la mioglobina (Meléndez, 2014; Mateo, 2007).

La luminosidad ( $L^*$ ) tuvo una interacción entre el tratamiento y los periodos en los cuales se realizaron los muestreos de **M<sub>0</sub>, M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub>** ( $P < 0.05$ ; Cuadro, 7). El grupo Se + vitamina B<sub>12</sub> estuvo ligeramente elevado, respecto a los otros dos grupos experimentales en M<sub>0</sub> y M<sub>2</sub>. En M<sub>2</sub> y M<sub>3</sub> no hubo variación entre los grupos y hubo un descenso paulatino (Cuadro, 9). De acuerdo con Feldhusen y Kuhne (1992) a medida que avanza el periodo de maduración ocurre el fenómeno de fragmentación miofibrilar; por ello, la penetración de oxígeno a la miofibrilla ocurre más rápidamente determinando una mayor formación de oximioglobina y como resultado, una mayor claridad de la carne. Si esto sucede, la luminosidad aumenta gradualmente provocando que la carne sea más clara; pero esto no pasa en la carne de bovino, al contrario, disminuye gradualmente, provocando carne más oscura. En el caso de  $L^*$  al evaluarlo por tratamiento se ve claramente la diferencia ente el grupo control y selenio + vitamina B<sub>12</sub> en M<sub>0</sub>, favoreciendo al último grupo. El grupo selenio + vitamina B<sub>12</sub> en M<sub>0</sub> mostró un nivel más elevado de selenio en carne y mientras que el grupo control en el M<sub>0</sub> demostró actividad de TBARS y también actividad de la GSH-Px, el grupo selenio + vitamina B<sub>12</sub> no mostró esta actividad, lo que supone protección ante la oxidación.

**Cuadro 9. Parámetro L\* en carne de los bovinos de cada grupos experimental control, vitamina B12 y selenio + vitamina B12, durante el almacenamiento.**

Mes	Muestra	Promedio	DS
M <sub>0</sub>	Control	41.659 <sup>BC</sup>	6.697
	Vitamina B <sub>12</sub>	43.833 <sup>AB</sup>	2.083
	Selenio+ vitamina B <sub>12</sub>	44.085 <sup>A</sup>	2.304
M <sub>1</sub>	Control	37.718 <sup>DE</sup>	2.158
	Vitamina B <sub>12</sub>	38.253 <sup>DE</sup>	2.056
	Selenio+ vitamina B <sub>12</sub>	39.986 <sup>CD</sup>	1.975
M <sub>2</sub>	Control	38.161 <sup>DE</sup>	2.265
	Vitamina B <sub>12</sub>	38.592 <sup>DE</sup>	2.335
	Selenio+ vitamina B <sub>12</sub>	38.08 <sup>DE</sup>	4.992
M <sub>3</sub>	Control	37.009 <sup>E</sup>	2.170
	Vitamina B <sub>12</sub>	37.17 <sup>E</sup>	2.405
	Selenio+ vitamina B <sub>12</sub>	37.123 <sup>E</sup>	2.034

M<sub>0</sub>: refrigeración, M<sub>1</sub>: un mes de congelación, M<sub>2</sub>: dos meses de congelación, M<sub>3</sub>: tres meses de congelación. ABCDE Diferentes superíndices indican diferencias significativas (P < 0.05).

En este estudio la variación de a\* y b\* no fue estadísticamente diferente respecto al tratamiento, pero sí debido al tiempo (Cuadro 7). El parámetro a\* obtuvo los siguientes resultados: M<sub>0</sub>, 20.25 ± 1.03<sup>a</sup>; M<sub>1</sub>, 18.83 ± 0.85<sup>b</sup>; M<sub>2</sub>, 19.49 ± 5.38<sup>b</sup> y M<sub>3</sub>, 18.30 ± 0.98<sup>b</sup>. En lo reportado por Cozzi *et al.*, (2011), quienes suplementaron selenito de sodio, no encontraron efecto en el tratamiento aplicado, ni en los periodos en los que se realizaron los muestreos. En el parámetro b\*, se obtuvieron los siguientes resultados: M<sub>0</sub>, 8.13 ± 0.98<sup>a</sup>; M<sub>1</sub>, 0.87 ± 0.91<sup>b</sup>; M<sub>2</sub>, 0.86 ± 0.98<sup>b</sup>; M<sub>3</sub>, 0.99 ± 0.83<sup>b</sup>, estos son bajos, comparando estos resultados con los de Cozzi *et al.*, (2011), que el resultado más bajo que obtuvo fue 14.5 evaluado a los 11 días, no obtuvieron diferencias por tratamiento o en los periodos en los que se realizó el muestreo. El M<sub>0</sub> tuvo el valor más elevado respecto a los otros meses, este descendió drásticamente en M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> y M<sub>3</sub>, sin diferencia entre grupos.

El análisis de la diferencia de color con **DELTA E (ΔE)** es poco utilizado, pero se recomienda por autores como Mancini y Hunt (2005). El resultado del ΔE fue significativamente diferente en los tres muestreos: M<sub>1</sub>, 8.25 ± 1.01; M<sub>2</sub>, 10.11 ± 1.33 y M<sub>3</sub>, 10.691 ± 1.16. Delta E se modificó conforme avanzó el tiempo en congelación. Meléndez (2014) midió ΔE en *longissimus toraci* de cerdo y encontró diferencias (P > 0.05) a medida que transcurrió la congelación, a causa de la formación de escarcha superficial.

**Cuadro 10. Delta E en carne de los bovinos de cada grupos experimental control, vitamina B<sub>12</sub> y selenio + vitamina B<sub>12</sub>, durante la congelación.**

Mes	Muestra	Promedio	DS
M <sub>1</sub>	Control	7.810 <sup>D</sup>	0.972
	Vitamina B <sub>12</sub>	8.563 <sup>D</sup>	0.850
	Selenio+ vitamina B <sub>12</sub>	8.234 <sup>D</sup>	1.091
M <sub>2</sub>	Control	9.808 <sup>C</sup>	0.943
	Vitamina B <sub>12</sub>	10.210 <sup>BC</sup>	1.086
	Selenio+ vitamina B <sub>12</sub>	10.299 <sup>BC</sup>	1.776
M <sub>3</sub>	Control	9.986 <sup>C</sup>	1.485
	Vitamina B <sub>12</sub>	10.897 <sup>AB</sup>	0.814
	Selenio+ vitamina B <sub>12</sub>	11.081 <sup>A</sup>	0.861

M<sub>0</sub>: refrigeración, M<sub>1</sub>: un mes de congelación, M<sub>2</sub>: dos meses de congelación, M<sub>3</sub>: tres meses de congelación.  
<sup>ABCD</sup> Diferentes superíndices indican diferencias significativas (P < 0.05).

Estos datos indican que los tratamientos con vitamina B<sub>12</sub> protegieron de la oxidación a los pigmentos cárnicos en favor de la calidad de la carne a la vista del consumidor después de 3 meses de estar en congelación.

### Fuerza de corte (FC)

La variable fuerza de corte tuvo un comportamiento diferente durante los meses en que se evaluó (Cuadro 6), es decir tuvo resultados significativos respecto a los periodos en los que se realizó el muestreo. En el  $M_0$ , a la carne se le aplicó menor fuerza para lograr el corte g/F (gramos/fuerza):  $10599 \pm 3823^a$ . En el  $M_1$  se aplicó mayor fuerza al corte  $13583 \pm 4509^b$  g/F ( $M_0 > M_1$ ;  $P < 0.05$ ). La Fuerza de corte que se aplicó en  $M_2$  fue de  $11907 \pm 4,271^b$  en  $M_3$  fue de  $12305 \pm 3662^b$ . Se esperaba que el  $M_3$  tuviera la menor aplicación de fuerza de corte, por el tiempo transcurrido.

## Capacidad de Retención de Agua (CRA) en Carne

La capacidad de retención de agua se modificó conforme a los periodos en los que se realizó el muestreo; sin embargo, hubo una tendencia ( $P < 0.1$ ) para la interacción tratamiento tiempo (Cuadro 7). En  $M_0$  la carne tuvo un CRA promedio del 98.79 % ( $P < 0.05$ ) y fue el mayor respecto a los otros muestreos, conforme transcurrieron los meses bajó al 94.44 %.

**Cuadro 11. Porcentaje Capacidad de Retención de Agua (% CRA) en carne de los bovinos de los grupos experimental control, vitamina B<sub>12</sub> y selenio + vitamina B<sub>12</sub>, durante el tiempo congelación.**

Mes	Muestra	Promedio	DS
$M_0$	Control	99.12 <sup>A</sup>	3.34
	Vitamina B <sub>12</sub>	98.87 <sup>A</sup>	0.52
	Selenio+ vitamina B <sub>12</sub>	98.45 <sup>A</sup>	0.56
$M_1$	Control	94.12 <sup>B</sup>	2.89
	Vitamina B <sub>12</sub>	95.23 <sup>B</sup>	2.69
	Selenio+ vitamina B <sub>12</sub>	94.71 <sup>B</sup>	3.21
$M_2$	Control	95.39 <sup>B</sup>	1.56
	Vitamina B <sub>12</sub>	94.32 <sup>B</sup>	3.88
	Selenio+ vitamina B <sub>12</sub>	95.44 <sup>B</sup>	1.86
$M_3$	Control	94.64 <sup>B</sup>	2.00
	Vitamina B <sub>12</sub>	94.13 <sup>B</sup>	3.51
	Selenio+ vitamina B <sub>12</sub>	94.60 <sup>B</sup>	2.12

$M_0$ : refrigeración,  $M_1$ : un mes de congelación,  $M_2$ : dos meses de congelación,  $M_3$ : tres meses de congelación.  
<sup>AB</sup> Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

La refrigeración ( $M_0$ ) fue diferente ( $P < 0.05$ ) respecto a los otros muestreos (Cuadro, 11). Esto puede atribuirse al proceso de maduración de la carne y a la transición del almacenamiento de refrigeración a congelación. Franco *et al.* (2008) y Mamani *et al.* (2011) reportan una CRA (%) del  $84.2 \pm 0.8$  y  $83.12 \pm 2.74$ , con un día de maduración en refrigeración, valores menores a lo reportado en este estudio. Sin embargo, Bruwer *et al.* (1987) y Purchas (1990) reportan una CRA de 71 a 74 % en bovinos. El almacenamiento pudo haber afectado a la carne que estaba en refrigeración ( $M_0$ ) al disminuir la temperatura y la circulación del aire al congelarla, se afectó el parámetro de CRA en  $M_1$ , por la formación de cristales, pero esta CRA no se modificó en  $M_2$  y  $M_3$ , porque ya no hubo variación de temperatura; es decir, el efecto y daño en la estructura por la formación de cristales en la

carne ocurrió durante la transición de refrigeración a congelación (de  $M_0$  a  $M_1$ ). Además, otros autores mencionan que la ausencia de diferencias significativas puede deberse a la escasa variación en el pH de la carne 24 horas después del sacrificio ( $\text{pH } 24\text{h} = 5.63 \pm 0.2$ ) ya que la carne no llega a valores superiores de 5.8 (Purchas, 1990; Franco *et al.*, 2008).

## Humedad

En el porcentaje de humedad se observó una variación respecto a los periodos en los que se realizó el muestreo de la carne que se almacenó. En  $M_0$  (carne en refrigeración) el porcentaje de humedad fue alto, conforme avanzó el tiempo y la carne se mantuvo en congelación, en el  $M_3$  la humedad descendió ( $P < 0.05$ ), aunque sin diferencias significativas entre grupos. Estos son los resultados:  $M_0$ ,  $73.11 \pm 1.64^A$ ;  $M_1$ ,  $71.51 \pm 2.60^A$ ;  $M_2$ ,  $70.72 \pm 3.62^A$ ;  $M_3$ ,  $58.72 \pm 6.41^B$ . En trabajos realizados por Mamani *et al.* (2011) y Rodríguez *et al.* (2013) el porcentaje de humedad ( $73.49 \pm 72.1$ ) coincide con los valores de este trabajo ( $M_0$ ,  $M_1$ ,  $M_2$ ). Sin embargo, para el  $M_3$  el porcentaje de humedad bajó 17 %, respecto al de  $M_2$ , quizás por la pérdida de estabilidad de la estructura de la carne y por lo tanto la capacidad de retención de agua se afectó, provocando mayor exudado, no hubo diferencia significativa en  $M_0$ ,  $M_1$  y  $M_2$ .



## IX. Conclusiones

- La suplementación subcutánea de selenio y vitamina B<sub>12</sub> mejoró el comportamiento de los parámetros pH, L\* y CRA en la carne de novillos sometida a congelación, prolongando la vida de anaquel y su valor para el consumidor.
- Los parámetros a\*, b\*, FC, humedad, tuvieron un efecto en repuesta a los periodos en los que se realizó los muestreos M<sub>0</sub>, M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> y M<sub>3</sub>.
- Los periodos en los que se realizaron los muestreos, influyeron en la concentración de selenio en los novillos suplementados y controles, tanto para las determinaciones realizadas en sangre como en carne.
- Los periodos en los que se realizaron los muestreos influyeron en la concentración de glutatión en los novillos suplementados y controles, tanto para las determinaciones realizadas en plasma como en carne.
- La aplicación de vitamina B12 y Se no afectó las sustancias reactivas a TBARS, que se mantuvieron sin cambios en el tiempo.

## X. Bibliografía

- Abdelghany-Hefnawy, E. G., & Tórtora-Pérez, J. L. (2010). The importance of selenium and the effects of its deficiency in animal health. *Small Ruminant Research*, 89(2-3), 185-192.
- Abdelghany-Hefnawy, E. G., López-Arellano, R., Revilla-Vázquez, A., Ramírez-Briebesca, E., & Tórtora-Pérez, J. (2007). The relationship between fetal and maternal selenium concentrations in sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 73(1-3), 174-180.
- Albertí, P., Ripoll, G., Casasús, I., Blanco, M., Chapullé, J. L. G., & Santamaría, J. (2005). Efecto de la inclusión de antioxidantes en dietas de acabado sobre la calidad de la carne de terneros. *ITEA*, 101(2), 91-100.
- Ammerman, C. B., & Miller, S. M. (1975). Selenium in ruminant nutrition: a review. *Journal of dairy science*, 58(10), 1561-1577.
- Arthur, J. R., & McKenzie, R. C. (2003). BG. Selenium in the immune system. *J Nutr [Internet]*, 133(5).
- Becker, T. (2000). Consumer perception of fresh meat quality: a framework for analysis. *British Food Journal*, 102(3), 158-176.
- Beckett, G. J., & Arthur, J. R. (2005). Selenium and endocrine systems. *Journal of endocrinology*, 184(3), 455-465.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Broome, C. S., McArdle, F., Kyle, J. A., Andrews, F., Lowe, N. M., Hart, C. A., ... & Jackson, M. J. (2004). An increase in selenium intake improves immune function and poliovirus handling in adults with marginal selenium status. *The American journal of clinical nutrition*, 80(1), 154-162.
- Brown, K. M., & Arthur, J. R. (2001). Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public health nutrition*, 4(2b), 593-599.
- Bruwer, G. G., Naude, R. T., Du Toit, M. M., Cloete, A., & Vosloo, W. A. (1987). An evaluation of the lamb and mutton carcass grading system in the Republic of South Africa. 2. The use of fat measurements as predictors of carcass composition. *South African Journal of Animal Science*, 17(2), 85-89.
- Cabrera, M. C., Ramos, A., Saadoun, A., & Brito, G. (2010). Selenium, copper, zinc, iron and manganese content of seven meat cuts from Hereford and Braford steers fed pasture in Uruguay. *Meat Science*, 84(3), 518-528.
- CIE (Commission Internationale de l'Eclairage). (1986). *Colorimetry*, 2nd Ed. Viena.
- CIE, O. (1976). Official recommendations on uniform color space, color difference equations and metric color terms. *Colorimetry*.
- Codex alimentarius*. (2005). Alimentos producidos orgánicamente. Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias, segunda edición.
- Combs Jr, G. F., & Combs, S. B. (1986). *The role of selenium in nutrition*. Selenium in the environment Academic Press, Inc. 15-40.
- Cozzi, G., Prevedello, P., Stefani, A. L., Piron, A., Contiero, B., Lante, A., ... & Chevaux, E. (2011). Effect of dietary supplementation with different sources of selenium on growth response, selenium blood levels and meat quality of intensively finished Charolais young bulls. *Animal*, 5(10), 1531-1538
- Descalzo, A. M., & Sancho, A. M. (2008). A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79(3), 423-436.

- Edens, F. W. (1996). Organic selenium: From feathers to muscle integrity to drip loss. Five years onward: No more selenite. In *Biotechnology in the Feed industry. Proceedings of 12th Alltech's Annual Symposium* (Ed. TP Lyons and. KA Jacques). Nottingham University Press, Nottingham, UK (pp. 165-185).
- Esworthy, R. S., Chu, F. F., Geiger, P., Girotti, A. W., & Doroshov, J. H. (1993). Reactivity of plasma glutathione peroxidase with hydroperoxide substrates and glutathione. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 307(1), 29-34.
- Faustman, C., Sun, Q., Mancini, R., & Suman, S. P. (2010). Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. *Meat science*, 86(1), 86-94.
- Feldhusen, F., & Kühne, M. (1992). Effects of ultrarapid chilling and ageing on length of sarcomeres, and tenderness of pork. *Meat science*, 32(2), 161-171.
- Franco, J., Feed, O., Bianchi, G., Garibotto, G., Ballesteros, F., Nan, F., ... & Bentancur, O. (2008). Parámetros de calidad de carne en cinco músculos de novillos Holando durante la maduración post-mortem. II. Evolución del color durante su almacenamiento. *Agrociencia-Sitio en Reparación*, 12(1), 69-73
- Gatellier, P., Mercier, Y., & Renner, M. (2004). Effect of diet finishing mode (pasture or mixed diet) on antioxidant status of Charolais bovine meat. *Meat Science*, 67(3), 385-394.
- Gerloff, B. J. (1992). Effect of selenium supplementation on dairy cattle. *Journal of animal science*, 70(12), 3934-3940
- Gleason-Huerta, M. E. (2004). Sustentante Desarrollo y optimización de los métodos de digestión acida en horno de microondas para la cuantificación de selenio en muestras biológicas. TESIUNAM.
- Glitsch K., (2000). Consumer perceptions of fresh meat quality: Cross-national comparison. *Brit. Food J.* 102:177-194.
- Gómez S., Cerón C., Rodríguez M., Vázquez A., (2007). Temas selectos de ingeniería de alimentos 1: 80 – 96.
- González, L., Moreno, T., Bispo, E., Dugan, M. E., & Franco, D. (2014a). Effect of supplementing different oils: Linseed, sunflower and soybean, on animal performance, carcass characteristics, meat quality and fatty acid profile of veal from "Rubia Gallega" calves. *Meat Science*, 96(2), 829-836.
- González, M. I., Mesa, C. A., & Quintero, O. A. (2014b). Estimación de la vida útil de almacenamiento de carne de res y de cerdo con diferente contenido graso. *Vitae*, 21(3).
- Grau, R., & Hamm, R. (1953). Eine einfache methode zur bestimmung der wasserbindung im muskel. *Naturwissenschaften*, 40(1), 29-30.
- Hamliri, A., Johnson, D. W., Kessabi, M., & Olson, W. G. (1990). The evaluation of selenium status of sheep from the major production areas of Morocco. In *Annales de Recherches Vétérinaires* (Vol. 21, No. 2, pp. 137-142).
- Hernández, P., López, A., Marco, M., & Blasco, A. (2010). Influence of muscle type, refrigeration storage and genetic line on antioxidant enzyme activity in rabbit meat. *World Rabbit Science*, 10(4), 141-146.
- Hernández, P., Zomeno, L., Ariño, B., & Blasco, A. (2004). Antioxidant, lipolytic and proteolytic enzyme activities in pork meat from different genotypes. *Meat Science*, 66(3), 525-529.
- Ho, W. Z., Starr, S. E., Sison, A., & Douglas, S. D. (1997). L-2-oxothiazolidine-4-carboxylic acid inhibits human immunodeficiency virus type 1 replication in mononuclear phagocytes and lymphocytes. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 4(3), 352-357.
- Holben, D. H., & Smith, A. M. (1999). The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. *Journal of the American Dietetic Association*, 99(7), 836-843.
- Hu, M. L. (1994). [41] Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. In *Methods in enzymology*. Academic Press, 233:380-385.
- Hui Y., Guerrero L., Rosmini R., (2006). Ciencia y tecnología de carnes. Ed. Limusa.

- Joo, S. T., Kauffman, R. G., KIM, B. C., & KIM, C. J. (1995). The relationship between color and water-holding capacity in postrigor porcine longissimus muscle. *Journal of Muscle Foods*, 6(3), 211-226.
- Joo, S. T., Kim, G. D., Hwang, Y. H., & Ryu, Y. C. (2013). Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. *Meat science*, 95(4), 828-836.
- Juniper, D. T., Phipps, R. H., Ramos-Morales, E., & Bertin, G. (2008). Effect of dietary supplementation with selenium-enriched yeast or sodium selenite on selenium tissue distribution and meat quality in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 86(11), 3100-3109.
- Karmas, E., & Turk, K. (1976). Water binding of cooked fish in combination with various proteins. *Journal of Food Science*, 41(4), 977-979.
- Koenig, K. M., Shelford, J. A., & Buckley, W. T. (1991). True absorption of selenium in dairy cows: stable isotope tracer methodology and effect of dietary copper. *Canadian journal of animal science*, 71(1), 175-183.
- Köhrle, J., Brigelius-Flohé, R., Böck, A., Gärtner, R., Meyer, O., & Flohé, L. (2000). Selenium in biology: facts and medical perspectives. *biological chemistry*, 381(9-10), 849-864.
- Lawrie, R. A., & Ledward, D. A. (2006). *Lawrie's meat science*. CRC Seventh English edition.
- Lee, S. H., Joo, S. T., & Ryu, Y. C. (2010). Skeletal muscle fiber type and myofibrillar proteins in relation to meat quality. *Meat science*, 86(1), 166-170.
- Lee, S. H., Park, B. Y., Yeo, J. M., Lee, S. S., Lee, J. H., & Ha, J. K. (2006). Effects of different selenium sources on performance, carcass characteristics, plasma LAsian-australasian journal of animal sciences, 20(2), 229-236.
- Lonergan, E. H., Zhang, W., & Lonergan, S. M. (2010). Biochemistry of postmortem muscle—Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat science*, 86(1), 184-195.
- López-Gutiérrez, A. G., Ramírez-Bribiesca, J. E., López-Arellano, R., Revilla-Vázquez, A., Tórtora-Pérez, J., & Bárcena-Gama, J. R. (2012). Balance de selenio en corderos suplementados con selenio orgánico. *Universidad y ciencia*, 28(2), 173-180.
- Luna, A. M., Vidal, M. G. R., Martínez, F. J. P., & Martínez, J. S. M. (1997). Efecto de la suplementación con selenio orgánico y vitaminas E y C en dietas de engorde de ganado porcino sobre parámetros productivos y de calidad de la canal y de la carne. *An Vet (Murcia)*. 13-14:89-100.
- Mackintosh, C. G., Gill, J., & Turner, K. (1989). Selenium supplementation of young red deer (*Cervus elaphus*). *New Zealand veterinary journal*, 37(4), 143-145.
- Mahan, D. C., & Parrett, N. A. (1996). Evaluating the efficacy of selenium-enriched yeast and sodium selenite on tissue selenium retention and serum glutathione peroxidase activity in grower and finisher swine. *Journal of Animal Science*, 74(12), 2967-2974.
- Mahan, D. C., Cline, T. R., & Richert, B. (1999). Effects of dietary levels of selenium-enriched yeast and sodium selenite as selenium sources fed to growing-finishing pigs on performance, tissue selenium, serum glutathione peroxidase activity, carcass characteristics, and loin quality. *Journal of Animal Science*, 77(8), 2172-2179.
- Mamani-Linares, L. W., & Gallo, C. (2011). Composición química y calidad instrumental de carne de bovino, llama (lama glama) y caballo bajo un sistema de crianza extensiva. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 22(4), 301-311.
- Mancini, R. A., & Hunt, M. (2005). Current research in meat color. *Meat science*, 71(1), 100-121.
- Marí, M., Caballero, F., Colell, A., Morales, A., Caballeria, J., Fernandez, A., & García-Ruiz, C. (2006). Mitochondrial free cholesterol loading sensitizes to TNF-and Fas-mediated steatohepatitis. *Cell metabolism*, 4(3), 185-198.
- Martínez Sarrasague, M., Barrado, D. A., Zubillaga, M., Hager, A., De Paoli, T., & Boccio, J. (2006). Conceptos actuales del metabolismo del glutatión Utilización de los isótopos estables para la evaluación de su homeostasis. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 40(1): 45-54.
- Mateo, J. (2007). Estabilidad del color de la carne fresca. *Nacameh*, 1(1), 67-74.

- McAfee, A. J., McSorley, E. M., Cuskelly, G. J., Moss, B. W., Wallace, J. M., Bonham, M. P., & Fearon, A. M. (2010). Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat science*, 84(1), 1-13.
- Meléndez P., Rosas M., Llorente B., Arjona R. (2017). Analysis of the color profile and shear force in ultrasonicated pork meat (*Longissimus thoracis*). *Interciencia* 42: 22-32.
- Meléndez Pérez, R. (2014). Análisis termodinámico de la cristalización y recristalización de agua en lomo de cerdo (*Longissimus dorsi*) durante la congelación a velocidad variable (Doctoral dissertation).
- Miller, E. R., Lei, X., & Ullrey, D. E. (1991). Trace Elements in Animal Nutrition. *Micronutrients in Agriculture*, (micronutrientsi2), 593-662.
- Monsón, F., Sañudo, C., & Sierra, I. (2005). Influence of breed and ageing time on the sensory meat quality and consumer acceptability in intensively reared beef. *Meat science*, 71(3), 471-479.
- Muchenje, V., Dzama, K., Chimonyo, M., Strydom, P. E., Hugo, A., & Raats, J. G. (2009). Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. *Food chemistry*, 112(2), 279-289.
- National Research Council, National Research Council Staff, . Committee on Animal Nutrition, . Board on Agriculture, National Research Council, & . National Academy of Sciences. (2000). *Nutrient requirements of beef cattle: Update 2000*. National Academies Press.
- Nielsen, S. S. (2003). Study Questions Moisture and Total Solids Analysis. *Instructor's Manual for Food Analysis*, 23-28.
- NMX-F-317-S-1978. Determinación de pH en alimentos. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- NMX-F-544-1992. Alimentos. Método de prueba para la determinación de humedad en productos cárnicos. foods test method for moisture determination in meat products. normas mexicanas. Dirección General de Normas.
- NOM-009-ZOO-1994 Modificada. Proceso sanitario de la carne. Publicada en el Diario Oficial de la Federación.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, 95(2), 351-358
- OMS. (2003). *Selenium in drinking-water*. Documento de referencia para la elaboración de las Guías de la OMS para la calidad del agua potable. Ginebra (Suiza), Organización Mundial de la Salud (WHO/SDE/WSH/03.04/13).
- Ouali, A., Herrera-Mendez, C. H., Coulis, G., Becila, S., Boudjellal, A., Aubry, L., & Sentandreu, M. A. (2006). Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat science*, 74(1), 44-58.
- Pan, C., Huang, K., Zhao, Y., Qin, S., Chen, F., & Hu, Q. (2007). Effect of selenium source and level in hen's diet on tissue selenium deposition and egg selenium concentrations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 1027-1032.
- Ponce A., Braña V., López H., Delgado S. (2013). Evaluación de la frescura de la carne, SAGARPA. 32-54.
- Purchas, R. W. (1990). An assessment of the role of pH differences in determining the relative tenderness of meat from bulls and steers. *Meat science*, 27(2), 129-140.
- Rahman, M. S., & Velez-Ruiz, J. F. (2004). Food preservation by freezing. *Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker-*, 167, 635.
- Ramírez, B., (2008). Suplementación de selenio en áreas deficientes de México. Fortalecimiento del sistema producto ovino. *Tecnologías para Ovinocultores. Serie: Alimentación*. 21-25.
- Rayman, M. P. (2002). The argument for increasing selenium intake. *Proceedings of the nutrition Society*, 61(2), 203-215.
- Renner, M., Dumont, F., & Gatellier, P. (1996). Antioxidant enzyme activities in beef in relation to oxidation of lipid and myoglobin. *Meat Science*, 43(2), 111-121.

- Rodríguez Echevarría, M. E., Corral-Flores, G., Solorio Sánchez, B., Alarcón Rojo, A. D., Grado-Ahuir, J. A., Rodríguez-Muela, C., & Solorio Sánchez, F. J. (2013). Calidad de la carne de bovinos engordados en un sistema silvopastoril intensivo en dos épocas del año. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 16(2): 235 – 241.
- Rotruck, J. T., Pope, A. L., Ganther, H. E., Swanson, A. B., Hafeman, D. G., & Hoekstra, W. (1973). Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, 179(4073), 588-590.
- Ruíz, D. J. M. (2015). La calidad de la carne en porcino. *Tecnología de Alimentos*. 2: 32-48.
- Ruíz, J., Martín, D., & Ventanas, S. (2004). La calidad de la carne en porcino. Disponible en URL: [https://www.researchgate.net/profile/Jorge\\_Ruiz\\_Carrascal/publication/220036858\\_Meat\\_quality\\_in\\_swine/links/53e0b7be0cf24f90ff60a762.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Jorge_Ruiz_Carrascal/publication/220036858_Meat_quality_in_swine/links/53e0b7be0cf24f90ff60a762.pdf). Fecha de consulta, 10(11), 2016.
- Salinas, G. (2010). Bioquímica de la selenocisteína, el 21er aminoácido, y rol de las selenoproteínas en la salud humana. *Mensaje Bioquímico*, 34, 121-133.
- San-Miguel, A., & Martín-Gil, F. J. (2009). Importancia de las especies reactivas al oxígeno (radicales libres) y los antioxidantes en clínica. *Gaceta Médica de Bilbao*, 106(3), 106-113.
- Sañudo, C., Alberti, P., Campo, M. M., Olleta, J. L., & Panea, B. (1998). Calidad instrumental de la carne de bovino de siete razas españolas. *Archivos de Zootecnia*, 48, 397-402.
- Shi, B., & Spallholz, J. E. (1994). Selenium from beef is highly bioavailable as assessed by liver glutathione peroxidase (ec 1- 11- 1- 9) activity and tissue selenium. *British Journal of Nutrition*, 72(6), 873-881.
- Silva Sobrinho, A. G. D., Purchas, R. W., Kadim, I. T., & Yamamoto, S. M. (2005). Características de qualidade da carne de ovinos de diferentes genótipos e idades ao abate. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 1070-1078.
- Singh, R. P., & Heldman, D. R. (2001). *Introduction to food engineering*. Gulf Professional Publishing.
- Stevens, J. B., Olson, W. G., Kraemer, R., & Archambeau, J. (1985). Serum selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in cattle grazing forages of various selenium concentrations. *American journal of veterinary research*, 46(7), 1556-1560.
- Stowe, H. D., & Herdt, T. H. (1992). Clinical Assessment of selenium status of livestock. *Journal of Animal Science*, 70(12), 3928-3933.
- Taylor, J., Lawler, T., Finley, J., & Caton, J. (2003). Effect of high selenium feeds on selenium status in finishing beef steers. In *Western Section of Animal Science Proceedings*. 53.
- Torres, J. D., González-Morelo, K., & Acevedo, D. (2015). Análisis del perfil de textura en frutas, productos cárnicos y quesos. *Revista RECITEIA: Revisiones de la Ciencia, Tecnología e Ingeniería de los Alimentos*, 14(2), 63-75.
- Tórtora J. (2012). Deficiencia de Selenio. *Rev. Ciencia y Desarrollo*.
- Troy, D. J., & Kerry, J. P. (2010). Consumer perception and the role of science in the meat industry. *Meat science*, 86(1), 214-226.
- Tsai, T. C., & Ockerman, H. W. (1981). Water binding measurement of meat. *Journal of Food Science*, 46(3), 697-701.
- Umaña Cerros, E. (2010). *Conservación de Alimentos por Frío Refrigeración / Congelamiento*. Universidad de Belgrano. <https://docplayer.es/17647965-Conservacion-de-alimentos-por-frio-refrigeracion-congelamiento-eduardo-umana-cerros-ing.html>.
- Underwood, E. J., & Suttle, N. F. (1983). *Los minerales en la nutrición del ganado* (No. 636.084 UNDmE 2a. ed). Zaragoza: Acribia.
- Van Vleet, J. F. (1982). Amounts of eight combined elements required to induce selenium-vitamin E deficiency in ducklings and protection by supplements of selenium and vitamin E. *American journal of veterinary research*, 43(6), 1049.

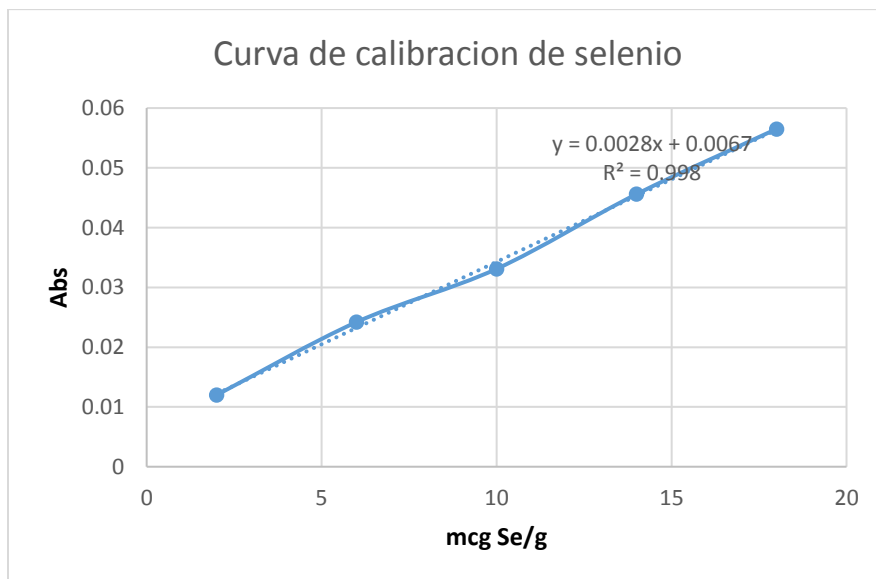
- Viglierchio, M. D. C. (2014). Aportes de La bioquímica a la interpretación del metabolismo del cobalto. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLPam, 22-28.
- Visioli, F., Bellomo, G., Galli, C. (1998). Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 247: 60-64.
- Warner, R. D., Kauffman, R. G., & Greaser, M. L. (1997). Muscle protein changes post mortem in relation to pork quality traits. *Meat science*, 45(3), 339-352.
- Weaver, A., Jouault, L., Bowker, B., Grant, A., & Gerrard, D. (2007). Sarcomeric thick and thin filament overlap influences postmortem proteolysis. *Midwestern Section of the American Society of Animal Science*, (120). 85: 81-81
- Whanger, P. D. (2002). Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. *Journal of the American College of Nutrition*, 21(3), 223-232.
- Wheatley, L. E., & Beck, N. F. G. (1988). The influence of season and husbandry on the selenium status of sheep in a deficient area. *British Veterinary Journal*, 144(3), 246-252.
- Wirth F. (1987). Tecnología para la transformación de carne de calidad anormal. *Fleischwirtschaft español* 1: 22-28.
- Zhan, X., Wang, M., Zhao, R., Li, W., & Xu, Z. (2007). Effects of different selenium source on selenium distribution, loin quality and antioxidant status in finishing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 132(3-4), 202-211.
- Zhang, S. X., Farouk, M. M., Young, O. A., Wieliczko, K. J., & Podmore, C. (2005). Functional stability of frozen normal and high pH beef. *Meat science*, 69(4), 765-772.

## XI. Anexos

### Anexo 1. Técnica de espectrofotometría de absorción atómica para cuantificación de Se

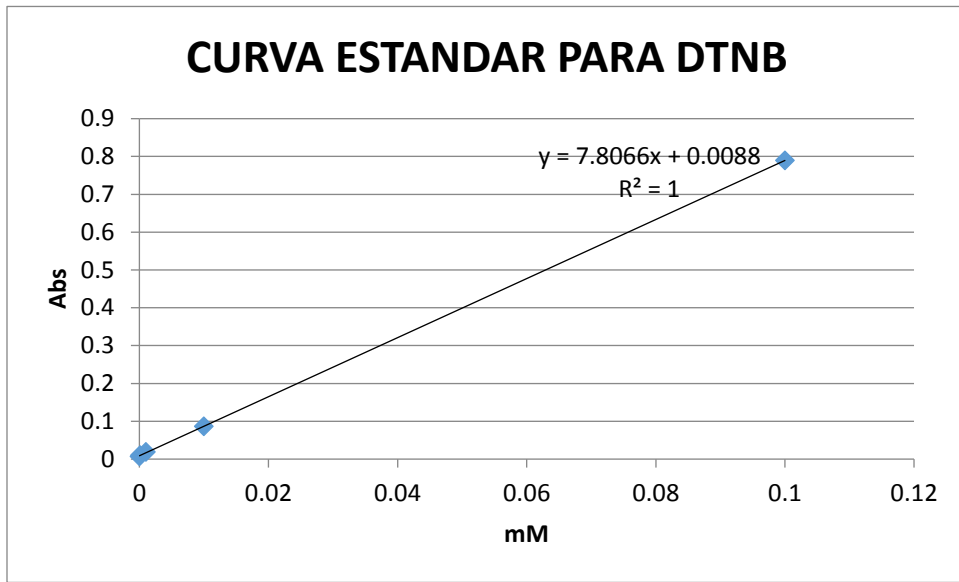
En las muestras de sangre descongeladas se utilizó una micropipeta de capacidad 100-1000  $\mu\text{l}$  para tomar la muestra y pesar 0.5g en un vaso de teflón para microondas. Luego se colocó en el vaso de teflón 5 mL de agua Mili Q, después se adicionaron 2.5 mL de ácido nítrico concentrado y después de 1 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30 %. Se dejó reposar por 30 minutos; se montaron los vasos en las chaquetas del carrusel para Horno de microondas. Se sometieron a digestión ácida en el horno de microondas MARS-digestión CEM. Posteriormente se sacaron los vasos y se dejó enfriar. Se vaciaron las muestras a los matraces de 25 mL, se llevó a la marca de aforo con HCL 7M. Se leyeron las muestras y la curva de referencia en el espectrofotómetro de absorción atómica con generador de hidruros **Varian AA-400**.

### Anexo 2. Curva de calibración de selenio

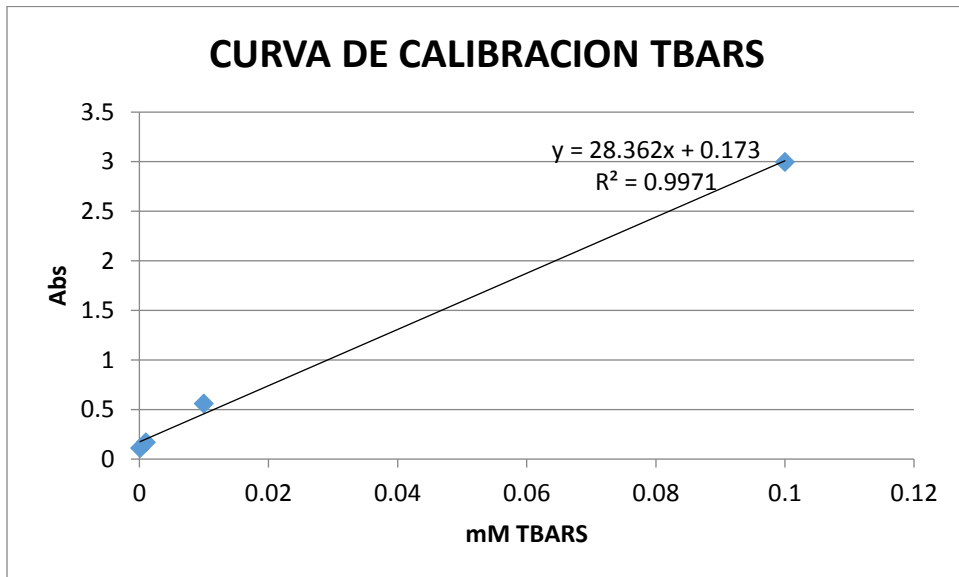




### Anexo 3. Curva de calibración de Glutación total



### Anexo 4. Curva de calibración de TBARS



## Anexo 5 Procedimiento para realizar la actividad de glutatión peroxidasa

**SIGMA-ALDRICH®**

sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA  
Tel: (800) 521-8956 (314) 771-5765 Fax: (800) 325-5052 (314) 771-5757  
email: techservice@sigma.com sigma-aldrich.com

### Product Information

#### Glutathione Peroxidase Cellular Activity Assay Kit

Catalog Number **CGP1**

Storage Temperature  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$

### TECHNICAL BULLETIN

#### Product Description

Glutathione peroxidase (GPx, EC 1.11.1.9) provides a mechanism for detoxification of peroxides in living cells.<sup>1,2</sup> This reaction plays a crucial role in protecting cells from damage by free radicals, which are formed by peroxide decomposition. Lipid components of the cell are especially susceptible to reactions with free radicals, resulting in lipid peroxidation. GPx enzymes reduce peroxides to alcohols using glutathione, thus preventing the formation of free radicals.

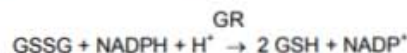
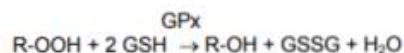
GPx enzymes will catalyze the reduction of hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) and a wide variety of organic peroxides (R-OOH) to the corresponding stable alcohols (R-OH) and water using cellular glutathione as the reducing reagent.

Most cellular glutathione peroxidases are tetrameric enzymes consisting of four 22 kDa monomers, each of which contains a selenocysteine moiety in the active site.<sup>2</sup> The selenocysteine participates directly in electron donation to the peroxide substrate and becomes oxidized in the process. The enzyme then uses reduced glutathione as a hydrogen donor to regenerate the selenocysteine. GPx enzymes also exist as non-selenium (non-Se) containing enzymes.<sup>3</sup>

Cellular GPx is present in all tissues; however, various diseases may influence its level. An increase in the level of glutathione peroxidase has been observed in reticulocytes of diabetic rats. The level returned to normal after administration of insulin.<sup>4</sup> A decrease in the level of the enzyme has been observed in patients suffering from diseases such as Favism<sup>7</sup> (a disease associated with extreme hemolytic crisis) or hairy cell leukemia.<sup>8</sup>

This kit uses an indirect determination method. It is based on the oxidation of glutathione (GSH) to oxidized glutathione (GSSG) catalyzed by GPx, which is then coupled to the recycling of GSSG back to GSH utilizing glutathione reductase (GR) and NADPH ( $\beta$ -Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, Reduced).

The decrease in NADPH absorbance measured at 340 nm during the oxidation of NADPH to  $\text{NADP}^+$  is indicative of GPx activity, since GPx is the rate limiting factor of the coupled reactions.<sup>1,6</sup>



GPx is glutathione peroxidase, GR is glutathione reductase, and R-OOH is an organic peroxide.

The reaction is performed at  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  and pH 8.0,<sup>10</sup> and is started by adding an organic peroxide, *tert*-butyl hydroperoxide (*t*-Bu-OOH).<sup>11</sup> This substrate is suitable for the assay since its spontaneous reaction with GSH is low and it is not metabolized by catalase. The reaction with *tert*-butyl hydroperoxide measures the amount of selenium-containing glutathione peroxidase activity present.

If the presence of non-Se enzymes is suspected, cumene hydroperoxide can be used as the substrate at a concentration of 0.25–1.0 mM.<sup>4,5</sup> This will measure the total GPx (Se and non-Se enzymes) activity. The difference between the activity observed with cumene hydroperoxide and the *tert*-butyl hydroperoxide activity is the non-Se glutathione peroxidase activity.

### Reagents provided

Sufficient for 100 tests

- Glutathione Peroxidase Assay Buffer, 120 ml  
Catalog Number G8664  
50 mM Tris HCl, pH 8.0,  
containing 0.5 mM EDTA
- NADPH Assay Reagent, 5 vials  
Catalog Number N5283  
When reconstituted with 1.25 ml of water,  
each vial will prepare a solution containing  
5 mM NADPH, 42 mM reduced glutathione,  
and 10 units/ml of glutathione reductase
- Luperox<sup>®</sup> TBH70X 1 ml  
Catalog Number 458139  
70% aqueous solution of *tert*-Butyl Hydroperoxide

### Reagents and equipment required but not provided

- UV/Vis spectrophotometer with thermostated  
cuvette holder and a kinetic program
- Quartz cuvette
- Cumene hydroperoxide, Catalog Number 513296, if  
total GPx level is to be measured.
- Glutathione peroxidase, Catalog Number G6137,  
for use as control enzyme
- Human immunoglobulin G, Catalog Number I4506,  
and dithiothreitol, Catalog Number D0632, for use  
with the control enzyme glutathione peroxidase

### Precautions and Disclaimer

This product is for R&D use only, not for drug,  
household, or other uses. Please consult the Material  
Safety Data Sheet for information regarding hazards  
and safe handling practices.

### Storage/Stability

Store the kit at -20 °C. If daily use of the kit is needed,  
the assay buffer and *tert*-butyl hydroperoxide may be  
stored for convenience at 2-8 °C. The components in  
this kit are stable for 24 months when unopened.

### Preparation Instructions

**Glutathione Peroxidase Assay Buffer** – Bring a suitable  
aliquot to room temperature. For long term stability of  
the solution after opening, handle the solution in an  
aseptic manner.

**NADPH Assay Reagent** – Reconstitute 1 vial in 1.25 ml  
of water. Store the solution at 2-8 °C. This  
reconstituted solution should be used within 3 hours.  
Each vial is sufficient for at least 20 tests. Do not freeze  
the solution for reuse.

**30 mM *tert*-Butyl Hydroperoxide Solution** – Dilute  
21.5 µl of Luperox TBH70X, Catalog Number 458139,  
to a total volume of 5 ml with water to prepare a 30 mM  
*tert*-Butyl Hydroperoxide solution.

**Glutathione Peroxidase Standard** (not supplied) –  
Dissolve a 100 unit vial of glutathione peroxidase,  
Catalog Number G6137, in 1 ml of Glutathione  
Peroxidase Assay Buffer. Dilute to 0.25 unit/ml with  
Glutathione Peroxidase Assay Buffer supplemented  
with 1 mg/ml IgG, Catalog Number I4506, and 1 mM  
Outlook.com Number D0632.

### Notes:

- The Glutathione Peroxidase Standard is used as a  
qualitative positive control to assure the reaction is  
working. The 100 units/ml solution is diluted  
400-fold to a Working Stock Solution of  
0.25 units/ml. Use 20-50 µl of the Working Stock  
Solution in the reaction to obtain values within the  
linear range of 0.005-0.02 units per reaction  
volume of 1 ml. This is equivalent to an absorbance  
decrease of 0.032-0.13 per minute.
- The IgG is required for stabilization of the enzyme.  
It is only required in cases of very pure and dilute  
enzyme solutions.

**Sample preparation** – Dilute crude biological samples in  
Glutathione Peroxidase Assay Buffer.

### Notes:

- Perform several dilutions of the sample for use in  
the reaction in order to obtain results within the  
linear range.
- The final concentration of the reagents in the assay  
mixture is 0.25 mM NADPH, 2.1 mM reduced  
glutathione, 0.5 unit/ml glutathione reductase, and  
300 µM *t*-Bu-OOH.

### Procedure

Tissue extracts may contain enzymes that utilize NADPH and skew the results. A blank without *t*-Bu-OOH can be used as a control for these endogenous activities. When liver samples are analyzed, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> should be used to start the reaction (0.15–0.30 mM solution) since *t*-Bu-OOH is also a substrate for glutathione S-transferase. In this case, catalase must be blocked by addition of 1 mM NaN<sub>3</sub> in the reaction mixture.<sup>12</sup> In addition, when using H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> instead of *t*-Bu-OOH, the pH of the Glutathione Peroxidase Assay Buffer should be adjusted to pH 7.0 with HCl. At a pH greater than 7.0 there will be a spontaneous reaction of hydrogen peroxide with reduced glutathione.

High concentrations of reducing agents such as DTT or 2-mercaptoethanol (>0.1 mM final concentration in the assay system) will depress the measured activity by ~40% at 0.15 mM and up to 70% at 1 mM concentration in the assay. EDTA at 5 mM in the assay will depress the activity by ~50%.

Nonionic detergents such as TWEEN® 20 and Triton™ X-100 that contain high levels of endogenous peroxides will raise the apparent activity. If these detergents are vital to the extraction of the proteins of interest, a low peroxide detergent should be used, such as Catalog Numbers X100PC (Triton X-100), P6585 (TWEEN 20), or P8192 (TWEEN 80).

1. Pipette the volume of Glutathione Peroxidase Assay Buffer indicated in Table 1 into a 1 ml quartz cuvette. Keep the temperature of the assay buffer in the spectrophotometer at 25 °C by using a thermostated cell holder.

**Table 1.**  
Glutathione Peroxidase Reaction Scheme

	GPx Assay Buffer (μl)	NADPH Assay Reagent (μl)	Enzyme (0.25 units/ml) (μl)	Sample (μl)	30 mM <i>t</i> -Bu-OOH (μl)
Blank	940	50	–	–	10
Positive control	890–920	50	20–50	–	10
Sample	890–930	50	–	10–50	10

2. Add 50 μl of the NADPH Assay Reagent and 10–50 μl of sample or 20–50 μl of enzyme to the cuvette and mix by inversion. The total volume in the cuvette should be 1.00 ml.
3. Start the reaction by addition of 10 μl of the 30 mM *tert*-Butyl Hydroperoxide Solution. Mix by inversion.
4. Follow the decrease in absorbance at 340 nm using a kinetic program. The following program is recommended:  
Wavelength: 340 nm  
Initial delay: 15 seconds  
Interval: 10 seconds  
Number of readings: 6
5. Calculate the amount of enzyme in the sample.

### Calculation

The spectrophotometer should give the A<sub>340</sub>/min from the reaction automatically. If the absorbance is measured manually, calculate this value for the blank, positive controls, and all samples.

Outlook.com | Glutathione Peroxidase in the sample can be calculated using the formula:

Activity per extract (mmol/min/ml = Units/ml)

$$\frac{\Delta A_{340} \times DF}{6.22 \times V}$$

$$\Delta A_{340} = A_{340}/\text{min}_{(\text{blank})} - A_{340}/\text{min}_{(\text{sample})}$$

$$6.22 = \epsilon^{mM} \text{ for NADPH}$$

DF = dilution factor of sample before adding to reaction

V = sample volume in ml

Unit definition: 1 unit of glutathione peroxidase will cause the formation of 1.0 μmol of NADP<sup>+</sup> from NADPH per minute at pH 8.0 at 25 °C in a coupled reaction in the presence of reduced glutathione, glutathione reductase, and *tert*-butyl hydroperoxide.

## References

1. Mannervik, B., *Methods in Enzymol.*, **113**, 490-495 (1985).
2. Ursini, F. *et al.*, *Methods in Enzymol.*, **252**, 38-52 (1995).
3. Wendel, A., in "Enzymatic Basis of Detoxification" Vol. 1, Academic Press (New York, NY: 1980) pp. 333-353.
4. Thomson, C.D., *Biochem. Int.*, **10**, 673-679 (1985).
5. Carmagnol, F. *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, **759**, 49-57 (1983).
6. Gupta, B.L., and Baquer, N.Z., *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **46**, 1145-1152 (1998).
7. Mavelli, I. *et al.*, *Eur. J. Biochem.*, **139**, 13-18 (1984).
8. Arruda, V.R. *et al.*, *Neoplasma*, **43**, 99-102 (1996).
9. Paglia, D.E., and Valentine, W.N., *J. Lab. And Clin. Med.*, **70**, 158-169 (1967).
10. Beutler, E. *et al.*, *Br. J. Haematol.*, **35**, 331-340 (1977).
11. Thomson, C.D. *et al.*, *Br. J. Nutr.*, **37**, 457-460 (1977).
12. Flohe, L., and Gunzler, W.W., *Methods in Enzymol.*, **105**, 114 -121 (1984).

Triton is a trademark of the Dow Chemical Co.  
TWEEN is a registered trademark of the ICI Group  
Luperox is a registered trademark of Arkema Inc.

EM,ESS,NDH,PHC,MAM 02/12-1

Outlook.com

Dietas utilizadas en cada etapa de desarrollo

Dieta recepción

Formula (Insumos)	Cantidad (kg)
<b>Maíz</b>	1665.855
<b>Pasta de soya</b>	24.390
<b>Aceite reciclado</b>	48.780
<b>Boste corral 25 amarilla</b>	60.975
<b>Total</b>	2000

Dieta de adaptación

Formula (Insumos)	Cantidad (kg)
<b>Maíz</b>	1395.35
<b>Pasta de soya</b>	197.674
<b>Desperdicio de pan</b>	348.837
<b>Engorda máxima</b>	58.837
<b>Total</b>	2000

Dieta finalización

Formula (Insumos)	Cantidad (kg)
<b>Maíz</b>	1394.949
<b>Pasta de soya</b>	197.674
<b>Desperdicio de pan</b>	348.837
<b>Engorda máxima</b>	58.140
<b>Zilpaterol</b>	0.400
<b>Total</b>	2000

Valores promedio de las variables medidas en carne de bovinos (4XX kg PV)

Tratamiento	MUESTREOS																							
	M0						M1						M2						M3					
	Control		Vitamina B <sub>12</sub>		Se + Vit.B <sub>12</sub>		Control		Vitamina B <sub>12</sub>		Se + Vit.B <sub>12</sub>		Control		Vitamina B <sub>12</sub>		Se + Vit.B <sub>12</sub>		Control		Vitamina B <sub>12</sub>		Se + Vit.B <sub>12</sub>	
variable	$\bar{x}$	Sd	$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	Sd	$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd
Se mcg Se/g	0.76	0.14	0.74	0.10	0.83	0.18	0.36	0.07	0.54	0.10	0.36	0.04	0.80	0.17	0.84	0.26	0.83	0.31	0.26	0.02	0.36	0.04	0.42	0.02
GSH Umol/m g prot	0.80	0.41	2.05	2.12	1.25	0.36	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.07	0.01	0.09	0.06	0.02	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
TBARS Umol/m g prot	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
GSH-Px U/mL	0.29	0.51	0.01	0.06	0.10	0.05	0.03	0.02	0.05	0.05	0.04	0.01	0.05	0.05	0.05	0.04	0.05	0.06	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	0.02
pH	5.44	0.08	5.44	0.09	5.41	0.08	5.68	0.07	5.76	0.08	5.69	0.07	5.84	0.36	5.73	0.09	5.67	0.07	5.69	0.08	5.72	0.08	5.69	0.07
$\Delta E$							7.81	0.97	8.56	0.85	8.23	1.09	9.81	0.94	10.21	1.09	10.30	1.78	9.99	1.49	10.90	0.81	11.08	0.86
L*	41.6 6	6.70	43.83	2.08	44.09	2.30	37.72	2.16	38.25	2.06	39.99	1.98	38.16	2.27	38.59	2.34	38.08	4.99	37.01	2.17	37.17	2.41	37.12	2.03
a*	19.8 1	1.06	20.28	1.05	20.69	0.99	18.80	1.00	18.74	0.82	18.96	0.74	18.32	0.95	21.06	14.1 2	19.09	1.09	18.35	1.01	18.21	1.09	18.34	0.85
b*	7.89	0.98	8.15	1.00	8.36	0.96	1.07	1.00	0.43	0.73	1.12	1.01	0.76	0.79	0.65	1.10	1.20	1.05	1.28	1.07	0.73	0.65	0.97	0.77
CRA %	99.1 2	3.34	98.87	0.52	98.45	0.56	94.12	2.89	95.23	2.69	94.71	3.21	95.39	1.56	94.32	3.88	95.44	1.86	94.64	2.00	94.14	3.51	94.60	2.12
FC g/F	123 87.0 0	4485. 00	10177 .00	3735. 00	9347. 00	2659. 00	14472 .00	522. 00	12537 .00	3555. 00	14029 .00	4649. 00	12136 .00	4438. 00	11011 .00	345. 00	12891 .00	4946. 00	12049 .00	4623. 00	12287 .00	2649. 00	12764 .00	3633 .00
Humedad %	73.6 8	1.37	72.45	2.51	73.22	1.05	70.94	3.43	71.21	1.87	72.39	2.48	68.48	7.42	72.01	2.48	71.69	1.86	63.72	9.28	57.72	6.61	54.72	3.36

Control, grupo no suplementado; Vitamina B<sub>12</sub>, grupo suplementado con vitamina B<sub>12</sub>; Se+ Vit. B<sub>12</sub>, grupo suplementado con selenio más vitamina B<sub>12</sub>.

M<sub>0</sub>, refrigeración 24 h; M<sub>1</sub>, 30 días de congelación; M<sub>2</sub>, 60 días de congelación; M<sub>3</sub>, 90 días de congelación.

Se, selenio; GSH, glutatión; TBARS, sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico; GSH-Px, glutatión peroxidasa; pH, potencial de hidrogeniones;  $\Delta E$ , diferencia de color; L\*, luminosidad; a\*, rojo-verde ; b\*, amarillo- azul; CRA, capacidad de retención de agua; FC, Fuerza al corte; Humedad, porcentaje de humedad.