

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

**EFFECTO DEL *EXPPELLER* DE CITRUS EN EL CRECIMIENTO Y
CALIDAD DE CARNE DEL POLLO PARRILLERO**

por

Roberto OLIVERO TROISE

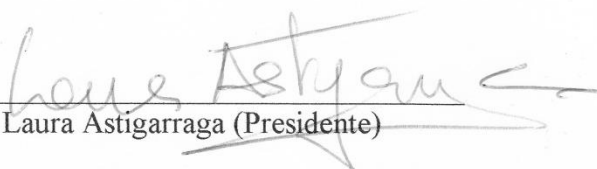
**TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de *Magister* en Ciencias
Agrarias opción Ciencias
Animales**

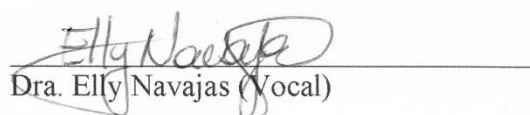
MONTEVIDEO

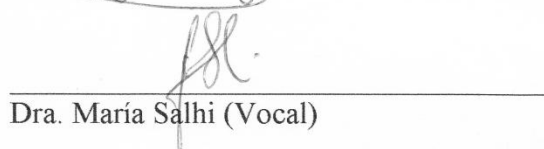
URUGUAY

2011


PAGINA DE APROBACION


Dra. Laura Astigarraga (Presidente)


Dra. Elly Navajas (Vocal)


Dra. María Salhi (Vocal)


Dra. María Cristina Cabrera (Director de tesis)

AUTOR: 
Ing. Agr. Roberto Olivero Troise

FECHA: 14 de diciembre de 2009.

AGRADECIMIENTOS

A María Cristina Cabrera por la dirección del trabajo en todas sus etapas, incluyendo las correcciones del documento.

A Elly Navajas y María Salhi por las sugerencias sobre el mismo.

A los integrantes del Grupo de Calidad de Alimentos y Calidad de Productos (Alí Saadoun, Marta del Puerto, Ana Ramos, Gabriela Castromán y Alejandra Terevinto) por la colaboración en la ejecución, la realización de las determinaciones analíticas y las sugerencias en las distintas etapas de la tesis.

A Germán Acosta y Clelia Delgado por la colaboración en los aspectos prácticos del trabajo experimental.

A Roberto Bauza, Mariana Carriquiry y Ana Espasandín por las recomendaciones efectuadas en ocasión de los seminarios de tesis.

A Carina Díaz de la empresa Azucitrus S. A., por su disponibilidad para las gestiones y consultas relativas a la materia prima utilizada en el experimento.

A Álvaro González, Diego Damasco, Pablo Haubman, Fernando Raposo, Arnaldo Moreni, Pablo Prieto, Fiorela D' Inverno y Lucas Rocha por su colaboración en aspectos relativos a los medios visuales para la presentación de seminarios y tesis y en el texto del documento.

A Isabel Sans por la corrección de los aspectos formales del documento.

A María Laura Alberro, Lilián Perdomo, Gabriela Arias, Roxana Las, Fernanda Zaccari, Telmo D'Amado, Nicolás Frioni y Walter Roel por su colaboración en distintas etapas del trabajo

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	VI
RESUMEN	VIII
SUMMARY	IX
I. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
A. CALIDAD DE LA CARNE DE AVE	2
1. <u>Color</u>	2
2. <u>Capacidad de retención de agua</u>	3
3. <u>pH</u>	4
B. DETERIORO OXIDATIVO DE LA CARNE DE AVE	6
1. <u>Oxidación de la carne y sus consecuencias</u>	6
2. <u>Formas de medir la oxidación y el estatus antioxidante</u>	7
C. ANTIOXIDANTES DIETARIOS	10
D. USO DE SUBPRODUCTOS CÍTRICOS COMO ANTIOXIDANTES DIETARIOS	11
1. <u>Caracterización de los subproductos de la industria cítrica</u>	11
2. <u>Composición del <i>expeller</i> de citrus (EC)</u>	12
3. <u>Utilización de los subproductos cítricos en la dieta de las aves</u>	20
a) Efecto de subproductos cítricos en el crecimiento animal	20
b) Efecto de subproductos cítricos en la calidad de la canal y carne	26
E. OBJETIVOS	28
II. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	29
A. ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL EC	29
B. EFECTO DEL EC SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS, MORFOMETRÍA INTESTINAL Y CALIDAD DE CARNE	29
1. <u>Animales y alojamiento</u>	29
2. <u>Protocolo experimental</u>	30
3. <u>Determinaciones</u>	32
4. <u>Diseño y modelo estadístico</u>	34

III. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	36
A. CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL EC	36
B. EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE EC EN LA ETAPA DE INICIACIÓN EN EL CRECIMIENTO ANIMAL Y EN LA MORFOMETRÍA INTESTINAL	38
1. <u>Consumo de alimento, peso vivo, ganancia de peso y conversión alimenticia</u>	38
2. <u>Peso y largo de órganos</u>	40
3. <u>Índice de cloaca</u>	42
4. <u>Valores sanguíneos</u>	42
C. EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE EC EN EL PERÍODO DE TERMINACIÓN EN EL CRECIMIENTO ANIMAL, RENDIMIENTO Y CALIDAD DE CARNE	44
1. <u>Consumo de alimento, peso vivo, ganancia de peso y conversión alimenticia</u>	44
2. <u>Rendimiento de pechuga y muslo, capacidad de retención de agua y cantidad de grasa abdominal</u>	46
3. <u>pH de pechuga y muslo</u>	47
4. <u>Color de la piel y de la carne</u>	49
D. EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE EC EN LA OXIDACIÓN DE LÍPIDOS Y PROTEÍNAS Y EN LA ACTIVIDAD DE LAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES DE LA CARNE DE AVE	52
1. <u>Oxidación lipídica</u>	52
2. <u>Oxidación proteica</u>	54
3. <u>Actividad de las enzimas antioxidantes</u>	58
IV. <u>CONCLUSIONES</u>	65
V. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	66
VI. <u>ANEXOS</u>	81

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Cuadro1. Valores de la composición química de residuos de citrus obtenidos por diferentes autores expresados en base seca	14
Cuadro 2.Contenido de pectinas en residuos de frutos cítricos según diferentes autores.....	17
Cuadro 3. Composición de las dietas	31
Cuadro 4. Composición química del EC, base seca	36
Cuadro 5.Efecto del EC en el consumo de alimento, peso vivo, ganancia y conversión alimenticia de 7 a 20 días de edad	39
Cuadro 6. Efecto de la dosis de EC en el peso y largo de órganos digestivos	40
Cuadro 7. Efecto del EC en el índice de cloaca	42
Cuadro 8. Efecto de la dosis de EC en hematocrito y número de glóbulos rojos	43
Cuadro 9. Efecto de la inclusión de EC en el consumo de alimento, peso vivo, ganancia de peso y conversión alimenticia de 44 a 58 días de edad.	45
Cuadro 10. Efecto del EC en el rendimiento de pechuga, rendimiento de muslo, capacidad de retención de agua y cantidad de grasa abdominal en relación al peso vivo.....	46
Cuadro 11. Efecto del EC en el pH de pechuga y muslo a los 15 minutos, 45 minutos. y 24 horas luego del sacrificio	48
Cuadro 12. Efecto del EC en una dieta de terminación en el color de la piel expresado en L*, a* y b*	49
Cuadro 13. Efecto del EC en el color de la carne de pechuga a los 15 minutos y a las 24 horas del sacrificio	50
Cuadro 14. Efecto del EC en el color de carne de muslo a los 15 minutos y a las 24 horas del sacrificio	51
Cuadro 15. Efecto de dosis crecientes de EC en la actividad de enzima GPx (µmoles de NADPH oxidados/min/ g carne de pechuga) a 1,5 y a 24 horas postmortem.	58
Cuadro 16.Efecto de dosis crecientes de EC en la actividad de enzima SOD (UI, unidades de inhibición SOD totales/g carne de pechuga) a 1,5 y a 24 horas postmortem.....	59
Cuadro 17.Efecto de dosis crecientes de EC en la actividad de enzima catalasa (µmoles de H ₂ O ₂ consumidos/min/g carne de pechuga) a 1,5 y a 24 horas postmortem.....	60

- Figura 1. Efecto de dosis crecientes de EC en la oxidación lipídica (TBARS, expresado como MDA mg/kg carne pechuga fresca) a 1,5 y a 24 horas postmortem. 53
- Figura 2. Efecto de dosis crecientes de EC en la oxidación proteica (carbonilos expresados como, nmoles DNPH/mg proteína, pechuga fresca) a 1,5 y a 24 horas postmortem. 55

RESUMEN

En Uruguay se generan residuos de la industria cítrica (*expeller* cítrico, EC) cuyo efecto como alimento para aves fue evaluado sobre la salud y la calidad de la carne en dos períodos (7-20 y 44-58 días de edad). Se estudió el efecto de dosis de EC (0%; 1,75%; 3,5% y 7%) sobre el crecimiento, peso y largo de órganos digestivos, hematocrito y porcentaje de hemoglobina en pollos entre 7 a 20 días. La composición química del EC utilizado en este trabajo fue: 87,9% MS, 6,29% PC, 19,17% FC, 0,58% EE y 3955 kcal energía bruta/kg (en base seca). La inclusión de EC no afectó significativamente el consumo alimenticio, crecimiento, conversión alimenticia, peso de órganos, ni la salud en la etapa de mayor sensibilidad (iniciación). En la etapa de terminación (44 a 58 días de edad) no hubo diferencias significativas entre las dosis de EC en consumo de alimento, peso vivo o ganancia de peso, pero sí en conversión alimenticia, siendo peor la misma al utilizar EC. El EC afectó favorablemente la capacidad de retención de agua y el pH de la carne. No hubo tendencias ni en color de la piel ni en color de carne que indicaran incidencia de la utilización de EC. No se afectó la oxidación lipídica con el uso del EC, sin embargo la oxidación proteica aumentó con las dosis altas (3,5% y 7% EC). El estudio de las enzimas glutatión peroxidasa (GPx) y catalasa demostró que el EC ejerció efecto favorable respecto de la prevención de la oxidación. Se concluye que es posible utilizar el EC disponible, de composición similar al utilizado en este estudio, en la alimentación de pollos tanto en iniciación como en terminación hasta un máximo de 7%, sin que haya efecto negativo en las variables productivas. La modulación que el EC puede ejercer se traduce en una mejor aptitud para conservación y procesamiento de la carne, debido a los antioxidantes que contiene. El EC podría ser una materia prima interesante de utilizar como alimento funcional en pollos.

Palabras clave: *expeller* de citrus, oxidación de la carne, nutrición de pollos

SUMMARY

Effects of citrus expeller on the broiler growth and meat quality

Uruguay's citrus industry generates residues (citric expeller, CE) which effect as poultry feed was evaluated over health and meat quality in two periods (7-20 and 44-58 days of age). CE dosing (0%; 1.75%; 3.5% and 7%) effects on growth, weight and length of digestive tract organs, and on haematocrit and haemoglobin percentage were studied in broilers aged 7 to 20 days. Chemical composition of CE used in this study was 87.9% dry matter, 6.29% crude protein, 19.17% crude fiber, 0.58% ether extract, and 3955 kcal/kg gross energy (dry basis). The inclusion of CE did not significantly affect feed intake, growth, feed conversion, digestive organs weight, nor health during the most sensitive development stage (initiation). Within the finishing stage (44 to 58 days of age) no significant differences between CE doses were observed neither in feed intake, nor in live weight and weight gain, although feed conversion ratio was negatively affected by the use of CE. CE favorably affected meat's water-holding capacity and pH. Neither skin nor meat color showed any tendency which could indicate a response to CE inclusion. Lipid oxidation was not affected by CE use, although protein oxidation did increase with higher CE doses (3.5% and 7%). Study of enzymes such as glutathione peroxidase (GPx) and catalase showed that CE inclusion exerted a favorable effect with respect to oxidation prevention. The conclusion is that it is possible to use available CE -similar in composition to the one used in this study- for feeding broilers (up to a maximum dietary inclusion of 7%) during both initiation and finishing stages with no negative effects on productive variables. CE may yield modulation to poultry meat, improving its preservation and processing abilities due to antioxidant content. CE might be an interesting raw material to use as a functional feed for broilers.

Key words: citrus expeller, meat oxidation, broiler nutrition

I. INTRODUCCIÓN

El consumo de carne de ave continúa su crecimiento a nivel mundial (Zhang y Barbut, 2005). En Uruguay, la carne de ave está sustituyendo a la carne vacuna (del Puerto *et al.*, 2007), produciéndose en 2007, 23.156.000 pollos parrilleros. La cantidad de carne de ave producida en Uruguay fue de 50.121 t, correspondiendo a un consumo por habitante y por año de 14,6 kg (MGAP, 2007) en fresco y procesado. Los cambios en el mercado internacional requieren asegurar mayores estándares de calidad siendo la misma considerada un complejo de propiedades en donde inciden sistemas de manejo, razas, alimentación y condiciones de sacrificio y almacenamiento. La calidad de la carne implica propiedades de la misma que la hacen apropiada para la alimentación, procesamiento y almacenamiento, siendo de interés sus características organolépticas, valor nutricional e inocuidad (Andersen *et al.*, 2005). Características como el color de piel, color de carne, grado de oxidación, pH y capacidad de retención de agua (CRA) además de otros atributos de calidad sensorial han pasado a tener una mayor importancia así como el estudio de los factores que las pueden determinar o mejorar (Fletcher, 2002). La elaboración de salchichas, productos empanados y congelados de carne de ave requieren de correctas propiedades funcionales, como la CRA (Moreira, 2005). En el ave, la dieta constituye uno de los mayores factores además del manejo y la genética, que pueden afectar la calidad de la carne (Baracho *et al.*, 2006). Es posible el enriquecimiento de la carne de ave por medio del manejo nutricional, ya sea en ácidos grasos omega-3, ácido linoleico conjugado o selenio (Grashorn, 2007), existiendo compuestos naturales con propiedades antioxidantes que pueden utilizarse en la dieta de las aves (Luna *et al.*, 2007). El interés de estos alimentos que pueden modificar las características de calidad es que además tengan un bajo costo y sean accesibles al productor avícola. En función de lo citado y de la existencia de subproductos en la industria nacional, surge la propuesta de estudiar un subproducto de la industria cítrica disponible en el país, y el efecto de su incorporación en la dieta sobre el crecimiento de las aves y la calidad de la carne producida. Antes de abordar los aspectos experimentales se presentará una revisión que abarca los principales

factores de calidad de la carne de ave y los antecedentes relacionados a la modificación dietaria de los mismos.

A. CALIDAD DE LA CARNE DE AVE

Entre las características de calidad de carne que se consideran de importancia figuran la apariencia, textura, succulencia, sabor y funcionalidad (Moreira, 2005), a las que deben agregarse el color y la capacidad de retención de agua (Baracho *et al.*, 2006). Se analizará la incidencia de color, capacidad de retención de agua y pH sobre la calidad de la carne de ave.

1. Color

Con respecto al color, en el ave se consideran el color de la piel y el de la carne.

El *color de la piel* depende de los pigmentos carotenoides presentes en la dieta de los pollos los cuales se depositan en la piel y en la grasa subcutánea (Pérez-Vendrell *et al.*, 2001). Los pigmentos carotenoides son transportados en el intestino conjuntamente con los lípidos siendo su solubilización y absorción influenciada por la naturaleza y nivel de los mismos (Garrett *et al.*, 1999). Estos pigmentos son luteína, zeaxantina, cantaxantina, criptoxantina, etc. siendo la luteína absorbida con mayor eficiencia que la criptoxantina (Nys, 2003). La pigmentación de la piel es un factor importante en la aceptabilidad por parte del consumidor (Ouart *et al.*, 1988). Uno de los problemas vinculados al color de la piel del pollo lo constituye la desconfianza respecto a los pigmentantes sintéticos, en especial por parte de grupos ecologistas o partidarios de las producciones orgánicas. En algunos países se prohíbe la adición de colorantes sintéticos a las raciones animales, por lo que ha aumentado el uso de pigmentantes naturales (Da Silva *et al.*, 2000). El color de piel se mide usualmente por medio de colorímetro que utiliza el sistema CIE $L^*a^*b^*$, midiendo la luminosidad (L^*), grado de enrojecimiento (a^*) y grado de amarillamiento (b^*).

El *color de la carne* es una característica importante que también influye en la aceptación por el consumidor, siendo los defectos de este atributo un problema en la industria avícola (Quiao *et al.*, 2001). El color en los productos avícolas es medido

generalmente por medio de las coordenadas tricromáticas del sistema CIE $L^*a^*b^*$ (Fletcher, 1992). Uno de los defectos observables la palidez excesiva (Santé *et al.*, 2001), lo cual constituye un problema en la industria avícola (Quiao *et al.*, 2001). Fletcher (1999) encontró variaciones importantes en el color, que ocurren en los procesos de deshuesado y retiro de la piel. Durante los procesos de almacenamiento ocurren oxigenaciones y oxidaciones de la mioglobina, que influyen en el color de la carne (Honikel, 1998). La pechuga está compuesta principalmente por fibras blancas con bajo contenido en mioglobina, en cambio el muslo está compuesto principalmente por fibras rojas por lo que presenta un color más oscuro que la pechuga (Carreras, 2004). Este autor encontró que aves tratadas con vitamina E suplementaria presentaban una menor transformación de mioglobina en metamioglobina que el testigo, aumentando la vida media del color rojo de la carne, hallándose una mayor disminución del parámetro a^* en el testigo que en las aves tratadas con vitamina E. Esto refleja una menor estabilidad del color de la carne en las aves no suplementadas. Barbut (1993) recomendó el análisis de color por medio del sistema Hunter $L^*a^*b^*$ (luminosidad, grado de enrojecimiento y grado de amarillamiento respectivamente), como una forma rápida y no destructiva para distinguir carnes PSE (carnes pálidas, blandas y exudativas), viendo asimismo que la L^* tiene la más alta correlación entre los valores L^* , a^* y b^* , con las condiciones de aparición de carnes PSE. La carne con estas características es inadecuada para el procesamiento de productos industrializados (Moreira, 2005). Este autor asimismo reporta que los aumentos en el valor de luminosidad (L^*) pueden relacionarse a disminuciones de valores de pH de la carne, comparando el pH inicial con el pH a las 24 horas.

2. Capacidad de retención de agua

Las pérdidas de agua en la carne perjudican la aceptabilidad por el consumidor (Santé *et al.*, 2001). La CRA de la carne afecta el rendimiento de la misma luego de la cocción, con los consiguientes inconvenientes en la fabricación de productos industrializados (Moreira, 2005). Este autor cita que a medida que el pH disminuye la capacidad de absorción de agua también lo hace, y en filetes considerados PSE

hubo una mayor pérdida por exudado y reducción de la capacidad de absorción de agua. Las pérdidas de agua se originan por cambios en el volumen de las miofibrillas inducido por el descenso de pH pre-rigor y el enganche de los filamentos de actina y miosina en el rigor cuando las miofibrillas se contraen debido a la baja de pH, contribuyendo asimismo la desnaturalización de las proteínas a la reducción de la CRA (Honikel, 1998). Quiao *et al.* (2001) encontraron que carnes claras se asocian a un bajo pH y baja capacidad de retención de agua. El pH final incide sobre la estructura de las miofibrillas y por tanto sobre la CRA, y color de la carne. Existen diferentes métodos para medir la CRA siendo uno de ellos el de Offer y Knight (1988) en donde se corta una muestra de carne y se pesa inmediatamente, volviéndose a pesar a las 24 horas luego de permitir que el agua escurra. La pérdida de agua es calculada como porcentaje del peso inicial

3. pH

En relación al *efecto del pH de la carne sobre la calidad*, el pH muscular influye en los atributos de la carne tales como color y capacidad de retención de agua. Young *et al.* (2004) citan que el pH postmortem tiene influencia en los atributos de calidad de carne, como color y capacidad de retención de agua. El pH final incide sobre la estructura de las miofibrillas y por tanto sobre la CRA, y el color de la carne. El exudado de las fibras contráctiles causado por bajos pH reduce la CRA y por lo tanto aumenta la reflexión de la luz resultando en una carne que parece menos roja y más amarilla (Teira *et al.*, 2004).

Por otra parte, se ha visto que las condiciones de privación de alimento y estrés durante el transporte de las aves causan alteraciones como la disminución de la glucosa plasmática y del glucógeno en hígado y músculo, lo cual tiene impacto negativo en la calidad de la carne (Young *et al.*, 2004). Estos autores midieron el pH en el momento del sacrificio y en distintos momentos postmortem, viendo que la administración de piruvato y glucosa en el agua de bebida durante el ayuno presacrificio incrementaba el pH postmortem y disminuía la pérdida de agua.

En relación a los *cambios bioquímicos que ocurren en la carne*, luego del sacrificio del ave ocurren transformaciones en el músculo, instalándose situaciones

de anaerobiosis que determinan que la energía en forma de ATP se logre por la vía glicolítica. Al producirse ácido láctico se produce una baja de pH (Ritcher *et al.*, 2001). El mecanismo bioquímico implica la escisión de ATP que libera protones hidrógeno por lo que ocurre un descenso rápido del pH de la carne tras el sacrificio del ave. Respecto del pH importan la magnitud y la velocidad de caída. Si es rápida, pueden presentarse carnes PSE, con baja CRA. Esto se debe a estrés antes del sacrificio, dándose rápida glicólisis y producción de ácido láctico, cayendo el pH. El ciclo del ATP es muy rápido y continúa así luego del sacrificio. Del mismo modo, los cerdos son particularmente susceptibles a este problema (Lasta, 1997). En esta especie se ha observado que el tipo de músculo influye asimismo sobre el nivel de pH final (Warris *et al.*, 1989). Bendall (1973) refiere a diferencias en el pH final de los músculos oxidativos y glicolíticos. En las aves, Duclos *et al.* (2007) reportan diferencias en pH a los 15 minutos del sacrificio y pH final de la carne dentro del mismo músculo (pechuga), según el tamaño de las fibras musculares, ya que las más grandes tuvieron pH más altos en los dos casos, en tanto que Asenjo *et al.* (2007) encontraron pH final más alto en el muslo de pollo, frente a la pechuga.

En cuanto a *valores de pH de carne aviar*, Santos *et al.* (2005) citan que las alteraciones postmortem incluyen cambios de pH desde valores de 7,3 a 7,5 en aves vivas, decreciendo luego de la muerte hasta 5,4 entre 2 y 8 horas cuando el rigor mortis se establece. Berri *et al.* (2005) citan que en el pollo los valores normales de pH a los 15 minutos del sacrificio oscilan entre 6,2 a 6,5, en tanto que Fletcher (1999) indica que el valor de pH final de la carne se encuentra en aproximadamente 5,8. Moreira (2005) encontró que para filetes de pechuga de pollo considerados PSE, la glicólisis tuvo inicio con un valor de pH de 6,21 y alcanzó un pH final de 5,16 a las 24 horas postmortem, en tanto que los filetes de pechuga normales presentaban un pH inicial de 6,3 y un pH de 5,31 a las 24 horas postmortem.

Estudios nacionales de pH en carne aviar según el sistema de producción hallaron que el mismo era mayor en aves criadas en sistema convencional (6,14 y 6,12 a 3 y 24 horas del sacrificio respectivamente) frente al orgánico (6,05 y 6,02), lo

que perjudicaría la calidad de la carne para industrialización en el sistema convencional (del Puerto *et al.*, 2007).

La *medida del pH* se realiza con aparato especial) el cual contiene un electrodo que se inserta en el tejido muscular (Santé, 2001). La utilización del peachímetro permite no destruir las muestras, siendo además práctico y preciso (indica valores con dos decimales).

B. DETERIORO OXIDATIVO DE LA CARNE DE AVE

1. Oxidación de la carne y sus consecuencias

La oxidación es un proceso que conduce a la formación de radicales libres que se producen como consecuencia de la respiración celular, ocasionando efectos negativos para la salud por su potencialidad de alteración del genoma, lípidos y proteínas. Se define como estrés oxidativo al desequilibrio entre las especies oxigenadas reactivas y los antioxidantes. Estas especies reactivas son derivadas del oxígeno y entre ellas figuran los radicales hidroxilo, alcoxilo, perhidroxilo, peroxilo, óxido nítrico y superóxido, así como no radicales caso el peróxido de hidrógeno, entre otros.

La carne se compone de dos fracciones lipídicas que son los lípidos polares (especialmente fosfolípidos) y los lípidos neutros (principalmente triglicéridos), siendo los primeros los principales responsables de la iniciación de la oxidación lipídica, dada su mayor concentración de ácidos grasos insaturados (Carreras, 2004). Los procesos oxidativos de la carne inciden en el deterioro de su calidad, siendo la oxidación de lípidos el principal factor de pérdida de calidad (Campo *et al.*, 2006). Se puede ver alterado el *flavor* (sensación olfato-gustativa), color y textura de la carne, disminuyendo la aceptabilidad por el consumidor. La carne de pollo es particularmente sensible a los procesos oxidativos debido a su elevada proporción de ácidos grasos poliinsaturados en comparación con otros tipos de carne (Carreras, 2004). Sobre los lípidos es donde recae el mayor daño derivado del estrés oxidativo. La lipoperoxidación afecta a los ácidos grasos poliinsaturados. Es posible modificar el perfil lipídico de la carne de pollo ajustándolo a las necesidades humanas

(reducción el nivel de saturación, disminución de la relación n-6/n-3) pero al aumentar el grado de insaturación se incrementa la susceptibilidad de la carne a la oxidación lipídica (Carreras, 2004). En carnes trozadas, picadas o productos cárnicos reestructurados, la manipulación produce rotura de la estructura exponiéndose los lípidos musculares a ambientes prooxidantes, de forma que el contacto entre los sustratos de oxidación y los catalizadores de la misma se favorece. Asimismo la cocción provoca la rotura de la estructura del tejido muscular causando desnaturalización de proteínas y pérdida de actividad enzimática de algunas de ellas, además de liberarse hierro que actúa como catalizador de la oxidación (Decker y Xu, 1998).

Por otra parte, las proteínas también sufren la acción de las especies reactivas, aunque el efecto es menor que en los lípidos debido a la lenta progresión de las reacciones. Las principales consecuencias de la oxidación proteica sobre la calidad de la carne se aprecian en el color de la misma, el cual se debe a la mioglobina. La mioglobina es responsable del color rojo del músculo. Al oxidarse se forma la metamioglobina, responsable del color marrón de la carne (Kanner, 1994).

2. Formas de medir la oxidación y el estatus antioxidante

La lipoperoxidación genera una variedad de compuestos carbonílicos tóxicos como el malonil dialdehído (MDA), que se puede determinar debido a su capacidad de reaccionar con el ácido tiobarbitúrico (TBA), dando lugar a un producto de color rosa que absorbe a 532 nm. Se debe tener en cuenta que otros aldehídos, azúcares y aminoácidos que se forman en la peroxidación de los lípidos reaccionan con el TBA formando complejos cuyo máximo de absorción es cercano al del complejo MDA-TBA, por lo que el método más que un cuantificador del TBA es un indicador del nivel general de oxidación. Debido a esto se llaman TBARS a todas aquellas sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, expresándose los resultados en “equivalentes MDA” (Carreras, 2004). El grado de oxidación (TBARS) se expresa en cantidad de MDA por cantidad de carne fresca. La cuantificación de las TBARS constituye la forma más común de evaluar el fenómeno de lipoperoxidación (Arrieta *et al.* 2000; Cortinas *et al.*, 2005). El malonil- aldehído es una sustancia

carcinogénica por lo que su presencia puede considerarse como un factor negativo en la seguridad de los alimentos. El análisis sensorial por medio de un panel especializado tiene alta correlación con las determinaciones analíticas (Campo *et al.*, 2006), por lo que puede ser utilizado en estudios del grado de oxidación. Estos autores también utilizaron análisis de TBARS, que predijeron adecuadamente el enranciamiento en un análisis sensorial ($r=0,84$). Los autores consideraron un valor de TBARS de 2 como límite de aceptabilidad de carne oxidada. Por otra parte, Wood *et al.* (2004) citan la oxidación de lípidos como forma de estudio de la oxidación de la carne. Mercier *et al.* (2004) midieron la oxidación de lípidos y proteínas en carne proveniente de ganado Charolais, a través de la determinación de TBARS y grupos protein- carbonilos (método de conteo de 2,4-dinitrofenilhidracina, DNPH), así como la actividad de las enzimas antioxidantes (superóxido dimutasa o SOD, catalasa y glutatión peroxidasa o GPX). Existen antecedentes nacionales en relación al uso de TBARS dado que Realini *et al.* (2004) realizaron estudios de TBARS en carcasas de novillos.

Las limitantes de la utilización de TBARS como indicadores de oxidación son la posibilidad de que el MDA provenga de orígenes diferentes a la peroxidación lipídica, las interferencias que pueden generar iones metálicos contaminantes de los reactivos utilizados y la alta dependencia del operador (Carreras, 2004). Cortinas *et al.* (2005) corroboran el concepto de dificultad de comparación de valores de TBARS en diversos estudios, citando la incidencia de factores como el método analítico usado y las condiciones de almacenamiento de la carne de ave, tales como tiempo, temperatura y empaque. De todos modos y pese a las dificultades para cuantificar el grado exacto de oxidación, el método de TBARS es un buen método comparativo a nivel de un experimento (Carreras, 2004).

Así como puede medirse el estatus oxidativo a través del nivel de oxidación lipídica y proteica, también puede medirse el estatus antioxidativo a través de la presencia de enzimas antioxidantes como las citadas SOD, catalasa y GPx. La actividad de dichas enzimas es un indicador de la oxidación (Carreras, 2004, Mercier *et al.*, 2004). Las enzimas antioxidantes actúan inactivando especies activas y posibles precursores de radicales libres (Grashorn, 2007). La SOD es una

metaloproteína presente en la célula que actúa eliminando el radical superóxido acelerando su conversión a peróxido de hidrógeno; la catalasa es una hemoproteína que se encuentra principalmente en los peroxisomas y en las mitocondrias y descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, en tanto que la GPx es una selenoproteína que se halla en la matriz mitocondrial y en el citosol, y actúa sobre el peróxido de hidrógeno y peróxidos lipídicos, produciendo alcoholes estables (Carreras, 2004). Sárraga *et al.* (2002) analizaron actividad de la GPx en carne vacuna picada, viendo mayor actividad en carne normal frente a carne PSE.

La actividad de SOD se determina por el método de Marklund y Marklund, (1974), modificado por Gatellier *et al.* (2004). Se utiliza el compuesto pirogalol, el cual se autooxida rápidamente, oxidación en la que participa el radical anión superóxido. SOD cataliza la eliminación de este radical y por tanto es capaz de inhibir la autooxidación del pirogalol. La actividad se expresa en unidades de inhibición SOD por gramo de carne fresca. Se debe tener en cuenta que una unidad de SOD corresponde a la concentración de enzima que provoca el 50% de inhibición de la autooxidación del pirogalol.

La actividad de catalasa se determina según Aebi (1984), evaluando la disminución de la absorbancia del peróxido de hidrógeno a 240 nm por la acción de la enzima. El peróxido de hidrógeno se transforma en agua y oxígeno, por acción de la catalasa. La actividad se expresa en cantidad de peróxido de hidrógeno consumido por minuto por gramo de carne fresca.

La actividad de GPx se determina por el método de De Vore y Greene (1982), en donde se mide la disminución de la absorbancia del NADPH (dinucleótido fosfato de nicotinamida y adenina en forma reducida) a 340 nm por acción de la GPx en presencia de peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno origina dos moléculas de agua, en reacción catalizada por la enzima, reacción en la que interviene el NADPH. La actividad se expresa en cantidad de NADPH oxidado por minuto por gramo de carne fresca.

Pese a todo lo citado en relación a la importancia de la evaluación de la oxidación, según, no se ha podido establecer de manera clara una relación entre el balance oxidativo de los pollos y su eficiencia productiva. Trabajos de Arrieta *et al.*

(2000) no pudieron relacionar el estado oxidativo hepático (medido a través de TBARS y glutatión total hepático) con el comportamiento productivo de las aves (consumo de alimento, ganancia de peso, conversión alimenticia y mortalidad).

C. ANTIOXIDANTES DIETARIOS

Se define como antioxidante a una molécula orgánica de origen sintético o natural capaz de evitar o retardar el desarrollo o progresión del deterioro oxidativo. Se lo considera como aditivo alimentario al ser aportado a los alimentos intencionalmente, sin el propósito de cambiar su valor nutritivo sino con la finalidad de favorecer su conservación y mejorar su adaptación al uso al que se destinan (Fernández San Juan, 2002). Los antioxidantes naturales tienen incidencia en la prevención de la oxidación pues pueden bloquear los radicales libres. Existen antioxidantes preventivos (como por ejemplo las ya citadas enzimas antioxidantes), que reducen la tasa de iniciación de la peroxidación, y antioxidantes que rompen la cadena de propagación de la peroxidación. Los antioxidantes que rompen la cadena de propagación de la peroxidación eliminan radicales libres y suprimen la reacción en cadena. Entre ellos figuran el ácido ascórbico, la vitamina E y el beta-caroteno. La mayoría son compuestos de tipo fenólico que actúan cediendo un hidrógeno al radical peróxido, convirtiéndolo en hidroperóxido. El antioxidante queda en forma radicalaria bastante estable ya que el electrón desapareado puede deslocalizarse en el anillo aromático de la estructura (Giese, 1996). Existen antioxidantes sintéticos como galatos de propilo, hidroxianisol butilado o BHA, hidroxitolueno butilado o BHT, etc. (Nethol, 1981). Sin embargo hay sustancias antioxidantes naturales como los flavonoides (flavonoles, antocianidos y flavonas), los cuales son más seguros y deseables que los sintéticos, ya que pueden tener efectos beneficiosos para la salud. Actúan en las primeras etapas capturando radicales como superóxido o hidroxilo, a diferencia de los tocoferoles que actúan estabilizando radicales ya formados.

Tanto en la dieta como en el producto final, es posible agregar antioxidantes, en raciones, o en el caso de productos procesados, subproductos cítricos (Carbonell *et al.* 2005), con el fin de mantener adecuadas condiciones que impidan el deterioro. Otra estrategia la constituye el agregado a las raciones de productos residuales de la

industria, que presenten efecto antioxidante.

D. USO DE SUBPRODUCTOS CÍTRICOS COMO ANTIOXIDANTES DIETARIOS

1. Caracterización de los subproductos de la industria cítrica

El aumento de producción citrícola en el litoral uruguayo ha determinado un incremento de la cantidad de subproductos industriales posibles de ser volcados al mercado de raciones para animales. La producción de cítricos es de 346.238 T anuales de las cuales 145.695 se exportan en fresco, 107.614 se destinan a mercado interno (incluye pérdidas) y 92.929 van para industria (MGAP, 2007). De esto se deduce que un 42,08% se exporta, 31,08% se consume internamente y 26,84% se utiliza en la industria. La superficie efectiva que los cultivos ocupan es de 16.352 hectáreas. La fruta de mayor producción es la naranja seguida de mandarina y luego limón y pomelo. La producción de jugos y otros derivados constituye una actividad complementaria que procesa descartes de exportación. El sector está conformado por cuatro empresas que producen jugos concentrados, aceites esenciales y una de ellas, base para pectina y *pelets* para alimentación animal (Arocena, 2007).

Se define *expeller* de citrus (EC), como el producto obtenido de la extracción de jugos de frutas cítricas, el cual consta de cáscara, pulpa y semilla que se secan, muelen y peletizan. Álvarez *et al.* (1995) resaltan la importancia de los subproductos industriales entre los que figura la pulpa de citrus, como un alimento a utilizar en zonas próximas a las plantas procesadoras, lo cual trae un abaratamiento de fletes. Definen la pulpa desecada de cítricos como un producto que contiene la pulpa y cáscara de la fruta. Bruni (1999) comprobó la posibilidad de sustituir granos por *pelets* de pulpa de citrus en la alimentación de vacas lecheras.

Sin embargo, en el Uruguay solamente se produce una cantidad relativamente baja de EC, por parte de una única empresa que realiza dicho proceso ya que las otras derivan el subproducto fresco como alimento para animales, sin proceso de secado. Se obtienen entre 1.500 y 2.000 T de EC por año, entre los meses de mayo y

noviembre (Díaz, com. pers.¹). Estos volúmenes son absorbidos por productores lecheros de zonas cercanas a la planta, superando la demanda la capacidad de producción, habiéndose utilizado asimismo para ganado de carne en engorde a corral, cerdos, nutrias y ñandúes. Esto demuestra la potencialidad del subproducto la cual de aprovecharse permitiría incrementar las posibilidades de comercialización por parte de las plantas elaboradoras de jugo, demostradas las ventajas de su procesamiento como *expeller*. El precio para la temporada 2009 fue de \$ 3,52/kg.

2. Composición del EC

El fruto de los cítricos consta de la corteza (que contiene el epicarpio y mesocarpio externo llamados flavedo, y el mesocarpio interno o albedo), el endocarpio y las semillas. En la corteza, la parte coloreada es conocida como flavedo, por su color ya que *flavus* significa amarillo. El endocarpio se conoce comúnmente como “gajos” o “pulpa” y en él se encuentra el jugo. En cambio la parte de color blanco se llama albedo. Ha *et al.* (1996) estudiando residuos cítricos en Corea, citan que el producto consiste en 60-65% de cáscara, 30-35% de pulpa y 0-10% de semillas.

Los intentos de estudiar la composición química de los residuos cítricos son antiguos en Uruguay, dado que en 1931 Menéndez Lees y de Medina planteaban la posibilidad de utilizarlos para alimentación de vacas lecheras. Determinaron incluso la composición química, que para naranja dulce común era de 9,43 % de PC, 14,35% de celulosa, 4,01% de cenizas y 4,64% de EE (base seca) para residuo constituido por corteza, pulpa y semillas.

Tanto la clasificación de la materia prima dentro de los grupos de alimentos, como la nomenclatura de la misma, son muy variables. INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) la incluye dentro del grupo VIII “otros productos industriales” y la llama “pulpa deshidratada de agrios” (INRA, 1984). Blas *et al.* (2003) en las tablas españolas FEDNA (Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal), se refieren a la pulpa de citrus como un alimento fibroso. Orcasberro *et al.* (1987) consideran al EC como un alimento energético

¹ Comunicación personal de Carina Díaz (Azucitrus S. A.) al autor, 3 de noviembre de 2009.

caracterizándose por su elevada concentración de energía y su bajo contenido de proteína. El residuo de cáscara, pulpa y semilla representa entre el 45 y el 60% del peso de la fruta fresca. Estos autores llaman la atención sobre la necesidad de profundizar en el conocimiento de los productos resultantes de la industrialización de frutas cítricas, teniendo en cuenta que la cosecha suele efectuarse en períodos donde el forraje es escaso. Tablas del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) proporcionan composiciones de “*expeller*” y de “*pelet*”, pero además aparecen una serie de análisis de productos calificados como “suplementos” “citrus pulpa”, “naranja cáscara”, “naranja cáscara y pulpa” y “naranja pulpa” (Mieres, 2004). Estas denominaciones contribuyen a reafirmar la falta de estandarización que los subproductos cítricos tienen en nuestro país.

Es importante tener en cuenta al comparar estudios a nivel internacional que existen una gran dispersión de datos sobre subproductos cítricos dado por la gran variabilidad de la materia prima original y de los procesos de obtención. En la composición química inciden el tipo de fruta, contenido en semilla, estación del año (Gohl, 1978), así como diferencias en el procesamiento, generándose variación en el contenido de nutrientes.

En el cuadro 1 se muestran valores de composición química de residuos de citrus según diferentes autores.

Cuadro 1. Valores de la composición química de residuos de citrus obtenidos por diferentes autores expresados en base seca

Fracción (%)	Mc									
	Do-well <i>et al.</i> 1974	INRA 1984	FEDNA 2003	Tabla Can. 1982	Ha <i>et al.</i> 1996	Mourão <i>et al.</i> 2008	Klaasen <i>et al.</i> 1993	Orcasberro <i>et al.</i> 1987	Pigurina <i>et al.</i> 1991	Cozzo-lino <i>et al.</i> 1994
MS	89,5	90,0	90,0	91,0	85,4	92,1	87,0	91,8	92,5	93,8
PC	8,2	7,1	7,1	7,14	9,7	8,1	7	7,5	5,3	5,2
FC	10,5	13,3	-	14,4	12,6	-	-	12,3	13,2	-
EE	3,1	3,5	-	3,63	4,5	2,5	-	2,9	-	-

Los valores de energía proporcionados son escasos; para INRA (1984) posee 3880 Kcal/ kg de energía bruta (base fresca), pero esta fuente no proporciona datos de energía metabolizable para aves.

En Uruguay, AZUCITRUS S.A. elabora el EC. Según la información proporcionada por dicha empresa, de la extracción de jugos queda un residuo tanto de cáscara como de pulpa y semilla que se seca, muele y peletiza. Se conoce como “pulpa seca de citrus” o como “*pellets* de cáscara deshidratada”. En la descripción del producto por parte de la empresa elaboradora, se deja establecido que se obtiene de neutralización y posterior deshidratación de los residuos sólidos de la fruta después de extraído su jugo. Por tanto, no se trata solamente de cáscara sino que otras partes de la fruta, como la pulpa y la semilla son incluidas. Los cítricos que pueden constituir eventualmente el EC son naranja (Navel y Valencia), limón, mandarina y pomelo, aunque en general el constituyente mayor es la naranja (Díaz, com. pers.²). Se registran variaciones estacionales en la composición del EC dado que sobre fin de año no se dispone de mandarina ni pomelo (Díaz, com. pers.³). Los

² Comunicación personal de Carina Díaz (Azucitrus S. A.) al autor, 3 de noviembre de 2009.

³ Comunicación personal de Carina Díaz (Azucitrus S. A.) al autor, 3 de noviembre de 2009.

análisis realizados por parte de la empresa elaboradora de EC en nuestro país no son periódicos y en la actualidad se analiza solamente el contenido de humedad.

El EC puede exportarse o destinarse a consumo interno. En parte se exporta a Europa en donde es usado para la extracción de pectinas.

Mandalari *et al.* (2006) afirman que si no se procesa el residuo se pueden generar problemas ambientales y para ejemplificarlo citan que el residuo fresco de citrus o pulpa fresca tiene un 17,43% de materia seca en tanto la pulpa desecada tiene un 91,8%. En el mismo sentido, Wang *et al.* (2008) llaman la atención sobre la polución ambiental que puede ocurrir si no se procesa la cáscara de cítricos. La mayor parte del residuo se utiliza fresco lo que encarece el flete al tratarse de un producto con alto porcentaje de agua, cuya duración asimismo es limitada en relación al producto deshidratado. Reyes y Guedes (1987) citan que el residuo de citrus es un producto voluminoso y molesto del cuál es difícil deshacerse. Estos autores citan que el alto contenido de agua del residuo de citrus limita el uso de los subproductos a la zona de producción, para evitar los costos de transporte de un producto demasiado voluminoso en donde el agua es la mayor proporción. Si bien en el Uruguay existe una gran demanda del producto, en caso de aumentarse la producción esto no constituiría un problema ya que puede solucionarse a través de la peletización.

En la composición del EC deben citarse asimismo las pectinas, polifenoles y carotenoides, cuyos efectos no han sido anteriormente estudiados en la alimentación de aves en Uruguay.

En relación a las **pectinas**, estas son polisacáridos no amiláceos (PNA) presentes en la pared celular de tejidos vegetales. Esta es una fracción heterogénea integrada por compuestos que resisten la acción de enzimas digestivas. Se halla integrada por dos grupos de compuestos que son los polisacáridos y la lignina. Dentro de los polisacáridos figuran los homopolisacáridos (celulosa) y los heteropolisacáridos (hemicelulosa y pectinas). Se denominan polisacáridos no amiláceos (PNA) tanto a carbohidratos de la pared celular de los vegetales (celulosa, hemicelulosa, lignina, sustancias pécticas y galactomananos) como a carbohidratos intracelulares (fructosanos). Las pectinas, en la pared celular de tejidos vegetales

cumplen funciones de cementación intercelular. Tienen una estructura química que corresponde a moléculas de ácido D-galacturónico, unidas por enlaces glicosídicos alfa- 1,4. A dicha cadena se encuentran ligados azúcares como ramnosa, arabinosa o manosa. En determinados puntos de la estructura de las pectinas la ramnosa (una metilpentosa) provoca la formación de los llamados codos pécticos doblando el polímero de ácido galacturónico. Los azúcares como arabinosa o manosa forman cadenas pequeñas al insertarse, dando lugar a lo que se denominan cadenas rugosas. Se encuentran especialmente en las frutas así como en algunas raíces como remolacha o zanahoria. También se hallan en menor cantidad en alimentos comunes para animales como maíz, sorgo, harina de soja, harina de girasol y afrechillo de arroz. El contenido en pectinas de los alimentos más comunes para las aves se ha estudiado, encontrando Malathi y Devegowda (2001) los siguientes valores: maíz 1%, sorgo 1,66%, harina de girasol 4,92%, harina de soja 6,16% y afrechillo de arroz desgrasado 7,25%. Es entonces posible inferir que dicho contenido puede ser considerado a veces alto, tanto en materias primas convencionales, como la harina de soja, como en las de utilización estratégica, caso el afrechillo de arroz desgrasado. El contenido de pectinas de los tejidos vegetales varía según el origen botánico y anatómico de la planta.

En los cítricos, en el albedo se encuentran en alta proporción sustancias pécticas, en principio como protopectina insoluble que se transforma en pectina en la maduración del fruto, y al fin de madurez los dos tercios de las sustancias pécticas están como pectina soluble. En el endocarpo hay pectinas en pequeñas cantidades (Praloran, 1977). Las sustancias pécticas comprenden varios tipos, uno de ellos es la protopectina, precursora de las demás sustancias, la cual se halla en las frutas verdes y es responsable de la textura rígida de dichas frutas. A medida que las frutas maduran, la protopectina se transforma en pectina soluble o ácido pectínico. Dicha protopectina es de carácter insoluble en agua al estar altamente esterificada con metanol. En la medida que la fruta madura la protopectina se va solubilizando por acción de protopectinasa, transformándose en pectina. Si ocurre una sobremaduración, las pectinas se degradan por enzimas y forman el ácido péctico en cuyo caso no hay metilación de los grupos carboxilo del ácido galacturónico. Si la

degradación continúa, se forman monómeros de ácido galacturónico. Todas estas sustancias confieren distintas texturas a la fruta. Hay asimismo variación en los valores de contenido de pectinas en residuos cítricos. En el cuadro 2 se proporcionan datos obtenidos por diferentes autores.

Cuadro 2. Contenido de pectinas en residuos de frutos cítricos según diferentes autores

Nomenclatura del producto	% Pectina (base seca)	Fuente
Cáscara naranja Liucheng	4,37	Wang <i>et al.</i> (2008), modificado
Cáscara pomelo Wandrum	8,64	
Cáscara limón	6,52	
Cáscara mandarina Ponkan	3,73	
Cáscara naranja Navel	7,5	Kratchanova <i>et al.</i> (2004), modificado
Corteza seca de cítricos	9-18	Praloran (1977)
Cáscara de pomelo	16,25	Chaidedgumjom <i>et al.</i> (2009), modificado
Pulpa de citrus	22,3	Bampidis y Robinson (2006), modificado
Residuos de citrus prensados	15-35	Drochner <i>et al.</i> (2004)

La empresa elaboradora de EC en Uruguay, no extrae las pectinas, ya que es un proceso costoso. Lo que se produce es la llamada “base de pectina” que es el subproducto industrial del procesado de cítricos que se lava y se le retiran azúcares, moliéndolo posteriormente. Las pectinas tienen importancia en la industria alimentaria ya que constituyen agentes gelificantes utilizándose en jaleas, mermeladas, jugos y productos lácteos, en donde se usan para compensar la pérdida de pectinas naturales y aumentar la consistencia final del producto.

Los **polifenoles** son metabolitos secundarios de vegetales, con capacidad antioxidante, que participan en reacciones de defensa a estrés sufridos por éstos, confiriéndoles por lo general propiedades organolépticas. Los flavonoides son un tipo de polifenoles abundantes en el reino vegetal. Activan enzimas como la glutatión peroxidasa y la catalasa. Las isoflavonas, también polifenoles, tienen

asimismo acción antioxidante y el ácido alfa -lipoico, carotenoide de algunas frutas y verduras, ayuda a neutralizar los efectos de los radicales libres potenciando las funciones antioxidantes de las vitaminas C, E y de la enzima glutatona peroxidasa. Mandalari *et al.* (2006) citan que la cáscara de citrus es fuente de flavonoides que tienen acción beneficiosa para la salud como agentes protectores contra cáncer, infecciones, alergias, fragilidad capilar y agregación de plaquetas. Asimismo se verifica actividad antioxidante. Mokbel y Hashinaga (2006) determinaron la presencia de flavonoides en pomelo, citando que los cítricos poseen sustancias no solamente antioxidantes sino que también pueden tener efectos antibacteriales. Rehman (2006) utilizó extracto de cáscara de citrus en aceite de maíz, encontró que poseía fuerte actividad antioxidante la cual fue similar a los antioxidantes sintéticos como BHA y BHT, recomendándolo como un antioxidante natural que combate la rancidez de aceites y grasas. El uso del extracto de cáscara de citrus como antioxidante natural podría minimizar los efectos adversos sobre la salud que los otros antioxidantes poseen. Esta capacidad se debía a compuestos fenólicos y flavonoides. John (2004) cita la presencia de fenoles, incluyendo flavanonas, flavona- glicósidos, flavonas metoxiladas, hidroxí- cinamatos y otros glicósidos fenólicos y aminas. La cáscara de los cítricos es abundante en flavonoides que contribuyen a la salud, siendo la misma la parte de la fruta más rica en estos compuestos (Wang *et al.*, 2008). Estos autores realizaron un estudio de los flavonoides presentes en la cáscara de ocho variedades de cítricos, estudiando asimismo la composición de los flavonoides discriminados en flavanonas, flavonas, flavonoles y ácidos fenólicos. Encontraron que la cáscara de pomelo Wendum y Peiyou fue abundante en naringina, en tanto la de mandarina Ponkan y naranja Liucheng lo fue en hesperidina, ambas flavanonas.

El EC puede contener otro tipo de sustancias potencialmente beneficiosas, como son los **carotenoides**. Un alto nivel de carotenoides puede disminuir el riesgo de cáncer, degeneración macular, cataratas y enfermedades cardiovasculares (Aust *et al.*, 2001). Los carotenoides poseen ventajas como no ser tóxicos, presentar actividad antioxidante e impartir colores amarillos y rojos, habiéndose visto que existe una relación inversa entre la incidencia de cáncer y el consumo de fuentes naturales de

carotenoides (Moreno *et al.*, 2006). Las frutas cítricas son ricas en un tipo de carotenoides que son las xantofilas. Se ha visto que tanto la naranja Valencia como la mandarina, poseen luteína, zeaxantina, criptoxantina, violaxantina, luteoxantina, auroxantina y otros carotenoides, tanto en cáscara como en piel (Gross, 1977). Wang *et al.* (2008) estudiaron el contenido de carotenoides de ocho variedades cítricas encontrando que las cáscaras de mandarina Ponkan, Kumquat (*C. microcarpa*) y naranja Liucheng contenían la mayor cantidad de luteína, zeaxantina, beta-criptoxantina y beta-caroteno, siendo los niveles en cáscara mucho mayores que los niveles en el fruto, aunque cabe la aclaración de que los autores quieren referirse como “fruto” al “resto del fruto sin cáscara. La cantidad de carotenoides fue menor que la de flavonoides. La cantidad de carotenoides para la cáscara de naranja estudiada por estos autores fue de 0,045% en base seca (incluido beta-caroteno). Moreno *et al.* (1999) encontraron que en naranja Valencia la concentración de carotenoides totales fue de 18 mg/kg de cáscara, concluyendo que los desechos agroindustriales de cáscaras de naranja Valencia representan una potencial fuente de carotenoides totales. Moreno *et al.* (2006) realizaron una cuantificación de carotenoides totales en cáscara de naranja. La harina de cáscaras de naranja con una humedad de 7-10% mostró valores entre 103 a 140 mg de carotenoides totales/Kg. de cáscara en extracción 75% hexano y 25% éter de petróleo, y entre 53 y 70 mg de carotenoides totales / kg de cáscara cuando fue 100% hexano, no habiendo diferencias entre las variedades de naranja estudiadas. Karunajeewa *et al.* (1984) citan a la harina de cáscara de naranja como una fuente que contiene carotenoides naturales, siendo su valor de 60 ppm, en tanto que para maíz citan valores entre 8-50 ppm y para *gluten meal* entre 100 y 300 ppm. Muchas de las xantofilas corresponden a moléculas que pueden ser aprovechadas por el pollo para pigmentación de piel y por la gallina para pigmentación de yema de huevo. Praloran (1977) cita los carotenoides que hay en los cítricos: en el flavedo hay caroteno y xantofilas en tanto en el endocarpo se encuentran caroteno y licopeno. Gross (1977) cita que el licopeno se halla en pequeñas cantidades en mandarina y no lo reporta en naranjas de ninguna de las variedades estudiadas. El licopeno tiene capacidad antioxidante siendo una

molécula antiproliferativa (Rock, com. pers.⁴). Se ha visto que es un potente inactivador de peróxido de hidrógeno y de otras especies reactivas. Carreras (2004) encontró falta de efecto antioxidante del licopeno suministrado a pollos a dosis de 10 ppm, lo cual se reflejó en los valores de TBARS en la carne (0,07 a 0,13 nmoles de equivalentes de MDA/mg de tejido) para diferentes tiempos de incubación de muestras de carne de pechuga. Estos valores no difirieron significativamente del testigo.

3. Utilización de los subproductos cítricos en la dieta de las aves

En la alimentación de las aves, la inclusión de alimentos estratégicos (cuyos precios suelen ser inferiores a los convencionales), enfrenta limitantes debido a compuestos químicos que tienen efectos no deseados sobre la nutrición de los animales a los cuales están destinados. En el caso del EC, el contenido de pectinas puede ser un factor que incida negativamente en un óptimo aprovechamiento por el pollo. A continuación se describirá críticamente la información bibliográfica sobre el efecto de los subproductos cítricos sobre variables de crecimiento animal y de calidad de carcasa.

a) Efecto de subproductos cítricos en el crecimiento animal

En lo que hace a *consumo alimenticio, ganancia de peso y conversión de alimento* en pollos, Oluremi *et al.* (2006) estudiaron el efecto de naranja desecada al sol probando las dosis de 5%,10%,15% y 20% en pollos en iniciación y terminación, no comprobando efecto significativo en consumo alimenticio, ganancia de peso y conversión alimenticia, pero el peso final disminuyó significativamente con la dosis de 20%. Las dosis de 5%, 10% y 15% mejoraron los valores de peso final del testigo pero no significativamente. La grasa abdominal se vio aumentada con el tratamiento de 20% y el hígado manifestó hipoplasia para los pollos de dicho tratamiento. No hubo diferencia en el peso de riñón, bazo, molleja y corazón. Se fija por estos autores un nivel de 15% de naranja desecada en la dieta como máximo para pollos. En pollos, Yang y Chung (1985) estudiando el efecto de cáscara 5%, cáscara 10% y cáscara 15% más pulpa 5%, concluyeron que la cáscara de citrus desecada puede

⁴ Comunicación personal de E Rock, 8 de diciembre de 2005.

reemplazar el 5% de las dietas convencionales de pollo. Para el período de 1 a 6 semanas de edad, bajó el peso final de los pollos respecto al testigo, al igual que la ganancia de peso y la conversión de alimento con el tratamiento de dosis de cáscara 15% y pulpa 5%. La pulpa deshidratada de citrus ha sido considerada una fuente de energía no tradicional por lo que su estudio ha sido de interés en países como por ejemplo Cuba. Según Ezcurra (1987) el empleo de dicho producto es adecuado en pollos parrilleros hasta un 5-10%, dado que dosis más altas resultan en un bajo consumo e índice de conversión. Este autor reporta ensayos de digestibilidad en vivo en donde resalta la alta digestibilidad de la materia orgánica, pero también llama la atención acerca de la relación calcio/fósforo no equilibrada y el nivel bajo en azufre. Juin *et al.* (2003) estudiaron el efecto del extracto cítrico en pollos, considerando la necesidad de reducir el uso de antibióticos. No encontraron diferencias significativas en la ganancia de peso entre los días 0 y 14, pero sí hubo entre los días 14 y 24 en relación al testigo en peso vivo al día 24. No hubo diferencias significativas en la ganancia de peso ni en la conversión en este último período aunque la conversión fue mejor en valor absoluto en los tratamientos en relación al testigo. Mourão *et al.* (2008) utilizando tasas de inclusión de pulpa de citrus (de alta materia seca) de 5% y 10%, encontraron que se reducía el peso final de los pollos, efecto que era mayor en la dosis de 10%. El consumo alimenticio fue más alto en aves que consumieron la dieta que contenía 10%, por lo que la conversión tomó valores más desfavorables, concluyendo que la pulpa de citrus en las dietas de pollos afectan los resultados finales. La explicación de los efectos negativos está dada por el alto nivel de polisacáridos no amiláceos de la pulpa de citrus; los efectos negativos de la fibra se asocian con una menor digestión de nutrientes y un descenso de la energía metabolizable, lo cual resulta en una capacidad limitada de degradar dichos polisacáridos en el intestino delgado.

En relación a los efectos de las *pectinas* en el crecimiento de las aves, Burnett (1966) reportó el efecto negativo de los polisacáridos viscosos en el desempeño de los pollos. Wagner y Thomas (1977) encontraron que la pectina es un agente gelificante responsable de las heces viscosas observadas cuando los pollos comen dietas conteniendo alto nivel de centeno, siendo dicha sustancia el componente que

reduce el crecimiento. Asimismo, probando diferentes dosis de pectina en la dieta (0%, 1,5%, 3%, 4,5% y 6%), vieron un aumento en la reducción en la ganancia de peso de los pollos en las dietas con pectina y un empeoramiento en la conversión en el período de 0 a 55 días. La dosis de 4,5% fue la que mostró la máxima reducción. Los estudios en pollos demuestran un efecto negativo sobre crecimiento y conversión alimenticia cuando se adiciona pectina de citrus altamente metilada (Vohra y Kratzer, 1964, Patel *et al.*, 1980, Patel *et al.*, 1981, Bishawi y McGinnis, 1984). La disminución del consumo de alimento es citada como una de las causas del empeoramiento de los parámetros productivos (Patel *et al.*, 1980). El efecto de pectina y goma guar se ha visto similar al de dietas conteniendo polisacáridos viscosos caso centeno o cebada, en términos de performance de los pollos y disminución de energía metabolizable aparente corregida por nitrógeno (EMAn) (Carré *et al.*, 1995). Drochner *et al.* (1990) observaron una reducción del consumo alimenticio en ponedoras al dar pectina de citrus de baja metilación, y aumento en el consumo de agua, siendo la excreta más acuosa. Se encontró por medio de Langhout *et al.* (1999) que con pectina de alta metilación suministrada a 30 g/kg de dieta, se veía reducción de ganancia de peso y de la utilización de alimento en forma significativa, en pollitos parrilleros. En cambio, con pectina de baja metilación, a igual dosis, sólo hubo pequeñas reducciones en ganancia de peso y conversión alimenticia. Asimismo, Langhout y Schutte (1996) concluyeron que la inclusión de pectina de citrus de baja metilación o de pectina de remolacha en la dieta tiene un pequeño efecto, o no lo tiene, sobre la performance de los pollos. La pectina de alta metilación adicionada a la dieta redujo significativamente el crecimiento y la utilización del alimento. Las pectinas de alto metóxilo son capaces de disminuir los parámetros productivos de los pollos (Langhout *et al.*, 2000). El efecto negativo de las pectinas de alta metilación se debe a la producción de metanol a partir de los ésteres (Drochner *et al.*, 1990). La microflora intestinal es capaz de metabolizar cantidades limitadas de metanol. Bishawi y McGinnis (1984) encontraron aumento en la viscosidad fecal al incluir pectina altamente metilada en dieta a un nivel del 4%, efecto que no se asoció con manifestaciones patológicas ni con signos de deficiencia, observándose un menor consumo de alimento y una mayor viscosidad en

la excreta. El aumento de la viscosidad es el mecanismo propuesto por estos autores para explicar la disminución del consumo de alimento, con posibilidad de que factores hormonales estuvieran involucrados en dicha disminución. Se define viscosidad como la medida de las propiedades deslizantes de líquidos y gases, pudiendo asimismo entenderse como la resistencia que ofrece un fluido al movimiento de sus moléculas. Una alta viscosidad de la digesta implica una dificultad de deslizamiento. Esto ocurre porque los PNA acumulan grandes cantidades de agua y la digesta se vuelve pegajosa. Los polímeros de PNA aumentan la viscosidad al unirse entre sí formando una estructura de malla, de manera que para llegarlos a digerir es necesario acortarlos de forma que no puedan entrelazarse. El aumento de la viscosidad se da porque los PNA acumulan grandes cantidades de agua de manera que el quimo se vuelve viscoso y pegajoso, aumento que dificulta la absorción intestinal y enlentece el tránsito de los alimentos, pudiendo disminuir la ingestión de alimentos (Bühler *et al.*, 1998). Maisonnier *et al.* (2002) vieron que la absorción es el principal factor involucrado en la reducción de la digestibilidad de los lípidos debido a la alta viscosidad intestinal. Al utilizar alimentos viscosos las heces se vuelven pastosas. Francesch (com. pers.⁵) cita el incremento en el consumo de agua en dietas con cebada como causa de la pastosidad de las heces. Esto conlleva problemas de desprendimiento de amoníaco y humedad de la cama. Se producen altas pérdidas de agua por las heces (Carré *et al.*, 1995). Se ha registrado aumento en la viscosidad fecal cuando se adicionan pectinas altamente metiladas en la dieta, a un nivel de 4% (Langhout y Schutte, 1996). La digestibilidad fecal de la materia orgánica, grasa, almidón y aminoácidos, retención de nitrógeno y energía metabolizable se reduce cuando los pollos comen pectina de alta metilación (Langhout *et al.*, 1999). La actividad de amilasa y la hidrólisis de celulosa en el contenido cecal fueron altas cuando se adicionó pectina (Yu *et al.*, 1998).

Se ha reportado efectos de las pectinas sobre la morfometría del tracto gastrointestinal. Debido a la viscosidad intestinal aumentada se ha observado la hipertrofia de los órganos digestivos, reflejada tanto en el aumento de peso como en la longitud de los mismos. Almirall *et al.* (1995) vieron que el peso del páncreas se

⁵ Comunicación personal de María Francesch, 3 de abril de 2000.

ve aumentado al suministrar alimentos viscosos, encontrando asimismo en su experiencia que el crecimiento de los pollos disminuye ante el aumento de la viscosidad intestinal motivada por dietas de cebada. Se ha visto que las dietas con goma de guar o pectinas influyen sobre la viscosidad: harina con residuos de guar aumenta la viscosidad intestinal, siendo el segmento del ileon la porción más sensible a los cambios de composición de la dieta (Lee *et al.*, 2003). El ciego de las aves es un sitio de degradación de los PNA. Se comprobó que los PNA afectan la fisiología digestiva a través de la disminución de la digestibilidad de nutrientes, de la actividad enzimática y de la eficiencia de absorción de dichos nutrientes. Jacobs (1983) cita que los estudios de ultraestructura mostraron que la fibra dietaria puede alterar la morfología del intestino delgado aunque otros reportes indican ausencia de efecto en el crecimiento del mismo. La fibra dietaria ha mostrado alterar la actividad de las enzimas pancreáticas. La altura de las vellosidades fue afectada por la pectina de citrus (10% de la dieta de ratas) la cual produjo un decrecimiento en 7,6% en comparación con un control libre de fibra. En tanto, aumentó el largo de las columnas de las criptas en 8,3% (Jacobs, 1983). La goma guar en cambio, a igual dosis, no afectaba la morfometría de las criptas de la vellosidad. Los efectos diferentes en la proliferación celular se explican por diferencias entre las fuentes de fibra en cuanto a la solubilidad, formación de gel, efecto en el tiempo de transito, actividad de intercambio iónico y adsorción de ácidos biliares. La pectina incrementa la exfoliación de las vellosidades con daños en la punta de la vellosidad (Cassidy *et al.*, 1981, Tasman-Jones *et al.*, 1982). Sólo fuentes específicas de fibra son capaces por tanto de estimular el crecimiento de la mucosa y la proliferación celular, tal como se comprobó para la goma guar pero no para la pectina. La goma guar produce mayores incrementos en la masa del intestino delgado que otros agentes gelificantes (Elsenhans *et al.*, 1981). El peso del ciego se incrementó cuando se alimentaron pollos con pectina de citrus altamente metilada, a 3% de la dieta (Langhout y Schutte, 1996). Pectina de alta metilación en pollos parrilleros a un nivel de 30 g/kg de dieta afectó la pared intestinal y la actividad microbial ileal (Langhout *et al.*, 1999). La longitud del ciego se ha visto que es más corta en gansos alimentados con pectina, frente a otros que recibieron alfalfa, afrechillo de cebada,

corteza de arroz, celulosa o lignina como mayor fuente dietaria de fibra (Yu *et al.*, 1998). No vieron estos autores daños morfológicos en las vellosidades intestinales en ninguno de los tratamientos. Se ha visto que el aumento del peso y longitud de los órganos es consecuencia de un proceso adaptativo del animal. El organismo reacciona incrementando la capacidad del sistema digestivo ocurriendo un aumento en la secreción de las enzimas pancreáticas y en el área de absorción (Brenes *et al.*, 1993, Tabook *et al.*, 2006).

La viscosidad puede medirse de varias formas. Una de ellas es mediante el porcentaje de polisacáridos solubles. Este parámetro no tiene una relación totalmente lineal por lo que no da una buena estimación de la viscosidad. Puede utilizarse la viscosidad potencial (PAV), que implica una inactivación de las enzimas con etanol caliente, la extracción del residuo el cual se centrifuga, y la determinación de la viscosidad con instrumental apropiado (viscosímetro). Otra forma es la viscosidad real (RAV). En este caso no se inactivan las enzimas endógenas, implicando también extracción de residuo, centrifugación y determinación con viscosímetro. Además se utiliza el llamado índice de cloaca, metodología usual para determinar la viscosidad de la excreta. Implica una evaluación de la apariencia de la misma asignándose un índice de 1 a 5 que se incrementa de acuerdo a la suciedad (se registra el grado de limpieza de la cloaca evidenciado por la presencia relativa de heces húmedas y pastosas). Requiere de cuatro personas evaluadoras, y el valor medio resultante del índice se atribuye a cada ave. Este índice de cloaca se correlaciona con la viscosidad con un $r=0,43$ (Maisonnier *et al.*, 2001b).

Finalmente, la viscosidad intestinal incide negativamente en características de la canal del pollo. Se ha visto menor rendimiento al sacrificio, ocasionado por vesículas o llagas en la pechuga, debido al suministro de alimentos viscosos (Bühler *et al.*, 1998). Por otra parte, el rendimiento de canal del pollo parrillero se vio aumentado con la utilización de una combinación de celulosa, hemicelulosa y pectinasa, en dietas de maíz-soja (Saleh *et al.*, 2005).

En lo que hace al efecto de los *polifenoles*, se han podido comprobar las funciones inmunoprotectora, antibiótica y antifúngica de los mismos. Harborne y Williams (2000) citan los efectos antiinflamatorios y antimicrobiales de dichos

compuestos. En nutrición animal, la utilización de polifenoles podría eventualmente reducir el uso de antibióticos como promotores de crecimiento. Los antibióticos son utilizados para el control de la flora bacteriana favoreciendo a los microorganismos benéficos en detrimento de los putrefactivos. De esta manera se mejora la absorción de nutrientes, redundando esto en una mayor ganancia de peso y conversión alimenticia. Sin embargo muchos antibióticos son cuestionados existiendo una controversia sobre si los mismos determinan resistencia a medicamentos antimicrobianos administrados en medicina humana. Por tanto muchos países han decidido prohibir ciertos antibióticos a tal punto que quedan pocos autorizados actualmente por la Unión Europea. Se están desarrollando aditivos alternativos que incluyen ácidos orgánicos, sustancias prebióticas, prebióticas y simbióticas y extractos de plantas, con el fin de utilizarlos como sustitutos de antibióticos en nutrición animal, sin que existan riesgos para el ser humano. Los polifenoles a través de su acción protectora pueden ser incluidos en este grupo de sustancias cuya utilización futura puede ser promisoriosa.

b) Efecto de subproductos cítricos en la calidad de la canal y carne

Lanza *et al.* (2004) probaron la inclusión de 20% de pulpa de citrus deshidratada en la dieta de avestruces. Las características físicas de la carne no se vieron afectadas por los tratamientos siendo la conclusión que es posible utilizar la pulpa de citrus como un ingrediente que reduzca los costos de alimentación.

En lo que hace a *rendimiento* del pollo, Mourão *et al.* (2008) citan que la fibra de la dieta puede influir en el tamaño del aparato digestivo, influenciando el rendimiento de carcasa, y encontraron que dietas conteniendo 5% y 10% de pulpa de citrus determinaron que el rendimiento fuera 1,55% y 4,78% menor al testigo respectivamente. Se encontró diferencia significativa en el rendimiento entre las dosis de 10% de pulpa de citrus y el testigo, siendo el mayor desarrollo del tracto gastrointestinal un factor contribuyente a este fenómeno.

López Bote (2004) cita el efecto beneficioso de bioflavonoides de citrus sobre la carne de pollo, lo que incluye una mejora en la *capacidad de retención de agua*. El rápido descenso del pH de la carne determina la desnaturalización de las proteínas y la consiguiente exudación. Dado que los polifenoles activan enzimas protectoras de

la oxidación, y que los radicales libres causan daños a la membrana celular ocasionando pérdida de agua, la calidad de la carne puede mantenerse en función de la presencia de dichos polifenoles.

Mourão *et al.* (2008) encontraron que la *grasa abdominal* era menor en aves que consumían dieta con 10% de pulpa de citrus, siendo la causa la falta de capacidad de las aves de obtener la energía requerida para el crecimiento normal y la deposición de grasa.

En el *pH* de la carne de ave, Mourão *et al.* (2008) estudiando la utilización de pulpa de citrus a 5% y 10% de inclusión, vieron que una dosis de 10% de pulpa de citrus en la dieta disminuyó el *pH* muscular llegando a valores de 5,93 (valores medidos a las 24 horas del enfriamiento). Este valor fue significativamente diferente del testigo y del tratamiento de 5% de pulpa (6,08 y 6,10 respectivamente).

En referencia al *color de piel y carne del pollo*, algunos de los carotenoides pueden ser aprovechados por el pollo para pigmentación de piel siendo su utilización proveniente de residuos de citrus estudiada por Janky *et al.* (1982) y Mourão *et al.* (2008). Los primeros autores entienden que el escaso efecto pigmentante de los residuos de citrus puede deberse a que la citranaxantina tiene 50% de acción como vitamina A por lo que es entonces sólo 50% disponible como agente pigmentante, o a que las xantofilas del maíz son más disponibles o a que las xantofilas del cítrico son más sensibles a la oxidación que las del maíz. No obstante las tablas de composición de alimentos de INRA, Orcasberro *et al.* (1987) y Tablas de América Latina ya citadas, no proporcionan valores de xantofilas para la pulpa de citrus. Mourão *et al.* (2008) no encontraron diferencias significativas en luminosidad ni en amarillamiento en piel de pollos que recibían dietas que contenían 5% y 10% de pulpa de citrus en relación a un testigo; en cambio sí vieron diferencia en el enrojecimiento, el cual se redujo significativamente en especial en el tratamiento de 10% de pulpa de citrus, no presentándose así tonos rojos indeseables. Esto puede deberse según los autores a los bajos niveles de compuestos rojos bioactivos en la pulpa de citrus, a la reducida absorción intestinal de pigmentos, o ambos. Dado que la fibra soluble afecta la digestión y absorción de lípidos y que la solubilización y absorción de los pigmentos ocurre con la fase lipídica, esta puede ser la causa del efecto negativo sobre la

pigmentación de la piel. Lanza *et al.* (2004) no encontraron diferencias significativas en los parámetros L*, a* y b* en carne de avestruces, comparando la dieta con pulpa de citrus y la control.

E. OBJETIVOS

Se estudiarán los efectos de la inclusión del EC en dosis crecientes en la dieta de pollos de carne, en dos etapas diferentes del desarrollo del animal:

1. En la etapa de iniciación, en la cual se pretende comprender la relación entre el tipo de fibra contenida en el EC, la salud intestinal de los pollos y el rendimiento productivo, lo que permitirá ponderar el efecto del EC y el límite de inclusión en aves jóvenes.

2. En la etapa de terminación o engorde en la cual se pretende determinar el efecto de la inclusión de dosis crecientes, sobre los parámetros relacionados a la performance productiva y a la calidad de la carne de ave.

Los objetivos del estudio son: caracterizar el EC a través de su composición química, y evaluar el EC como aportador de pectina y de antioxidantes:

a. Como modulador del estado de salud del ave a través de la medición de parámetros sanguíneos y peso de órganos internos en pollo, a 20 días de edad en respuesta a diferentes niveles de inclusión.

b. Como factor incidente en el crecimiento y rendimiento de carne en respuesta a diferentes niveles de inclusión.

Para esto se establecen las siguientes hipótesis:

a. El EC contiene pectinas a niveles que pueden generar efectos indeseables sobre la digestión de los animales a través del aumento de la viscosidad intestinal, afectando el consumo alimenticio, la ganancia de peso y la conversión alimenticia.

b. Las diversas sustancias que posee el EC incidirían sobre los parámetros de calidad de carne. Entre ellas se encuentran los antioxidantes que podrían afectar positivamente la calidad de la carne disminuyendo el deterioro oxidativo durante la conservación en frío.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL EXPELLER DE CITRUS

Se analizaron cuatro muestras de EC provenientes de la empresa Azucitrus, de distintas partidas correspondientes a los años 2006 y 2007. Se determinó el contenido de materia seca (MS) a 105 °C hasta peso constante, contenido de cenizas (C), Fibra Cruda (FC), Proteína Cruda (PC) por Kjeldahl ($N \times 6,25$) y extracto etéreo (EE) por Soxhlet según AOAC (1990). Los contenidos de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y lignina detergente ácido (LDA) se determinaron de forma secuencial según Van Soest *et al.* (1991), utilizando un Fiber Analyzer 200 (Ankom Technology Corporation, Fairport, N. Y). De la misma forma se analizó el contenido de FDA no secuencial, calculándose el contenido de pectinas estimado por la diferencia entre FDA no secuencial y FDA secuencial. El contenido de polifenoles se determinó por el método Folin-Ciocalteu (Montreau, 1972). La energía bruta (EB) se determinó por calorimetría (bomba calorimétrica adiabática Gallenkamp). Los datos se expresan en base seca.

B. EFECTO DEL EXPELLER DE CITRUS SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS, MORFOMETRÍA INTESTINAL Y CALIDAD DE CARNE

1. Animales y alojamiento

Se utilizaron pollos parrilleros machos de la línea Ross, de un día de edad, alimentados con una dieta comercial hasta el inicio de las experiencias. En la experiencia 1, se utilizaron 28 aves desde los días 7 a 20 días de edad. En la experiencia 2 se utilizaron 36 pollos de 44 a 58 días de edad. Las aves se criaron en piso y se alojaron a efectos de los experimentos, en locales de la Facultad de Agronomía (Campus de Sayago), en jaulas individuales con comedero manual (recipiente individual) y bebedero automático de tipo chupete. El plan de luz aplicado fue de 23 horas de luz y 1 hora de oscuridad.

2. Protocolo experimental

a) Experiencia 1: A la edad de 7 días y hasta los 20 días de edad, cuatro grupos de 7 pollitos cada uno recibieron totalmente al azar, una de las siguientes dietas experimentales (cuadro 1): dieta base sin EC (Testigo); dieta base con EC a 1,75 %; dieta base con EC a 3,5 % o dieta base con EC a 7%. Luego de un ayuno de 4 horas las aves se sacrificaron el día 20 de acuerdo a las normas establecidas por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA, 2000) para realizar mediciones a nivel intestinal y en vísceras.

b) Experiencia 2: A la edad de 44 días de edad, cuatro grupos de 9 pollitos cada uno recibieron totalmente al azar, una de las siguientes dietas experimentales (cuadro 1): dieta base sin EC (Testigo); dieta base con EC a 1,75 %; dieta base con EC a 3,5 % o dieta base con EC a 7%. Luego de un ayuno de 4 horas las aves se sacrificaron el día 58 siguiendo las normas de la CHEA (2000).

Cuadro 3. Composición de las dietas

Ingredientes (%)	Experiencia 1				Experiencia 2			
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 1	T 2	T 3	T 4
Maíz	53,10	52,90	54,15	56,17	55,35	55,27	55,17	53,42
Concentrado soja	21,80	22,82	22,92	24,50	18,57	19,10	19,65	20,60
<i>Expeller</i> de citrus	-	1,75	3,50	7,00	-	1,75	3,50	7,00
Afrechillo de trigo	12,5	20,00	7,00	-	12,00	0,00	8,00	5,5
Harina de carne y hueso	5,60	5,60	5,60	5,60	5,60	5,60	5,60	5,60
Harina de sangre	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Fosfato de calcio	0,50	0,50	0,50	0,50	-	-	-	-
Carbonato de calcio	0,60	0,60	0,60	0,60	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Aceite de girasol	2,20	2,20	2,10	2,00	4,20	4,00	3,80	3,60
Metionina	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Premezcla vit-min.*	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Composición química								
PC (%)	21,40	21,59	21,34	21,41	19,95	19,95	19,96	19,97
EM (kcal/kg)**	2967	2992	3017	3098	3130	3139	3149	3159
FC (%)	3,22	3,39	3,32	3,32	3,10	3,31	3,33	3,66

*Premezcla de minerales y vitaminas para pollos barrilleros. Provee cada 1,5 kg: Vitamina A 12.000.000U.I., Vitamina D3 2.000.000U.I., Vitamina E 25.000U.I., Vitamina K 7,6 g, Vitamina B2 5 g, D-Pantotenato de calcio 10 g, Niacina 30 g, Acido fólico 0,5 g Vitamina B12 13 ml, Cloruro de colina 500 g, Vitamina B1 0,5 g, Vitamina B6 1 g, Manganeso 90 g, Zinc 35 g, Hierro 25 g, Cobre 2 g, Yodo 2 g, Cobalto 0,1 g, Selenio 0,1 g, Excipiente c.s.p. 1,5 Kg.

**La energía metabolizable calculada para EC se realizó como promedio de valores obtenidos de ecuación de Carpenter y Clegg (1956, modificada por Oluremi, 2006) y de estimación de EM en base al análisis de energía bruta realizado en nuestro laboratorio, siendo de 3100 kcal EM/kg en base fresca (3526,7 kcal EM/ kg en base seca).

3. Determinaciones

En ambas experiencias se midieron consumo de alimento acumulado (g/ave/total), ganancia de peso (g) y conversión alimenticia (kg alimento/kg peso vivo). El consumo alimenticio se midió en la experiencia 1 entre los días 7 a 20 mientras que en la experiencia 2 se midió entre los días 44 a 58. El peso vivo se midió en la experiencia 1 el día 7 (peso inicial) y día 20 (peso final), en tanto que en la experiencia 2 se midió el día 44 (peso inicial) y 58 (peso final). La ganancia de peso se tomó en la experiencia 1 entre los días 7 a 20 y en la experiencia 2 entre los días 44 a 58. La conversión alimenticia (kg alimento/kg peso vivo) se calculó en la experiencia 1 entre los días 7 a 20 y en la experiencia 2 entre los días 44 a 58.

En la experiencia 1 se midieron: 1) valores sanguíneos: cantidad de glóbulos en cámara cuadrada de Neubauer rojos (n°/mm^3) y hematocrito en porcentaje. Para esto, a los 20 días de edad se extrajo sangre a cada ave en la vena del ala con aguja heparinizada y se colocó en ambiente refrigerado a 4 °C e inmediatamente se realizó la valoración sanguínea a través del conteo de cantidad de glóbulos rojos utilizando cámara cuadrada de Neubauer (n°/mm^3) y hematocrito (%) de acuerdo a método descrito por la Organización Panamericana de la Salud (OMS, 1983). 2) Peso del bazo, intestino delgado, páncreas y ciegos (g). 3) Largo y peso de intestino delgado y ciegos (cm). Para este fin se retiraron en forma cuidadosa el intestino delgado y los ciegos, midiéndose por separado el largo del intestino delgado (duodeno, yeyuno, ileon) y ciegos (órganos llenos). Luego de ser ambos vaciados inmediatamente los mismos fueron pesados (Maisonnier *et al.*, 2003). 4) Índice de cloaca. Al final de la experiencia en cada ave se determinó el índice de cloaca siguiendo el método descrito en Maisonnier *et al.* (2001a).

En la experiencia 2 se midieron: 1) Rendimiento de pechuga y patas (muslo entero) (%). El rendimiento se midió a las 3 horas del sacrificio se calculó como cociente entre el peso de pechuga o patas y el peso vivo, expresado en porcentaje. 2) Cantidad de grasa abdominal (% peso vivo) (Depelch y Ricard, 1965). Luego del sacrificio las carcasas se dejaron una noche a 4 °C y luego se extrajo la grasa abdominal y la circundante a la molleja y al proventrículo. La cantidad de grasa se expresó como porcentaje del peso vivo. 3) pH a 15 minutos; 45 minutos y 24 horas.

Se midió el pH de la carne (dos muestras en la pechuga y dos muestras en ambos muslos de cada carcasa, tomadas en este caso sobre músculo gastrocnemio) en tres momentos luego del sacrificio: 15 minutos, 45 minutos, y 24 horas., estando en este caso las carcasas refrigeradas a 4 °C. Para medir el pH se utilizó un peachímetro LT Lutron pH-201 con electrodo específico para mediciones en carne. 4) Capacidad de retención de agua (%). Se extrajo una muestra de carne de pechuga a 1 hora 30 minutos (tiempo arbitrario) luego del sacrificio y se midió la retención de agua a las 24 horas, según el método de Offer y Knight (1988). 5) Color de piel. El color de piel se tomó sobre la pechuga, por colorímetro Minolta Lab CR-10, a los 15 minutos del sacrificio. El mismo fue expresado en las dimensiones CIE L*a*b*, incluyendo luminosidad (L*), enrojecimiento (a*) y amarillamiento (b*) (Fletcher, 1992). 6) Color de carne. Una vez medido el color de piel se retiró esta y se tomaron dos determinaciones de color de carne sobre pechuga y dos sobre muslo (músculo gastrocnemio), por medio de colorímetro Minolta Lab CR-10, a los 15 minutos del sacrificio y a las 24 horas luego del mismo, estando en este caso las carcasas refrigeradas a 4 °C. Se utilizó el método CIE. Las muestras de pechuga se tomaron en una franja central del músculo pectoral en dos sitios equidistantes a derecha e izquierda de la quilla; para el muslo las muestras se tomaron de la zona central anterior del muslo derecho y del izquierdo (músculo gastrocnemio). 7) Oxidación lipídica, medida por TBARS. Se determinaron sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en músculo pectoral (mg de malonil- di- aldehído o MDA/kg de carne de pechuga fresca), según Linch y Frei (1993) con ciertas modificaciones (Gatellier *et al.*, 2004). Se calculó la concentración del MDA utilizando su coeficiente de extinción molar ($156000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Las determinaciones se realizaron a 1 hora 30 min del sacrificio y a las 24 horas. 8) Oxidación proteica, medida a través de carbonilos (nmoles DPNH/ mg de proteína). Las determinaciones se realizaron en el músculo pectoral, siguiendo el método de Mercier *et al.* (2004), para estimar el nivel de carbonilos, con ligeras modificaciones. Los carbonilos se cuantifican por su reacción de la 2,4-dinitrofenilhidracina (DNPH), con la resultante formación de una base de Schiff que produce la correspondiente hidrazona, cuantificable espectrofotométricamente a 360 – 385 nm. La concentración

de DNPH se calculó utilizando su coeficiente de extinción molar ($22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y los resultados se expresaron en nmoles de DNPH/mg de proteína. Las determinaciones se realizaron a 1 hora 30 minutos y a las 24 horas. 9) Enzimas antioxidantes: a) Glutathion peroxidasa (GPx). La actividad de GPx se midió por el método de De Vore y Green (1982) y Günzler y Flohé (1985). Dado que una unidad de GPx es definida como cantidad de extracto requerida para oxidar un milimol de NADPH por minuto, se calculó la concentración de NADPH utilizando su coeficiente de extinción molar a 22°C ($6300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y se expresó en resultado en $\mu\text{moles de NADPH oxidados /min/g carne fresca}$; b) Superóxido dimutasa (SOD). La actividad de SOD se midió según Marklund y Marklund (1974, modificado por Gatellier et al. 2004). Una unidad de actividad enzimática (U) se tomó como la actividad necesaria para inhibir en un 50% la autooxidación del pirogalol. El resultado se expresó en UI, unidades de inhibición SOD totales/g carne pechuga fresca; c) Catalasa. La actividad de catalasa se midió según Aebi (1984), utilizándose el coeficiente de extinción molar del H_2O_2 . ($39,4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Los resultados se expresaron en $\mu\text{moles de H}_2\text{O}_2 \text{ consumidos/min/g carne pechuga fresca}$. Para la determinación de enzimas de oxidación, las muestras se tomaron a 1 hora 30 minutos y a las 24 horas luego del sacrificio (tiempo arbitrario).

4. Diseño y modelo estadístico

El diseño utilizado es completamente al azar, en donde la unidad experimental es el animal. El único factor utilizado para definir los tratamientos en ambas experiencias fue la dosis de EC. El modelo es:

$$Y = \mu + \zeta_i + \varepsilon_{ij}$$

Y corresponde a las variables aleatorias medidas, μ es la media poblacional, ζ_i es el efecto de la dosis de EC y ε_{ij} es el error experimental, siendo i el i-ésimo tratamiento y j la j-ésima repetición. Los resultados fueron analizados por medio de análisis de varianza, aplicando el modelo lineal generalizado. En aquellos casos en que se halló significancia, las medias de los tratamientos se compararon por medio del test de Tukey-Kramer. Se analizaron contrastes por medio de polinomios ortogonales. Para las variables TBARS, carbonilos y actividad antioxidante se

utilizó un diseño factorial, analizándose efecto tiempo (1 h. 30 min y 24 h) y efecto dosis de EC.

El modelo es:

$$Y = \mu + \zeta_i + \gamma_j + \zeta_i \gamma_j + \varepsilon_{ij}$$

Y corresponde a las variables aleatorias medidas, μ es la media poblacional, ζ_i es el efecto de la dosis de EC, γ_j el efecto tiempo, $\zeta_i \gamma_j$ la interacción tiempo por dosis, y ε_{ij} es el error experimental, siendo i el i -ésimo tratamiento y j el j -ésimo tiempo. Se utilizó el mismo paquete estadístico que en el caso anterior.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL EXPELLER DE CITRUS

Los resultados de composición del EC se presentan en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Composición química del EC, base seca

MS (%)	87,90 ± 2,9 ⁺
PC (%)	6,29 ± 0,67 ⁺⁺
^a FDNcc (Sec.)(%)	22,44 ± 0,14 ⁺⁺
^b FDAcc (Sec.)(%)	19,13 ± 1,38 ⁺⁺
LDA (Sec.)(%)	1,33 ± 0,82 ⁺⁺
^c FDA (No sec.)(%)	30,16 ± 1,69 ⁺⁺
Pectinas (%)	11,03 ± 0,36 ⁺⁺
Polifenoles totales (g EAG/100 g)	5,51 ± 1,04 ⁺⁺
FC (%)	19,17 ± 0,68 ⁺⁺
EE (%)	0,58 ± 0,70 ⁺⁺
C (%)	6,96 ⁺⁺⁺⁺
EB (Kcal.EB/kg)	3955 ± 9 ⁺⁺⁺

^aFDNcc.: fibra detergente neutro corregida por cenizas; ^bFDAcc. (Sec.): fibra detergente ácido corregida por cenizas, determinación secuencial; ^cFDAcc. (No sec.); fibra detergente ácido corregida por cenizas, determinación no secuencial. El contenido de pectinas se estimó por diferencia entre FDAc.c. (No sec.) y FDAc.c.(Sec.). Los valores representan el promedio de +n=4, ++n=3, +++n=2, ++++n=1 y el error estándar medio.

Los valores de proteína cruda son menores que los reportados por la mayoría de los autores, salvo en los casos de Pigurina *et al.* (1991) y Cozzolino *et al.* (1994). El nivel de extracto etéreo obtenido en la experiencia es sensiblemente menor que en la mayoría de los casos citados, en tanto que la fibra cruda es bastante mayor. El bajo valor de extracto etéreo permitiría inferir a priori que es un producto sin semilla, aunque los datos de la empresa elaboradora confirman la presencia de ésta (Díaz, com. pers.⁶). El error estándar medio de 0,7 (mayor que el promedio de 0,5) obedece

⁶ Comunicación personal de Carina Díaz (Azucitrus S. A.) al autor, 3 de noviembre de 2009.

a que una de las muestras tuvo 0% de lípidos. El valor de energía metabolizable calculado para el experimento (3526,7 kcal /kg, base seca, cuadro 3) difiere del de Oluremi *et al.* (2006) quien adjudica 3998,4 kcal /kg (base seca), dado que en el caso de este autor el producto contenía un alto nivel de extracto etéreo (12,6%) siendo sensiblemente menor en fibra cruda (7,86%). Ha *et al.* (1996) y Lanza *et al.* (2004) no proporcionan datos de energía para aves por lo que no es posible la comparación. El valor de energía metabolizable calculado muestra que el EC posee menor energía metabolizable que el grano de maíz, considerando en este grano un promedio de 3300 kcal /kg. Pese a ello, no puede considerársele un concentrado energético para aves (no ocurre lo mismo en rumiantes), dado su alto nivel de fibra. Trujillo (2006) suministra datos de composición química del EC, con valores de 8,1% de PC, 21% de FDA (fibra detergente ácido) y 2,8% de LDA (lignina detergente ácido), que pueden servir como referencia de comparación, observándose pequeñas variaciones respecto a estos datos. El valor de la LDA encontrado por esta autora fue diferente de otras fuentes de fibra analizadas con valor similar de FDA (por ejemplo trébol blanco), lo cual indica la importancia del análisis completo de la fibra.

Según los resultados del presente experimento, el valor estimado de pectinas que surge de la diferencia entre la FDA no secuencial y la secuencial correspondió a 11,03% %. El mismo se encuentra dentro de los rangos citados por Praloran (1977) en tanto difiere de los valores mayores o menores citados por otros autores como Wang *et al.* (2008) o Drochner *et al.* (2004).

El contenido de polifenoles totales estuvo dentro del rango hallado para harina de cítricos por Rincón *et al.* (2005) siendo más parecido a los valores que estos autores reportaron para pomelo que los reportados para naranja o mandarina.

Las diferencias halladas en los análisis del presente experimento respecto a los antecedentes (cuadro 1), deben buscarse en la composición de la materia prima original, dada la variación estacional citada y la presencia de distintas proporciones de naranja, limón, mandarina y pomelo. No fue posible relevar el nivel de inclusión de cada tipo de fruta, por lo que puede concluirse que la materia prima que se conoce como “EC” presenta dificultades al momento de intentar estandarizarla.

Denominaciones tales como ”*pelets* de citrus”, ”*pelets* de cáscara deshidratada”,

“pulpa de citrus”, “*expeller* de pulpa”, se prestan a confusión generando dudas acerca de que partes de la fruta se encuentran en el producto, así como cuál ha sido el proceso al que la materia prima fue sometida. Por esto se propone denominar al producto como “residuo de la industria de citrus” y así incluirlo en una normalización que aún no existe oficialmente para los alimentos para animales. De lo contrario, deberá aceptarse su variabilidad y remitirse a análisis químicos ante la utilización de una determinada partida.

B. EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE EXPELLER DE CITRUS EN LA ETAPA DE INICIACIÓN EN EL CRECIMIENTO ANIMAL Y EN LA MORFOMETRÍA INTESTINAL

1. Consumo de alimento, peso vivo, ganancia de peso y conversión alimenticia

La incorporación de dosis crecientes de EC (0; 1,75; 3,5 y 7%) no afectó el consumo de alimento, el peso vivo, la ganancia de peso o el índice de conversión del alimento ($p>0,05$) como se observa en el cuadro 5.

Cuadro 5. Efecto del EC en el consumo de alimento, peso vivo, ganancia y conversión alimenticia de 7 a 20 días de edad

EC (%)	Consumo alimento (g/ave/total)	Peso vivo 20 días (g)	Ganancia de peso (g)	Conversión alimenticia (kg alimento consumido/kg peso ganado)
0	795 ± 64 a	664 ± 49 a	543 ± 43 a	1,47 ± 0,02 a
1,75	846 ± 38 a	773 ± 18 a	623 ± 19 a	1,44 ± 0,02 a
3,5	877 ± 27 a	718 ± 42 a	584 ± 37 a	1,49 ± 0,03 a
7	781 ± 38 a	710 ± 19 a	576 ± 17 a	1,44 ± 0,02 a
p	0,435	0,245	0,406	0,294
n	7	7	7	7

Letras iguales indican ausencia de diferencia estadística ($p > 0,05$). Los pesos iniciales no fueron diferentes entre sí ($p > 0,05$). Los valores representan el promedio de $n=7$ y el error estándar medio.

Considerando estos resultados, es posible utilizar el EC en las dosis probadas en esta experiencia en la dieta de pollitos de carne en edad temprana y hasta la edad de 20 días, sin afectar los resultados productivos. Se coincide con Oluremi *et al.* (2006) y con Yang y Chung (1985) en el sentido de poder utilizar residuos cítricos en las dosis estudiadas, aunque estos autores comprobaron como utilizables dosis algo mayores; asimismo se coincide con Mourão *et al.* (2008) respecto a la posibilidad de utilizar sin inconvenientes la dosis de 5%, aunque estos autores hallaron efectos negativos a la dosis de 10%. Dado que dosis mayores a 7% no fueron probadas en el presente experimento, no fue posible determinar la tasa máxima de inclusión de EC en pollos en iniciación, en relación a variables de crecimiento. No obstante, dosis de más del 7% dificultan enormemente el ajuste de fibra cruda de la dieta, por lo que las formulaciones se vuelven nutricionalmente incorrectas si se considera un límite de inclusión de 3% de fibra cruda en la dieta de pollos parrilleros, aunque podrían tolerarse valores levemente superiores en las últimas semanas antes del sacrificio.

2. Peso y largo de órganos

De acuerdo a los resultados presentados en el cuadro 6 no se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) en peso del bazo o peso total de órganos digestivos (intestino delgado, páncreas y ciegos) o en el largo de ciegos con las dosis de EC.

Cuadro 6. Efecto de la dosis de EC en el peso y largo de órganos digestivos

EC (%)	Peso de bazo (g)	Peso de intestino delgado, páncreas y ciegos (g)	Largo intestino delgado y ciegos (cm)	Largo ciegos (cm)	Largo duodeno (cm)
0	0,48 ± 0,08 a	22,9 ± 1,43 a	118 ± 4,34 a	11,6 ± 0,42 a	19,8 ± 0,98 a
1,75	0,62 ± 0,06 a	27,1 ± 1,62 a	129 ± 5,10 b	12,5 ± 0,26 a	20,8 ± 0,75 ab
3,5	0,51 ± 0,03 a	25,9 ± 1,31 a	147 ± 3,68 c	12,4 ± 0,32 a	22,9 ± 0,74 b
7	0,46 ± 0,04 a	24,9 ± 1,19 a	135 ± 3,41 b	12,5 ± 0,57 a	19,9 ± 0,34 a
p	0,203	0,233	0,0005	0,405	0,018
n	7	7	7	7	7

Diferentes letras significan diferencia estadística entre las dosis para cada columna, test de Tukey- Kramer ($p<0,05$). Los valores representan el promedio de $n=7$ y el error estándar medio.

Lo hallado resulta diferente de los resultados de Almirall *et al.* (1995) cuando se suministran alimentos viscosos. El aumento en el peso de páncreas hallado por estos autores refleja la incidencia de la viscosidad al utilizar dietas con cebada; en el presente experimento los eventuales efectos de la viscosidad no fueron suficientes como para reflejarse en el parámetro peso de órganos digestivos.

Sí se pudo apreciar un efecto significativo del EC sobre el largo de intestino delgado más ciegos, el cual se incrementa, especialmente en la dosis de 3,5%. Este aumento corresponde al mayor largo del intestino delgado, ya que no hubo diferencias en el largo de ciegos. Esto podría indicar que las dosis de citrus provocan

una mayor viscosidad a nivel intestinal, en coincidencia con los trabajos de Brenes *et al.* (1993) y Petersen *et al.* (1999). Mourão *et al.* (2008) utilizando dietas con 5% y 10% de pulpa de citrus vieron que el largo relativo del intestino delgado se incrementó significativamente, aunque no el total, en relación a un testigo, no afectándose el ciego en su largo total o relativo. En otro orden, es sabido que los antibióticos inciden en la morfometría del tracto gastrointestinal. Franti *et al.* (1972) citaron la reducción en el peso del intestino delgado en pollos que consumían antibióticos, aunque no vieron diferencias en peso de páncreas o ciego, en tanto que Miles *et al.* (2006) observaron efecto de disminución del largo del intestino y del peso al administrar antibióticos a pollos de entre 1 y 3 semanas, en comparación a un testigo. Los resultados del presente experimento sugieren que el posible aumento de viscosidad intestinal repercutió aumentando el largo de duodeno. Sin embargo esto no tiene mayor incidencia dado que no se observaron cambios en los parámetros de conversión de alimento o en las ganancias de peso. Por otra parte, el eventual efecto antibiótico del EC no fue suficiente para lograr un menor largo de los órganos. El estudio del efecto sobre el espesor intestinal podría reflejar una posible acción antibiótica del EC.

3. Índice de cloaca

Cuadro 7. Efecto del EC en el índice de cloaca

EC (%)	Índice de cloaca
0	1,38 ± 0,15 a
1,75	3,78 ± 0,28 c
3,5	2,29 ± 0,31 a
7	2,43 ± 0,26 b
p	0,001
n	7

Diferentes letras significan diferencia estadística en la columna, test de Tukey-Kramer ($p < 0,05$). Los valores representan el promedio de $n=7$ y el error estándar medio.

Los resultados obtenidos en el índice de cloaca (cuadro 7) muestran que los tratamientos incrementaron significativamente la viscosidad intestinal exteriorizada. No obstante, este aumento parece no reflejarse en los resultados productivos, del mismo modo que tampoco lo hacen el aumento del largo de los órganos digestivos, probablemente porque dicho incremento no sea lo suficientemente importante como para afectar variables de crecimiento, al menos dentro de las dosis utilizadas en este experimento. Los valores de viscosidad fueron menores a los hallados por Maisonnier *et al.* (2001a) para dietas con materiales viscosos (2,6 a 3,5), salvo en el tratamiento de 1,75% de EC.

4. Valores sanguíneos

Una de las formas de determinar la correcta salud de las aves es a través del estudio de los elementos celulares del sistema sanguíneo. El estudio de los indicadores fisiológicos de los animales en cautiverio es importante ya que constituye una herramienta diagnóstica, siendo el sistema sanguíneo uno de los primeros que debe ser examinado. El cuadro 8 presenta los resultados para el recuento de glóbulos rojos y el porcentaje de hematocrito.

El estudio de valores sanguíneos refleja que no hubo efecto negativo sobre la salud animal al incluir EC. Los valores determinados están dentro del rango reportado por Sandoval *et al.* (2003) quienes encontraron en pollos machos normales un hematocrito de 30,75%, con rango entre 26% a 34,5%. Urdaneta-Vargas *et al.* (2007) afirman que las aves que presentaron anemia infecciosa tenían un hematocrito de 20-27%, definiendo ave anémica a la que tuviera un hematocrito menor o igual a 27. Si el hematocrito es bajo puede esto indicar la presencia de anemia o dificultades para tomar y transportar el oxígeno, lo que no ocurrió en la presente experiencia. La ausencia de diferencias en el peso de bazo confirma lo hallado por Lee *et al.* (2003), quienes no encontraron diferencias en el peso cuando los animales ingieren una dieta con alto o bajo contenido de materiales viscosos, diferencia que tampoco hallaron Olouremi *et al.* (2006) utilizando subproductos cítricos en pollos.

Cuadro 8. Efecto de la dosis de EC en hematocrito y número de glóbulos rojos

EC (%)	Glóbulos rojos (cantidadx10 ³ / mm ³)	Hematocrito (%)
0	4.087 ± 2,5 a	36,5 ± 3,78 a
1,75	4.653 ± 3,5 a	33,5 ± 2,34 a
3,5	4.732 ± 3,1 a	33,4 ± 2,11 a
7	5.200 ± 7,3 a	32,9 ± 2,24 a
p	0,448	0,778
n	7	7

Letras iguales indican ausencia de diferencia estadística ($p > 0,05$). Los valores representan el promedio de $n=7$ y el error estándar medio.

Para poder concluir un efecto de la viscosidad en el intestino sería necesario un estudio histológico de las vellosidades intestinales lo cual permitiría comprobar el efecto directo del EC sobre la histología, como forma de corroborar las tendencias esbozadas en la presente experiencia a través del largo del duodeno o del índice de cloaca. En síntesis, no hubo una influencia negativa del EC sobre la conversión alimenticia en el período de iniciación de 7 a 20 días de edad, pese a los eventuales efectos de incremento de viscosidad, por lo que cualquiera de las dosis de EC estudiadas podría utilizarse sin problemas.

Como una conclusión general de la experiencia de iniciación se puede decir que al momento de formular raciones para aves jóvenes incluyendo EC, se deberá ser extremadamente cuidadoso en el ajuste del nivel de fibra de las mismas, especialmente si la tasa de inclusión es alta. Valores de fibra como los utilizados por Oluremi *et al.* (2006) (4,7 a 5,9%), no son admisibles por el pollo parrillero para lograr una óptima producción. Esto es más grave aún en el período de iniciación en donde los valores de fibra deben ser necesariamente menores que en la terminación. La utilización normal de harina de soja en nuestras raciones dificulta la amplia inclusión de EC sin extralimitarse de los valores correctos de fibra cruda. El uso de concentrado de soja permite ajustar de un modo mejor la fibra cruda, tal como se hizo en esta experiencia.

C. EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE EXPELLER DE CITRUS EN EL PERÍODO DE TERMINACIÓN EN EL CRECIMIENTO ANIMAL, RENDIMIENTO Y CALIDAD DE CARNE

1. Consumo de alimento, peso vivo, ganancia de peso y conversión alimenticia

En la etapa de terminación, entre los 44 a los 58 días de edad, no se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) debidas a las dosis de EC incluidas en una dieta en el consumo de alimento, peso vivo o ganancia de peso, pero sí en conversión alimenticia ($p<0,05$). La peor conversión se debe a un menor peso ganado en el período más que a un mayor consumo de alimento. Al no disminuir el consumo alimenticio con las dosis de EC, no se pudo comprobar un eventual efecto negativo de sustancias indeseables presentes en el EC caso de la limonina (Orcasberro *et al.*, 1987), sobre la tasa de ingestión de alimentos. El estudio de contrastes ortogonales permitió detectar efecto dosis de EC, por lo que la conversión alimenticia es peor con el uso del subproducto. Los resultados se presentan en el cuadro 9.

Cuadro 9. Efecto de la inclusión de EC en el consumo de alimento, peso vivo, ganancia de peso y conversión alimenticia de 44 a 58 días de edad.

EC (%)	Consumo Alimento (g/ave/total)	Peso vivo final (g)	Ganancia de peso (g/ave)	Conversión alimenticia (kg alimento consumido/kg ganancia peso)
0	2374 ± 57 a	2917 ± 13 a	1436,7 ± 39 a	1,66 ± 0,02 b
1,75	2374 ± 114 a	2860 ± 13 a	1358,3 ± 78 a	1,76 ± 0,04 ab
3,5	2229 ± 124 a	2598 ± 13 a	1187,5 ± 94 a	1,92 ± 0,09 a
7	2418 ± 71 a	2852 ± 92 a	1388,9 ± 54 a	1,75 ± 0,04 ab
p	0,54	0,28	0,085	0,010
n	9	9	9	9

Diferentes letras significan diferencia estadística entre las dosis en cada columna, test de Tukey- Kramer ($p < 0,05$). Los pesos iniciales no fueron diferentes entre sí ($p > 0,05$). Los valores representan el promedio de $n=9$ y el error estándar medio.

Conviene llamar la atención sobre los resultados de la inclusión de 3,5% de EC, dada la conversión menos favorable, tal cual se había esbozado en la etapa de iniciación, aunque en dicho caso no se hallaba una diferencia significativa. La falta de acostumbramiento a una dieta que tenga productos que generen viscosidad durante la fase de iniciación podría incidir negativamente en la etapa final, perjudicando entonces los resultados productivos. Esta hipótesis puede plantearse aún conociendo que el período más crítico del ave es la iniciación y sería probable que en ese momento se manifestaran los efectos negativos y no así en una etapa en donde el tracto digestivo esté más preparado para afrontar los desafíos que plantea el uso de productos que generen viscosidad. Para realizar formulaciones con niveles restringidos de fibra cruda como deben ser usuales en pollos parrilleros, no se recomiendan tasas de inclusión de 10 a 20% de EC pues probablemente a esos valores se encuentre efectos sobre los parámetros de crecimiento en las distintas etapas de la vida del pollo. En este punto se coincide con Ezcurra (1987) quien fija como dosis utilizables 5 a 10% y Mourão *et al.* (2008) quienes encuentran efectos perjudiciales ya a dosis de 10% de EC. El efecto de los polisacáridos no amiláceos en

dichos casos podría volverse importante, de acuerdo a lo expresado por Langhout *et al.* (2000), lo que no sucedió aparentemente en este estudio. Sería interesante probar el efecto del EC durante toda la vida del pollo para comprobar la respuesta aviar en la etapa de terminación, luego de haber sido el ave acostumbrada al suministro de productos eventualmente viscosos.

2. Rendimiento de pechuga y muslo, capacidad de retención de agua y cantidad de grasa abdominal

En lo que hace al rendimiento de pechuga y muslos, ninguno se vio afectado por los tratamientos. En la capacidad de retención de agua, se aprecia un efecto positivo del EC al disminuir las pérdidas, lo cual redundaría en una mejor calidad de carne. Los resultados se observan en el cuadro 10. No se observaron diferencias significativas en lo referente a cantidad de grasa abdominal coincidiendo con los resultados de Mourão *et al.* (2008) al 5% de EC, aunque conviene señalar que estos autores sí hallaron efecto cuando la dosis era de 10%, en donde la grasa abdominal disminuía significativamente.

Cuadro 10. Efecto del EC en el rendimiento de pechuga, rendimiento de muslo, capacidad de retención de agua y cantidad de grasa abdominal en relación al peso vivo.

EC (%)	Rendimiento	Rendimiento	CRA	Grasa abdominal
	pechuga (%)	Muslo (%)	(%)	(% PV)
0	25,30 ± 0,88 a	20,86 ± 0,26 a	96,8 ± 0,36 a	1,43 ± 0,17 a
1,75	24,15 ± 0,60 a	20,52 ± 0,28 a	97,4 ± 0,40 b	1,52 ± 0,20 a
3,5	24,22 ± 0,66 a	20,07 ± 0,39 a	98,0 ± 0,13 b	1,46 ± 0,22 a
7	25,68 ± 0,44 a	19,85 ± 0,29 a	97,9 ± 0,15 b	1,73 ± 0,25 a
p	0,28	0,10	0,026	0,748
n	9	9	9	9

Letras iguales indican ausencia de diferencia estadística ($p > 0,05$). Los valores representan el promedio de $n=9$ y el error estándar medio.

3. pH de pechuga y muslo

La inclusión de EC incide en el pH de la carne de ave, provocando una disminución significativa en pechuga y muslo (cuadro 11), pero en rangos deseables para la mejor calidad de carne de acuerdo a lo citado por Moreira (2005) y Kwon *et al.* (2008). Se observaron diferencias significativas para el pH a los 15 y 45 minutos luego del sacrificio, y a las 24 horas postmortem, siendo la tendencia a disminuir en pH con la inclusión de EC, en efecto más marcado a las 24 horas. Dado que el pH final corresponde al pH estabilizado que tendrá la carne pronta para consumir, este efecto debe considerarse positivo.

La disminución de pH atribuible al EC ocurre tanto para pechuga como para muslo, aunque en el muslo las tendencias ya se profundizaron desde los 45 minutos posteriores al sacrificio. Se alcanzó mayor pH final en el muslo que en la pechuga, en concordancia con lo hallado por Asenjo *et al.* (2007). Aunque en el presente experimento no se realizó un análisis comparativo, la diferencia puede atribuirse a los distintos procesos bioquímicos que ocurren en cada tipo de músculo, predominando la oxidación en el muslo y la glicólisis en la pechuga. Bendall (1973), reportó un mayor pH final en músculos oxidativos que en glicolíticos. En este caso, la vía glicolítica predominante en la pechuga (que lleva a la producción de ácido láctico) determina que el pH final sea más bajo que en el muslo.

Hubo entonces un remarcable efecto de la inclusión de EC en la dieta de terminación entre los 44-58 días y los pH iniciales y a las 24 horas postmortem. Se comprobó asimismo un descenso moderado de pH de cada tratamiento con el tiempo postsacrificio. Esto indica un efecto beneficioso de la utilización de EC en la calidad de carne ya que los valores demasiado bajos reducen la CRA e inciden en el color (Teira *et al.*, 2004, Young *et al.*, 2004).

Cuadro 11. Efecto del EC en el pH de pechuga y muslo a los 15 minutos, 45 minutos y 24 horas luego del sacrificio

EC (%)	Pechuga			Muslo		
	pH 15	pH 45	pH 24	pH 15	pH 45	pH 24
0	6,57 ± 0,06 a	6,44 ± 0,03 a	6,08 ± 0,04 a	6,57 ± 0,06 a	6,38 ± 0,05 a	6,13 ± 0,03 a
1,75	6,44 ± 0,05 ab	6,30 ± 0,03 b	5,92 ± 0,01 b	6,43 ± 0,05 ab	6,23 ± 0,03 b	5,96 ± 0,01 b
3,5	6,39 ± 0,03 b	6,36 ± 0,03 ab	5,91 ± 0,08 b	6,29 ± 0,03 b	6,19 ± 0,02 b	5,96 ± 0,01 b
7	6,48 ± 0,03 ab	6,30 ± 0,03 b	5,97 ± 0,01 b	6,35 ± 0,05 b	6,20 ± 0,02 b	6,03 ± 0,01 b
p	0,045	0,038	0,0005	0,0028	0,00003	0,000004
n	9	9	9	9	9	9

Diferentes letras significan diferencia estadística en cada columna, test de Tukey-Kramer ($p < 0,05$). Los valores representan el promedio de $n=9$ y el error estándar medio.

Van Laack *et al.* (2000) citan que el color pálido de la piel del pollo puede ocurrir a valores de pH de 5,7, valores que no fueron alcanzados en el presente estudio.

Los pH alcanzados implican un efecto beneficioso de la utilización de EC en la calidad de la carne. El efecto de disminución del pH sin alcanzar valores peligrosos podría explicarse por una mayor acumulación de glucógeno en casos de alimentación con EC. Posiblemente los antioxidantes presentes en el EC inhiban la enzima fosforilasa, enzima de degradación, por lo cual el glucógeno podría permanecer como tal sin ser escindido una vez ocurrido el sacrificio.

La tendencia a una mejor CRA al utilizar EC es consistente con lo hallado en términos de pH, juzgándose entonces que ambas variables fueron favorables a la utilización del subproducto. El descenso del pH al utilizar subproductos cítricos en pollos coincide con lo hallado por Mourão *et al.* (2008), aunque Lanza *et al.* (2004) vieron que el pH final de la carne de avestruz era mayor en dietas conteniendo pulpa de citrus, efecto que atribuyen a una menor deposición de glucógeno. De todos modos no se veía afectada la calidad de la carne para estos autores. Por su parte

Scerra *et al.* (2001) no vieron diferencias en efecto de pulpa de citrus en la carne de corderos a las 24 horas del sacrificio en relación al pH, a diferencia de lo encontrado en este estudio.

4. Color de la piel y de la carne

En lo que hace al *color de piel* no se hallaron diferencias significativas entre los tratamientos (cuadro 12). Si bien podría suponerse a priori que la inclusión de EC mejoraría la pigmentación, esto no ocurrió. Posiblemente esto se pueda explicar por el hecho de que la mayoría de los carotenoides que son altos en las frutas cítricas, no son los que se encuentran en mayor cantidad en la piel del pollo. La luteína y zeaxantina son minoritarios en la naranja y mandarina predominando criptoxantina, violaxantina y luteoxantina (Gross, 1977).

Cuadro 12. Efecto del EC en una dieta de terminación en el color de la piel expresado en L*, a* y b*

EC (%)	L*	a*	b*
0	54,94 ± 0,50 a	0,91 ± 0,31a	26,3 ± 0,70 a
1,75	54,90 ± 0,47 a	0,76 ± 0,21a	26,7 ± 0,76 a
3,5	54,30 ± 0,64 a	0,59 ± 0,09 a	25,2 ± 0,28 a
7	55,10 ± 0,26 a	1,09 ± 0,25 a	26,5 ± 0,40 a
p	0,655	0,494	0,30
n	9	9	9

Letras iguales indican ausencia de diferencia estadística ($p > 0,05$). Los valores representan el promedio de $n=9$ y el error estándar medio.

De acuerdo con Kuzmicky *et al.* (1969) y Nys (2003), la violaxantina no posee capacidad de pigmentación por lo que un carotenoide presente en alto nivel en la materia prima no es capaz de aportar a la pigmentación de la piel. La baja cantidad de zeaxantina y licopeno determinarían la ausencia de viraje hacia el rojo del espectro, lo que explica la falta de significancia en el valor de a*. En acuerdo con Mourão *et al.* (2008), esta ausencia de viraje al rojo puede considerarse positiva ya

que el consumidor valora negativamente la presencia de tonos rojizos, a diferencia de lo que ocurre en la mayoría de los mercados con la yema de huevo. Una explicación complementaria a la referida sobre las posibilidades de absorción de los carotenoides de los cítricos puede ser la que dan los autores citados en el sentido de que las fibras solubles afectan negativamente la digestión de la grasa y su absorción y que al ser los pigmentos liposolubles, puede verificarse una disminución en su aprovechamiento. No obstante, tampoco hubo perjuicio en la pigmentación de la piel por agregar EC. De todos modos al no contarse con datos de nivel de xantofilas en las raciones utilizadas, no fue posible realizar un ajuste de ellas, lo cual hubiera permitido extraer más conclusiones sobre los niveles efectivamente alcanzados, caracterizando igualmente mejor a la materia prima.

En cuanto al *color de la carne*, medido en la pechuga, a los 15 minutos del sacrificio no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en luminosidad ni amarillamiento (b^*), aunque sí se encontraron en enrojecimiento (a^*), el cual baja con la dosis de 7%, aunque esta diferencia es significativa sólo contra la dosis de 3,5% ($p < 0,05$, cuadro 13). El color de pechuga a las 24 horas del sacrificio mostró tendencias similares a las referidas para 15 minutos postmortem.

Cuadro 13. Efecto del EC en el color de la carne de pechuga a los 15 minutos y a las 24 horas del sacrificio

EC (%)	L^*		a^*		b^*	
	15 min	24 h	15 min	24 h	15 min	24 h
0	44,5 ± 0,3 a	47,0 ± 0,6 a	0,9 ± 0,2 ab	2,5 ± 0,4 ab	22,7 ± 0,3 a	24,6 ± 0,7 a
1,75	44,6 ± 0,3 a	45,8 ± 0,6 a	0,8 ± 0,2 ab	3,0 ± 0,3 ab	22,8 ± 0,3 a	24,2 ± 0,6 a
3,5	44,4 ± 0,4 a	46,8 ± 0,4 a	1,2 ± 0,3 a	3,0 ± 0,5 a	23,3 ± 0,3 a	25,3 ± 0,4 a
7	44,9 ± 0,4 a	46,0 ± 0,8 a	0,4 ± 0,1 b	1,6 ± 0,3 b	23,0 ± 0,2 a	23,5 ± 0,5 a
P	0,7143	0,48	0,023	0,04	0,39	0,12
n	9		9		9	

Diferentes letras significan diferencia estadística en cada columna, test de Tukey-Kramer ($p < 0,05$). Los valores representan el promedio de $n=9$ el error estándar medio.

Para color de carne medida en el muslo a los 15 minutos y a las 24 horas de sacrificio no hubo diferencias ni en L* ni en a* ni en b*. En el muslo no se observó la tendencia de la pechuga en donde a las 24 horas del sacrificio los valores de las variables L *, a* y b* fueron mayores. Los resultados se observan en el cuadro 14.

Cuadro 14. Efecto del EC en el color de carne de muslo a los 15 minutos y a las 24 horas del sacrificio

EC (%)	L*		a*		b*	
	15 min	24 h	15 min	24 h	15 min	24 h
0	48,0 ± 1,1 a	45,2 ± 0,7 a	3,4 ± 0,3 a	5,2 ± 0,5 a	23,7 ± 0,4 a	22,3 ± 0,3 a
1,75	49,5 ± 0,4 a	45,3 ± 0,3 a	3,3 ± 0,4 a	4,9 ± 0,3 a	24,8 ± 0,4 a	22,7 ± 0,5 a
3,5	49,1 ± 0,7 a	45,3 ± 0,4 a	4,0 ± 0,3 a	5,7 ± 0,6 a	25,4 ± 0,5 a	23,3 ± 0,3 a
7	49,5 ± 0,7 a	44,9 ± 0,5 a	3,0 ± 0,3 a	4,7 ± 0,5 a	24,8 ± 0,5 a	22,7 ± 0,4 a
p	0,48	0,91	0,19	0,42	0,067	0,32
n	9	9	9	9	9	9

Letras iguales indican ausencia de diferencia estadística en cada columna, test de Tukey-Kramer ($p < 0,05$). Los valores representan el promedio de $n=9$ y el error estándar medio.

Como es posible apreciar, la carne del muslo posee valores mayores que la pechuga en las tres variables de color, porque el muslo es naturalmente más oscuro dado que contiene principalmente fibras rojas (Carreras, 2004). del Puerto *et al.* (2007) encontraron asimismo que el valor de hierro hemínico es mayor en los músculos sartorio y gastrocnemio que en la pechuga.

Los altos valores de luminosidad según Moreira (2005) corresponden a valores bajos de pH pero en este estudio no se encontró ningún tipo de tendencia al no haber diferencias significativas en L* tanto para pechuga como para muslo. La ausencia de diferencias en b* es consistente con lo visto por Teira *et al.*, (2004), en donde el bajo pH se relaciona a una disminución de la CRA y a un aumento del b* apareciendo la carne más amarilla. Los valores de b* fueron mayores a los encontrados por del Puerto *et al.* (2007), tanto para el testigo como para los tratamientos de EC. Esto se atribuye a la composición de la ración basal, con un alto nivel de carotenoides naturales provenientes del maíz, tendencia que también se evidencia en el color de

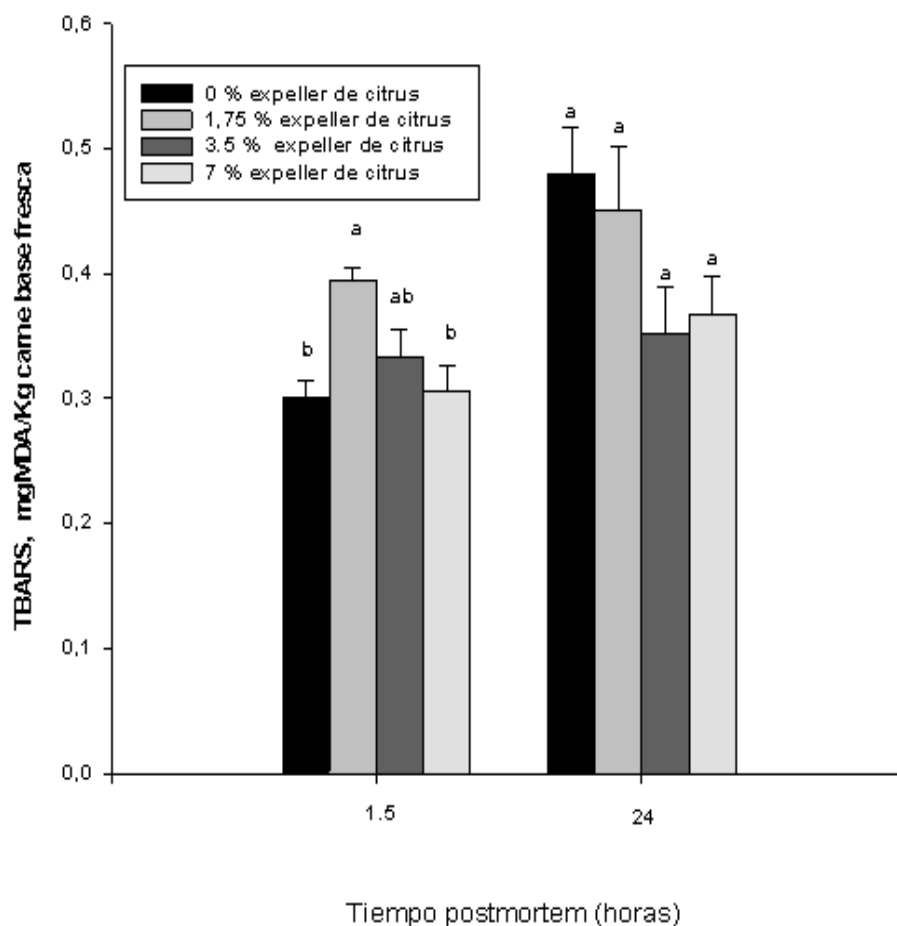
piel. Lanza *et al.* (2004) no habían hallado diferencia en color de carne de avestruz a las 24 horas para las tres variables de color, por lo que se coincide con estos autores en la ausencia de efectos en relación al color de carne al alimentar a las aves con subproductos cítricos.

En síntesis, se apreció un efecto favorable del EC en la calidad de la carne a través de una mejora en la capacidad de retención de agua y disminución del pH postmortem. En cuanto a color, no se apreciaron tendencias ni en el color de la piel ni en el color de la carne que indiquen una incidencia de la utilización de EC.

D. EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE EXPELLER DE CITRUS EN LA OXIDACIÓN DE LÍPIDOS Y PROTEÍNAS Y EN LA ACTIVIDAD DE LAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES DE LA CARNE DE AVE

1. Oxidación lipídica

Al estudiar el comportamiento de las dosis en cada uno de los tiempos (figura 1), se aprecia que la dosis de 1,75% fue la que mostró valores más altos de MDA a la hora y media del sacrificio, por lo que el deterioro oxidativo fue mayor en dicho caso, efecto que no se mantiene a las 24 horas. A las 24 horas no se hallaron diferencias por lo que a ese tiempo el EC no mejora ni empeora la calidad de la carne desde el punto de vista de la oxidación lipídica. Así el efecto de la dosis de 1,75% no se manifiesta, siendo un efecto rápido que se vio solamente a la hora y media de sacrificio.



Efectos principales:
 -tiempo postmortem: $P < 0.0005$ (24 horas > 1.5 horas)
 -expeller de citrus (EC): $P < 0.017$ (1,75% EC > 7% EC)

Diferentes letras significan diferencia estadística según test de Tukey- Kramer ($p < 0,05$); se consideraron los efectos de dosis y tiempo.

Figura 1. Efecto de dosis crecientes de EC en la oxidación lipídica (TBARS, expresado como MDA mg/kg carne pechuga fresca) a 1.5 y a 24 horas postmortem. Los valores representan el promedio de $n=9$ y el error estándar medio

En el estudio de los efectos principales, el tiempo postmortem resultó significativo (TBARS) ya que a las 24 horas fue mayor que a 1,5 hora ($p < 0,0005$), así como la inclusión del EC (sólo la dosis de 1,75% de EC dio TBARS mayores a la de 7% EC, $p < 0,017$). Del estudio para cada uno de los tiempos postmortem surge una diferencia significativa entre las dosis a 1,5 horas postmortem según Test de Tukey-Kramer ($p < 0,05$). Analizando la evolución de los TBARS, la significancia encontrada en el efecto tiempo se condice con el lógico deterioro que la carne experimenta a medida que pasa el tiempo luego del sacrificio, al menos en lo que hace referencia a la oxidación lipídica. La ausencia de significancia estadística entre los valores del testigo y de los tratamientos (conjunto de dosis), indica que no hay efecto de la inclusión del EC en los dos momentos considerados. Los valores de TBARS encontrados en este estudio fueron menores que los reportados por Terevinto (2009) para carne vacuna (0,49-0,8 mg MDA/kg carne) aunque algo superiores a los referidos por Realini *et al.* (2004) para la misma carne (0,10 a 0,30 mg MDA/kg carne). Castromán (com. pers.⁷) encontró valores de 0,8 mg MDA/kg carne para pechuga de pollo. En base a estos datos se considera que los valores hallados en el presente experimento pueden considerarse normales.

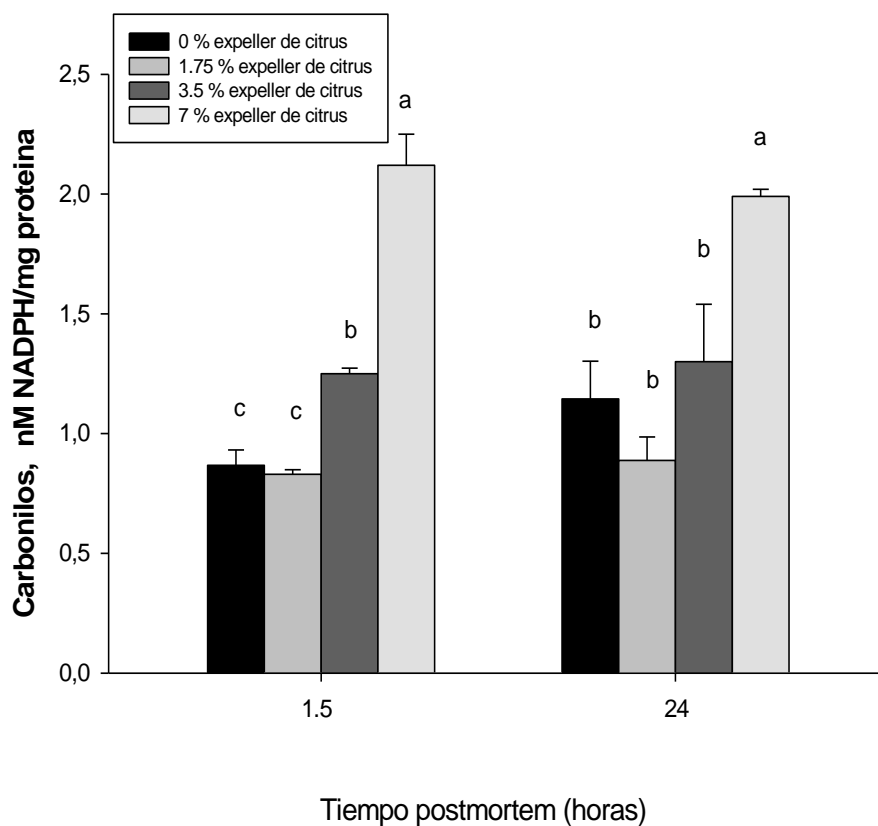
2. Oxidación proteica

En la oxidación proteica expresada en carbonilos, fue significativo el efecto dosis pero no el efecto tiempo. Hubo efecto significativo de la inclusión del EC ($p < 0,0001$). Los resultados se muestran en la figura 2. Del estudio para cada uno de los tiempos postmortem surgen diferencias significativas entre las dosis a 1,5 horas postmortem así como entre las dosis a 24 horas postmortem ($p < 0,05$). En el estudio de efectos principales el tiempo postmortem no resultó significativo (los contenidos de carbonilos a las 24 horas no difirieron de los de carbonilos a 1,5 horas).

En el análisis global de los carbonilos (conjunto de dosis), se registraron diferencias para efecto EC en donde se pudo apreciar que los carbonilos se incrementan al utilizar EC respecto del testigo; asimismo se ve que la dosis de 1,75% disminuye los carbonilos frente a las dos mayores, y que la dosis de 7% incrementa

⁷ Comunicación personal de Gabriela Castromán, 28 de noviembre de 2007.

los carbonilos frente a la de 3,5%. No se puede concluir que haya diferencias en la calidad de la carne con el tiempo transcurrido desde el sacrificio, desde el punto de vista de la oxidación proteica. El uso de EC aumenta los carbonilos en los dos momentos considerados siendo la dosis de 7% claramente inconveniente desde este punto de vista.



Efectos principales
 -tiempo: ns
 -expeller de citrus: P<0.0001

Diferentes letras significan diferencia estadística según test de Tukey- Kramer ($p < 0,05$); se consideraron los efectos de dosis y tiempo.

Figura 2. Efecto de dosis crecientes de EC en la oxidación proteica (carbonilos expresados como, nmoles DNPH/mg proteína, pechuga fresca) a 1,5 y a 24 horas postmortem. Los valores representan el promedio de $n=9$ y el error estándar medio.

Al estudiar el comportamiento de las dosis en cada uno de los tiempos, en ambos casos se aprecia que la dosis más alta de EC incrementa los carbonilos en

forma significativa, en tanto en las otras dosis se ve un aumento significativo con la dosis de 3,5% respecto del testigo a la hora y media del sacrificio, diferencia que no se manifiesta a las 24 horas. Una explicación de lo sucedido con los carbonilos puede ser que el EC no posee factores que impidan la oxidación proteica. Por otra parte, se ha visto que algunos antioxidantes pueden según su concentración volverse prooxidantes. Esto se vio en el caso de flavonoides como las catequinas en presencia de cobre en donde pueden tener en determinadas condiciones (como presencia de iones Cu II), efecto de aceleramiento de formación de carbonilos, volviéndose en ese caso prooxidantes (Nakagawa *et al.*, 2007). Otros casos ocurrieron con el beta-caroteno (Ruiz *et al.*, 1999) y el licopeno, el cual puede actuar tanto como antioxidante como prooxidante (Anguelova y Warthesen, 2000). Posiblemente algunos de los flavonoides presentes en el EC puedan tener este tipo de acción respecto a las proteínas. El EC incrementa por tanto el valor de los carbonilos y la oxidación proteica.

Del estudio se refleja que la respuesta en oxidación lipídica fue diferente a la respuesta en oxidación proteica. Mientras que no hubo efectos importantes del agregado del EC sobre la oxidación lipídica, sí los hay sobre la oxidación proteica, en donde los niveles de carbonilos se incrementan con el agregado de EC. Ambos tipos de oxidación son fenómenos diferentes y no necesariamente debe esperarse una correlación entre ellos. Insani *et al.* (2008) encontraron que la correlación entre la oxidación lipídica y la proteica no fue alta en estudios en carne vacuna, en tanto Mercier *et al.* (1998) citan que niveles adecuados de vitamina E pueden conducir a menor oxidación de lípidos y proteínas, pero en el caso de las proteínas este efecto es menor que para los lípidos. Asimismo, el modelo de oxidación es diferente para proteínas y lípidos: mientras la oxidación lipídica es un proceso irreversible que lleva a la acumulación de productos oxidados, el nivel de proteínas oxidadas refleja el balance entre la tasa de oxidación de proteínas y la tasa de proteínas que se degradan, balance que depende de numerosos factores que conducen a la generación de especies reactivas al oxígeno o a la modulación de proteasas que degradan las proteínas dañadas (Berlett y Stadtman, 1997).

El aumento significativo de la oxidación proteica a la dosis de 7% puede

relacionarse con los valores menores de enrojecimiento en pechuga, dado que la oxidación de la proteína muscular influye sobre el color de la carne. A esto pueden adjudicársele las diferencias encontradas en el a^* entre las dosis de 3,5% y 7%, pese a que no se hallaron diferencias con el testigo, aunque los valores absolutos de a^* fueron menores, a ambos tiempos considerados. Esto es consistente con lo citado por Carreras (2004) respecto a que la disminución de a^* puede interpretarse como indicador de menor estabilidad oxidativa. En el muslo las tendencias desaparecen, pudiendo probablemente deberse a un mejor sistema antioxidante presente en dicho corte, que impidió que la eventual oxidación afectara el color, ya que no hubo diferencias significativas de ningún tipo en el color de muslo.

Como no se alcanzaron valores indeseables de pH, los cambios en el a^* deben relativizarse, y asociarse a la ausencia de significancia en b^* , dado que tanto a^* como b^* se consideran relacionados a pH, aumentando b^* y disminuyendo a^* en casos de bajo pH (Teira *et al.*, 2004). El hecho de que L^* no aumente lo que sucedería con bajos pH, refrenda dicho concepto (Moreira, 2005). Vignola *et al.* (2009) encuentran que la pérdida de agua y oxidación de oximioglobina a metamioglobina inciden en el aumento de L^* y la disminución de a^* . En el presente experimento el tratamiento de 7% EC tuvo un bajo valor de a^* ; no obstante la CRA aumentó respecto al testigo, de lo que se deduce que las pequeñas variaciones de las variables que fueron suficientes para generar significancias, no afectaron en forma importante la calidad de la carne.

La oxidación proteica tiene una progresión más lenta que la lipídica, y aún siendo un factor de pérdida de calidad, es de menor importancia que la anterior, la cual es primordial (Campo *et al.*, 2006). Sin embargo, no debería dejarse de tener en cuenta ya que la carne es esencialmente proteica y la alteración de proteínas afecta las propiedades tecnológicas de la misma y la calidad nutricional, ya que altera aminoácidos específicos, fragmenta las cadenas peptídicas, ocurren alteraciones de la carga eléctrica y cambios irreversibles en la acción enzimática (Dean *et al.*, 1977; Schachter, 2000). No obstante, los valores encontrados en el presente estudio se consideran normales, lo que se comprueba al comparar con datos nacionales para carne vacuna (0,79 a 1,75 nmoles DPNH/mg proteína, Terevinto, 2009) o carne aviar

(2 nmoles DPNH/ mg proteína, Castromán, com. pers.⁸).

3. Actividad de las enzimas antioxidantes

Hubo efecto significativo de la inclusión de EC ($p < 0,000001$) en la actividad de la **GPx**. Los resultados se observan en el cuadro 15. El tiempo postmortem también resultó significativo (GPx a 24 horas difirieron de GPx a 1,5 horas), Del estudio para cada uno de los tiempos postmortem surgen diferencias significativas entre las dosis de EC y el testigo a 1,5 horas postmortem ($p < 0,01$). Se detectaron asimismo diferencias entre los tratamientos a las 24 horas ($p < 0,01$).

Cuadro 15. Efecto de dosis crecientes de EC en la actividad de enzima GPx (μ moles de NADPH oxidados/min/ g carne de pechuga) a 1,5 y a 24 horas postmortem.

EC (%)	Actividad de GPx (μ moles de NADPH oxidados/min/ g carne pechuga fresca)	Actividad de GPx (μ moles de NADPH oxidados/min/ g carne pechuga fresca)
	1h. 30 min	24 h
	0	6,103 \pm 0,22 a
1,75	4,569 \pm 0,20 b	4,465 \pm 0,17 b
3,5	4,698 \pm 0,14 b	2,857 \pm 0,05 c
7	4,276 \pm 0,08 b	2,668 \pm 0,16 c
p Efecto EC		0,000001
p Efecto tiempo		0,000001
n		9

Diferentes letras significan diferencia estadística según test de Tukey-Kramer ($p < 0,05$); se consideraron los efectos de dosis y tiempo. Los valores representan el promedio de $n=9$ y el error estándar medio.

La enzima **SOD** se vio significativamente aumentada por la inclusión de EC ($p < 00084$). Los resultados se observan en el cuadro 16. El tiempo postmortem resultó significativo (actividad de SOD a 24 horas difirió de actividad de SOD a 1,5 horas). Del estudio para cada uno de los tiempos postmortem surgen diferencias

⁸ Comunicación personal de Gabriela Castromán, 28 de noviembre de 2007.

significativas entre las dosis a 1,5 horas postmortem ($p < 0,01$) y también hay diferencia significativa entre las dosis a 24 horas postmortem ($p < 0,01$).

Cuadro 16. Efecto de dosis crecientes de EC en la actividad de enzima SOD (UI, unidades de inhibición SOD totales/g carne de pechuga) a 1,5 y a 24 horas postmortem.

EC (%)	Actividad de SOD (UI, unidades de inhibición SOD totales/g carne pechuga fresca)	Actividad de SOD (UI, unidades de inhibición SOD totales/g carne pechuga fresca)
	1 h30 min	24 h
0	55,09 ± 2,43 a	66,56 ± 3,74 ab
1,75	70,99 ± 5,86 ab	54,65 ± 5,57 b
3,5	102,43 ± 18,74 b	74,14 ± 6,24 a
7	85,57 ± 2,24 ab	73,57 ± 2,25 a
p Efecto EC		0,000839
p Efecto tiempo		0,033599
n		9

Diferentes letras significan diferencia estadística según test de Tukey- Kramer ($p < 0,05$); se consideraron los efectos de dosis y tiempo. Los valores representan el promedio de $n=9$ y el error estándar medio.

La actividad de **catalasa** se vio afectada significativamente por la inclusión del EC ($p < 0,0003$). Los resultados se observan en el cuadro 17. Del estudio para cada uno de los tiempos postmortem surgen diferencias significativas entre las dosis a 1,5 horas postmortem ($p < 0,01$) y también hay diferencia significativa entre las dosis a 24 horas postmortem ($p < 0,01$).

Cuadro 17. Efecto de dosis crecientes de EC en la actividad de enzima catalasa (μ moles de H_2O_2 consumidos/min/g carne de pechuga) a 1,5 y a 24 horas postmortem.

EC (%)	Actividad de catalasa (μ moles	Actividad de catalasa (μ moles
	de H_2O_2 consumidos/min/g	de H_2O_2 consumidos/min/g
	carne pechuga fresca)	carne pechuga fresca)
	1 h 30 min	24 h
0	100,08 \pm 2,84a	78,19 \pm 2,84 ab
1,75	99,63 \pm 2,72 a	76,39 \pm 3,97 ab
3,5	82,22 \pm 7,40 b	84,87 \pm 11,23 a
7	80,28 \pm 3,95 b	58,71 \pm 0,65 b
p Efecto EC		0,000310
p Efecto tiempo		0,000018
n		9

Diferentes letras significan diferencia estadística según test de Tukey- Kramer ($p < 0,05$); se consideraron los efectos de dosis y tiempo. Los valores representan el promedio de $n=9$ y el error estándar medio.

En el estudio de efectos principales el tiempo postmortem resultó significativo (actividad de catalasa a 24 horas difirió de actividad de catalasa a 1,5 horas).

En el estudio de las enzimas antioxidantes pudo verse un efecto significativo del tiempo transcurrido tras el sacrificio, ya que en todos los casos fueron más altas a la hora y media de sacrificio que a las 24 h. Esto puede deberse a que las enzimas son inmediatamente consumidas para evitar la oxidación, por lo que su presencia en la carne a las 24 horas es ya menor. Se ha visto que la actividad de GPx disminuye en el tiempo, asociándose esto a la oxidación de proteínas durante el almacenamiento (Descalzo y Sancho, 2008).

Analizando la GPx se observaron diferencias entre los tiempos transcurridos tras el sacrificio, pues los valores de la enzima fueron mayores para la hora y media de sacrificio, frente a las 24 horas. La actividad de GPx fue menor con el uso del EC (en todos los casos sus valores son menores que el testigo), aunque se encontraron diferencias entre las dos dosis mayores respecto a las restantes, a las 24 horas. Esto podría indicar que el EC podría contener componentes que protejan al animal de procesos oxidativos. Chow *et al.* (1973) vieron en ratas que al administrarse dietas

ricas en ácidos grasos poliinsaturados aumentaba cuatro veces la actividad de GPx por lo que infirieron que esta vía enzimática es utilizada para protegerse del estrés oxidativo. En dicho caso se justificaría un aumento como forma de defensa frente a un ambiente tisular oxidativo. Relacionando esto a los resultados obtenidos, los valores más altos del testigo frente al EC a la hora y media del sacrificio estarían de acuerdo con el aumento encontrado por estos autores. Una menor actividad de la GPx en las aves que recibieron EC estaría mostrando un menor entorno oxidativo. Suministro de vitamina E puede disminuir la actividad de GPx posiblemente a través de una inhibición de la expresión de la enzima vía regulación genética (Carreras, 2004).

En SOD se vio similar tendencia en relación al tiempo de sacrificio que en GPx pero sus valores aumentaron con la utilización de EC, de acuerdo a lo hallado por Carreras (2004) en pechuga de pollo en animales suplementados con antioxidantes. No hubo diferencia entre las dos dosis mayores. En catalasa también los valores fueron mayores a la hora y media de sacrificio frente a las 24 horas. En relación a la respuesta frente a la utilización de EC, los valores de catalasa obtenidos al utilizarlo fueron menores respecto del testigo a la hora y media de sacrificio, siendo posible que esto se deba al menor ambiente oxidativo, ya que altas concentraciones de peróxido de hidrógeno estimulan la catalasa (Carreras, 2004). Este autor halló menores valores de catalasa en pollos suplementados con vitamina E, en relación a un testigo.

GPx y catalasa muestran tendencias similares en lo referente a la disminución en sus valores con la utilización de EC, lo que no sucede en SOD. Podría pensarse que factores presentes en el EC, como los polifenoles generarían un menor ambiente oxidativo y de esa manera las enzimas no aumentan su actividad, al no ser necesario por parte de la célula recurrir a ellas. Probablemente esta protección proviniera en el caso de este experimento, de los polifenoles presentes en el EC, y por este motivo no se verificara un aumento en la GPx.

Las tendencias diferentes que pueden encontrarse en las concentraciones enzimáticas también pueden explicarse por el modo de acción de dichas enzimas. GPx se halla en la mitocondria, SOD en mitocondrias, lisosomas, citosol y núcleo, y

catalasa en mitocondrias y peroxisomas. Posiblemente los polifenoles pudieran actuar favorablemente para evitar la oxidación de sustratos que de otra forma necesitarían de GPx y catalasa, pero no necesariamente lo hicieran sobre los sustratos de la SOD. Borkovic *et al.* (2008) citan las diferentes formas en que SOD se encuentra en la célula: ligada a manganeso en la mitocondria o a zinc y cobre en el citosol, o también en forma extracelular, viéndose que diferentes tóxicos inhibieron selectivamente a las distintas formas de SOD. La determinación de SOD mitocondrial y el cálculo de la relación SOD mitocondrial / SOD total permitiría establecer el verdadero nivel de esta enzima; podría suceder que SOD mitocondrial siguiera la misma relación que el nivel de catalasa (Saadoun, com. pers.⁹). Si bien SOD y catalasa actúan acopladas, Descalzo *et al.* (2008) encontraron que puede haber diferencias en la acción de las mismas: mientras la actividad de SOD mostró diferencias en muestras de carne vacuna de animales alimentados a grano o a pasturas, la actividad de catalasa no se vio modificada.

Los altos valores de SOD pudieron relacionarse a la oxidación de los carbonilos, observándose diferencias en el color de la pechuga debido a que SOD no pudo frenar la oxidación de radicales, oxidándose las proteínas debido a dichos radicales.

De todas formas, Carreras (2004) estudiando la actividad de enzimas antioxidantes en carne de pollo, concluyó que dichas enzimas no fueron indicadores determinantes de la estabilidad oxidativa de los tejidos en carne de pollo y pavo, no pudiendo establecerse relación clara entre los antioxidantes agregados a la dieta y la actividad de las enzimas de oxidación. Es aceptado que los mecanismos diferentes que contribuyen a la oxidación y los que la contraatacan incluyen múltiples patrones por lo que no existe un único método para describir la capacidad antioxidante de muestras biológicas (Laguerre *et al.*, 2007). Estos autores concluyen que dado que las enzimas antioxidantes presentan pequeñas variaciones entre muestras, las vías antioxidantes no enzimáticas contribuyen preferentemente a evitar la oxidación. Descalzo y Sancho (2008) refieren a mayores valores de actividad de SOD en carne

⁹ Comunicación personal de Alí Saadoun, 1 de diciembre de 2009.

de animales que comieron pasturas frente a los que comieron grano, y asimismo citan que se ha hallado en algunos casos mayor actividad de GPx en animales que comieron grano frente a pastura, pero en otros casos las diferencias fueron no significativas. Incluso Khan *et al.* (2007) han encontrado diferencias en la actividad de enzimas entre diferentes tejidos, postulando que la defensa provista por un antioxidante podría ser mediada por catalasa en un tejido y por SOD en otro, interviniendo en cada caso los mecanismos propios de glucólisis, glucogenolisis y otros procesos bioquímicos. En el análisis de los resultados del presente experimento se halla coincidencia en la respuesta de la actividad enzimática de ganado vacuno en pastoreo (Descalzo y Sancho, 2008) en el sentido de que se observa una menor actividad de GPx y una mayor actividad de SOD y una posible explicación podría atribuirse a un menor ambiente oxidativo en dicho trabajo y en el nuestro, respuesta reportada por De Vore y Green (1982). En el caso del EC la presencia de polifenoles actuando a través de la captura de radicales libres en las primeras etapas de la oxidación puede ser la causa de la menor propensión a que esta ocurra.

Dado que el modo de acción de las enzimas antioxidantes es en muchos aspectos desconocido, sería de interés profundizar en el futuro la bioquímica de las relaciones polifenoles-enzimas antioxidantes y en el significado de valores altos o bajos de actividad de cada enzima en relación con la oxidación. Para esto, el EC puede constituir un alimento interesante en función de su aporte de polifenoles.

Considerando que las tendencias halladas en carbonilos no repercuten en forma importante en el color de la carne, que tampoco las dosis altas de EC afectan negativamente el pH y que el EC resulta favorable desde el punto de vista de la CRA, no puede inferirse que el EC resulte negativo para la calidad de carne dentro de las dosis utilizadas en este experimento.

Realizando un balance de las distintas variables medidas, se puede afirmar que es posible utilizar el EC a las dosis estudiadas sin que se observe un deterioro importante en aquellas variables referentes al crecimiento del pollo y a la calidad de carne.

Futuras investigaciones deberían profundizar los estudios de variabilidad del C monitorizando la composición química. Asimismo, será necesario focalizarse en la

cuantificación de pectinas, y carotenoides del EC, discriminando el grado de metoxilación de las pectinas y el tipo de polifenoles presentes. Deberán realizarse cortes histológicos que demuestren la relación entre el suministro de EC y los eventuales daños a nivel de vellosidades intestinales. En relación a la influencia sobre la calidad de carne, debería estudiarse en profundidad la velocidad de descenso del pH así como las correlaciones posibles entre color, pH y CRA, pudiendo incluirse un análisis de textura. Determinaciones sensoriales podrían complementar la investigación.

V. CONCLUSIONES

La composición química promedio del EC fue de 87,9%MS, 6,29% PC, 19,17% FC y 0,58% EE y 3955 kcal EB/kg, datos en base seca. El contenido de polifenoles fue de 5,51 g EAG/100 g en base seca. Existe variabilidad en esta composición química en relación a los datos bibliográficos, derivada de la inclusión de diferentes frutas cítricas. El nivel de fibra del EC debe ser tenido especialmente en cuenta al momento de formular las raciones para pollos parrilleros, debiendo tener la precaución de limitar la inclusión de esta materia prima. Los rangos aquí utilizados no muestran efectos importantes sobre la conversión alimenticia. No se vio afectado el estado de salud de los animales al utilizar el producto en la etapa de mayor sensibilidad, o sea en el período de iniciación de los pollos. El EC afecta favorablemente la CRA y el pH de la carne. En cuanto a color, no se apreciaron tendencias ni en el color de la piel ni en el color de la carne que indiquen incidencia de la utilización de EC. No se afectó la oxidación lipídica con el uso del EC, sin embargo la oxidación proteica aumentó con las dosis altas de EC. El estudio de las enzimas GPx y catalasa demuestran que el EC ejerció un efecto favorable respecto de la prevención de la oxidación. Se puede utilizar el EC disponible en plaza en la alimentación de pollos parrilleros tanto en etapa de iniciación como de terminación hasta un máximo de 7%, sin que las variables productivas se resientan de manera importante. Se puede pensar que la modulación que el EC puede ejercer se traduciría en una mejor aptitud para conservación y procesamiento de la carne debido a los antioxidantes que contiene. Dado que las potencialidades de producción y comercialización del EC son amplias, un subproducto industrial como el EC puede ser de interés en la industria avícola y su uso estaría condicionado a la disponibilidad dado que el costo puede ser accesible.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Method. Enzymol.* 105, 121-126.
- Almirall, M.; Francesch, M.; Pérez-Vendrell, A.; Brufau, J.; Esteve- García, E. 1995. The difference in intestinal viscosity produced by barley and beta-glucanase alter digesta enzyme activities and ileal nutrient digestibilities more in broiler chicks than in cocks. *J. Nutr.* 125:947-955.
- Álvarez, A.; Hiriart, C. y Urrutia, A. 1995. Suplementación de vacas lecheras pastoreando praderas con afrechillo de trigo y pulpa de citrus. Facultad de Agronomía. Montevideo. Uruguay. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 99p.
- Andersen, H.; Oksbjerg, N.; Young, J.; Therkildsen, M. 2005. Feeding and meat quality-a future approach. *Meat Sci.* 70:543-554.
- Anguelova, T.; Wartjesem, J. 2000. Degradation of lycopene, alpha-carotene, and beta-carotene during lipid peroxidation. *J. Food Sci.* 65 :71-75.
- AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis (15th. Ed)* Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA.
- Arocena, G. 2007. La citricultura exportadora del Uruguay. Mucho potencial, trabas importantes. *El País Agropecuario* N° 144:22-24.
- Arrieta, J.; Díaz, A.; Ávila, E.; Guinzburg, R.; Piña, E. 2000. Estado oxidativo hepático y comportamiento productivo en pollos de engorda, alimentados con dos fuentes de selenio y niveles altos de vitamina E. *UNAM. Vet. Méx.* 31: 113-119. Consultado 2 dic. 2009. Disponible en <http://redalyc.vaemex.mx/spc/inicio/ArtPdfRed.jsp?icve=42331206>.
- Asenjo, B.; Miguel, J.; Ciria, J.; Francesch, A.; Calvo, J. 2007. Características físicas de la carne de pollos de Raza Castellana Negra y de una F₁ resultante del cruce de gallos mejorados de Raza Penedesca Negra y de gallinas de Raza Castellana Negra (Caspén). *Jornadas sobre Producción Animal*, 12; Zaragoza, España. Consultado 8 dic. 2009. Disponible en www.aida-itea.org/jornada38/productos/otrasespecies/oe1_asenjo.pdf.
- Aust, O.; Sies, H.; Stahl, W.; Polidori, M.C. 2001. Analysis of lipophilic antioxidants

- in human serum and tissues: Tocopherols and carotenoids. *J. Chromatogr.* 936:83-93.
- Bampidis, V. A. and Robinsosn, P.H.2006. Citrus by-products as ruminant feeds: A review. *Anim.Feed.Sci.Technol.*128:175-217.
- Baracho, M. S.; Camargo,G.A.; Lima, A.M.C.;Mentem,J.F.,Moura,D.J.; Moreira,J.; NasiI.A. 2006. Variables impacting poultry meat quality from production to pre-slaughter. A Review. *Braz.J. Poult. Sci.* 8:202-212.
- Barbut, S. 1993.Color measurement for evaluating de pale soft (PSE) exudative occurrence in poultry meat. *Food.Res. Int.* 26:39-43.
- Bendall,J. 1973. Postmortem changes in muscle. In: G. H. Bourne (Ed.), *Structure and fuction of muscle*. Vol. 2I. pp243-309. New York, Academic Press.
- Berlett,B; Stadtman,E. 1997. Protein oxidation in aging, disease and oxidative stress. *J.Biol.Chem.*272:20313-20316.
- Berri, C; Debut, M.; Sante-Lhoutellier, B.; Arnould,B.; Boutten;B.; Sellier,N.; Baeza,E.; Jehl,Y.; Jego,M.; Duclos,M.J.; Le Bihan-Duval, E. 2005. Variations in chicken breast meat quality: A strong implication of struggle and muscle glycogen level at death. *Br. Poult. Sci.* 46:572-579.
- Bishawi, K. and Mc Ginnis, J. 1984. Studies on the action of pectin in depressing the growth of chicks. *Br. Poult. Sci.* 25:519-528.
- Blas, C.; Mateos, G. G.; Rebellar, P. G. 2003. *Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la formulación de piensos compuestos (2da.Ed.)*. Madrid. España. Consultado 17 oct. 2008. Disponible en www.etsia.upm.es/fedna/introtabla.htm.
- Borkovic, S., Pavlovic, S.; Kovacevic, T.; Stajn, A.; Petrovic. V.; Saicic, Z.2008. Antioxidant defence enzyme activities in hepatopancreas, gills and muscle of Spiny deek crayfish (*Orconectes limosus*) from the River Danube. *Comp. Bioch.Phys.Part C* 147: 122-128.
- Brenes, A.; Guener, W.; Marquardt,R.1993. Effect of enzyme supplementatio on the performance and digestive tract sue of broiler chickens fed wheat-and barley-based diets. *Poult. Sci.*72:1731-1739.
- Bruni, M. 1999. Conservación de pulpa de citrus fresca como ensilaje. Nota Técnica.

- Cangué VI (16):7-10. EEMAC. Facultad de Agronomía.
- Bühler, M.; Limper, J.; Muller, A.; Schwarz, G.; Simon, O.; Sommer, M. y Spring, W. 1998. Las enzimas en la nutrición animal. AWT. Bonn. ISBN 33-9805645-2-5.47p.
- Burnett, G. 1966. Studies of viscosity as the probable factor involved in the improvement of certain barleys for chickens by enzyme supplementation. Br.Poult. Sci. 7:55-75.
- Campo, M.; Nute, G.; Huegues, S.; Enser, H.; Wood, J. and Richardson, R. 2006. Flavor perception of oxidation in beef. Meat Sci. 72:303-311.
- Carbonell, L.; Fernández-López, J.; Pérez-Álvarez, J.; Kuri, V. 2005. Characteristics of beef burger as influenced by various types of lemon albedo. Inn. Food Sci. Emer. Technol. 6:247-255.
- Carpenter, K.; Clegg, K. 1956. The metabolizable energy of poultry feeding in relation to chemical composition. J. Sci. Agr. 7:48-148.
- Carré, B.; Flores, J.; Gómez, J. 1995. Effects of pelleting, lactose level, polyethylene glycol 4000, and guar gum compared to pectin on growth performances, energy values and losses of lactose lactic acid and water, in chickens. Poult. Sci. 74:1810-1819.
- Carreras Ferrer, I. 2004. Influencia de la suplementación de antioxidantes y de la administración de enrofloxacin en la calidad y seguridad de la carne de ave. Tesis. Univ. de Girona. España. 316p.
- Cassidy, M.; Ightfoot, F.; Gray, L.; Story, J.; Kritchevsky, D.; Vahourny, G. 1981. Effect of chronic intake of dietary fibers on the ultrastructural topography of rat jejunum and colon: a scanning electron microscopy study. Am.J.Clinic.Nutr. 34:218-228.
- Castromán, G. Com. pers., 28 de noviembre de 2007.
- Chaidedgumjom, A.; Sotanaphum, U.; Kitcharoen, M.; Sriamornsak, P.; Satiraphan, M.; Sriamornsak, P.. 2009. Pectin from *Citrus maxima*. Pharm. Biol. 47:521-526. Consultado 1 dic. 2009. Disponible en <http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1080/13880200902845795>.
- CHEA. (COMISION HONORARIA DE EXPERIMENTACION ANIMAL). 2000.

Ordenanza sobre uso de animales en experimentación, docencia e investigación universitaria. Diario Oficial N° 25.467, Febrero 21 de 2000, 1440-C a 1444-C, Uruguay.pp 64-68.

- Chow, C.K.; Reddy, K.; Tappel, A. A., 1973. Effect of dietary vitamin E on the activities of the glutathione peroxidase system in rat tissues. J. Nutr. 103: 618-624.
- Cortinas, L.; Barroeta, A.; Villaverde, C.; Galobart, J.; Guardiola, F. and Baucells, M. 2005. Influence of the dietary polyunsaturation level on chicken meat quality: lipid oxidation. Poult. Sci.84: 48-55.
- Cozzolino, D.; Pigurina, D.; Methol, M.; Acosta, Y.; Mieres, J. y Bassewitz, H. 1994. Guía para la Alimentación de Rumiantes. 2da. Ed. INIA. Serie Técnica N° 44. pp 16-37.
- Da Silva, J.; Teixeira, L.; de Souza, M. 2000. Efeito do extrato de urucum na pigmentação da gema dos ovos. Rev. Bras. Zootecn. 29: 135-1439.
- Dean,R.; Fu, S.; Stocker, R.; Davies, M. 1977. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. Biochem. J. 324: 1-18.
- Decker, E. A.; Xu, Z. 1998. Minimizing rancidity in muscle foods. Food Technol. 52:54-59.
- del Puerto, M.; Cabrera, M. C.; Saadoun, A. 2007. Variaciones de color, pH y Fe hemínico en la carne de ave fresca en función del tipo de músculo y del sistema de producción. Agrociencia. Vol. Especial. IX Encuentro de Nutrición y Producción en Animales Monogástricos. pp109-113.
- Depelch, P.; Ricard, F. H. 1965. Relation entre les depots adipeux, visceraux et les lipides corporeles chez le poulet. Ann. Zootech.14. 181-189.
- Descalzo, A. ; Sancho, A. 2008. A review of natural antioxidants an their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina. M.Sci. 79:423-436.
- De Vore, V.A.; Grenne, B. E. 1982. Glutathione peroxidase in post-rigor bovine semitendinosus muscle. J. Food Sci.47:1406-1409.
- Díaz, C. Com.pers. , 3 de noviembre de 2009.

- Duclos, M.; Berri, C.; Le Bihan-Duval, E. 2007. Muscle growth and meat quality. *J. Appl. Poult. Res.* 16: 107-112.
- Drochner, W.; Kerler, A.; Zacharias, B. 2004. Pectin in pig nutrition, a comparative review *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 88:367-380.
- Drochner, W.; Cerci, I.; Staderman, B.; Luders, H. 1990. The effect of increasing additions of low-esterified pectins in the diet on the metabolism of laying hens-tested by pair-feeding studies. *Arch. Tierernar*, 40:431-442.
- Elsenhans, B.; Blume, R.; Caspary, W. 1981. Long-term feeding of unavailable carbohydrate gelling agents. Influence of dietary concentration and microbiological degradation on adaptive responses in the rat. *Am. J. Clin. Nutr.* 34:1837-1848.
- Ezcurra, L. 1987. Alimentos no tradicionales para la avicultura en países de América Latina y el Caribe. Parte 1. Instituto de Investigaciones Avícolas de Cuba. *Rev. Avicultura* 31(1): 77-96.
- Fernández San Juan, P. M. 2002. Aditivos alimentarios: evaluación de la inocuidad, clasificación y funciones tecnológicas. Centro Nacional de Alimentación. Inst. Salud Carlos III. Consultado 20 feb. 2009. Disponible en www.unav.es/farmacia/graduados/aditivos_alimentarios.htm.
- Fletcher, D., L. 2002. Poultry meat quality. *World's Poult. Sci. J.* 58:131-145.
- Fletcher, D., L. 1999. Broiler breast meat color variation, pH, and texture. *Poult. Sci.* 78:1323-1327.
- Fletcher, D., L. 1992. Methodology for achieving pigmente specifications. *Poult. Sci.* 59: 1059-1066.
- Francesch, M. Com. pers., 3 de abril de 2000.
- Franti, C.; Julian, L.; Adler, H.; Wiggins, A. 1972. Antibiotic growth promotion: effects of zinc bacitracin and oxytetracycline on live weight and weights of selected muscles of New Hampshire cockerels. *Poult. Sci.* 52: 1757-1765.
- Garrett, D.A.; Failla, M.L.; Sarama, R.J. 1999. Development of an in vitro digestion method to assess carotenoid bioavailability from meals. *J. Agric. Food Chem.* 47:4301-4309.
- Gatellier, P.; Mercier, Y.; Renner, M. 2004. Effect of diet finishing mode (pasture or

- mixed diet) an antioxidant status of Charolais bovine meat. *Meat Sci.*67: 385-394.
- Giese, J. 1996. Antioxidants: tools for preventing lipid oxidation. *Food Technol.* 73-81.
- Gohl, B. 1978. Los subproductos de los cítricos para la alimentación del ganado. *Rev. Mundial Zootec.*12:30-33.
- Grashorn, M. A. 2007. Functionality of poultry meat. *J.Appl.Poult.Res.*16:99-106.
- Gross, J. Carotenoids pigments in citrus. In: Nagy, S., Shaw, P. and Vldhuis, M. 1977. *Citrus Sci. and Technol.* Vol I. Chapter 8. 303-354pp.
- Günzler, A.; Flohé,L.. 1985. Glutathione peroxidase. In: Greenwald, R.A. (ed.) *CRC handbook of methods for oxygen radical research.* CRC Press. Inc. Boca Raton, Florida, USA Vol.1, 285-290.
- Ha, J. K.; Kim, S. W.; Kim, W. Y. 1996. Use of agro-industrial by-products as animal feeds in Korea. *Korea J. Anim. Sci.*34:278-287.
- Harborne, J. B.; Williams, C.A. 2000. Advances in flavonoid research since 1992, *Phytochem.* 55:481-504.
- Honikel, K. 1998. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Sci.*49: 447-457.
- INRA (INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE). 1984. *L' Alimentation des animaux monogastriques: porc, lapin, volailles.* France.p190.
- Insani, E. ; Eyherabide, A. ; Grignoni, G. ; Sancho, A. ; Pensel, N. ; Descalzo. 2008. Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated retail display of beef production in Argentina. *Meat Sci.* 79 : 444-452.
- Jacobs, L. 1983. Effect of dietary fiber on mucosal growth and cell proliferation in the small intestine of the rat: a comparison of oat bran, pectin, and guar with total fiber deprivation. *Am. J. Clin. Nutr.* 37:954-960.
- James, B.; Goodband, R.; Unruh, J.; Tokach, M., Nelssen, J.; Dritz, S.; O'Quinn, P.; Andrews, B. 2002. Effect of creatine monohydrate on finishing pig growth performance, carcass characteristics and meat quality. *Anim. Feed Sci.*

Tech.96:135-145.

- Janky, D.; Francis, C.; Damron, D.; Fletcher, D. 1982. Evaluation of waste activated sludge (Citrus) as a source of xanthophyll pigment for laying hens and broilers. *Poult. Sci.* 61:468.
- John, M.2004. Fractionation of orange peel phenols in ultra filtered molasses and mass balance studies of their antioxidant levels. *J. Agric. Food Chem.*,52:7586-7592.
- Juin, H.;Elgaard,T. and Chicoteau, B. 2003.Effect of citrus extract (NOR-SPICE AB) on broiler performances. *Br. Poult. Sci.* 44:810-811.
- Kanner, J. 1994. Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. *Meat Sci.*36:169-189.
- Karunajeewa, H.; Hugues, R.J.; Mc Donald, M.W., Shenstone, F.S. 1984. A review of factors influencing pigmentation of egg yolks. *World's Poult. Sci.J.* 40:52.
- Khan, S.; Priyamvada, N.; Arivarasu, N., Khan, S.; YusufiI, A. 2007. Influence of green tea on enzymes of carbohydrate metabolismo, antioxidant defense, and plasma membrane in rat tisúes. *Nutr.* 23: 697-695.
- Klaasen, H.; Merhoff, A. y Triver, F. 1993. Efecto de la suplementación de vacas lecheras en pastoreo II. Consumo y producción de leche. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 122p.
- Kratchanova, M.; Pavlova, E.; Panchev,I. 2004. The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin. *Carbohydr. Polym.* 56:181-185.
- Kuzmicky, D .D.; Kohler, G. O.; Livingston, R.E.; Knowles, R.E.; Nelson, J.W. 1969. Broiler pigmentation potency of neoxanthin and violaxanthin relative to lutein. *Poult. Sci.* 49: 326-330.
- Kwon,J.-H.; Kwpm,Y.,Nam,K.-G.; Lee, E.; Ahn,D. 2008. Effect of electron-beam irradiation before and after cooking on the chemical properties of beef, pork and chicken. *Meat Sci.* 80:903-909.
- Laack, R. L. J. M., Van; Liu, C.H.; Smith, M. O.; Loveday, H. D. 2000. Characteristics of pale, soft, exudative broiler breast meat. *Poult. Sci.*79:1057-1061.

- Laguerre, M.; Lecompte, E, J.; Villeneuve, P. 2007. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Prog. Lip. Res.* 46: 244-282.
- Langhout, D.; Schutte, J.; De Jong, J.; Sloetjes, L, H.; Verstegen, M.; Tamminga, S. 2000. Effect of viscosity on digestion of nutrients in conventional and germ-free chickens. *Br. J. Nutr.* 83:533-540.
- Langhout, D.; Schutte, J., Leeuwen, P., Van.; Wiebenga, J.; Tamminga, S. 1999. Effect of dietary high- and low-methylated citrus pectin on the activity of the ileal microflora and morphology of the small intestinal wall of broiler chicks. *Br. Poult. Sci.* 40:340-347.
- Langhout, D.; Schutte, J. 1996. Nutritional implications of pectins in chicks in relation to esterification and origin of pectins. *Poult. Sci.* 75:1236-1242.
- Lanza, M.; Fasone, V.; Galofaro, V.; Barbagallo, D.; Bella, M.; Pennisi, P. 2004. Citrus pulp as an ingredient in ostrich diet: effect on meat quality. *Meat Sci.* 68:269-275.
- Lasta, J. A. 1997. Calidad de carne y productos cárnicos. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 17:197-201.
- Lee, J.; Bailey, C. ; Cartwright, A. 2003. Beta-mannanase ameliorates viscosity-associated depression of growth in broiler chickens fed guar germ and hull fractions. *Poult. Sci.* 82:1925-1931.
- Linch, S. M.; Frei, B. 1993. Mechanism of copper- and iron-dependent oxidative modification of human low-density lipoprotein. *J. Lipid Res.* 34:1745-1753.
- López Bote, C. 2004. Bioflavonoids effects reach beyond productivity. *Feed Mix* 12:1-4.
- Luna, A.; Lábaque, M.C.; Zygadlo, J.A.; Marín, R.H. 2007. Suplementación dietaria del pollo parrillero con componentes del aceite esencial de orégano: potencial efecto antioxidante. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 27: 60-61.
- Maisonnier, S.; Gómez, J.; Brée, A.; Berri, C.; Baeza, E. ; Carré, B. 2003. Effects of microflora status, dietary bile salts and guar gum on lipid digestibility, intestinal bile salts, and histomorphology in broiler chickens. *Poult. Sci.* 82 :805-814.

- Maisonnier, S., Gómez,J., Gabriel-Crévieu,I.; Carré,B. 2002. Analyses of degradation products from lipid and protein hydrolyses in the small intestine of broiler chickens fed on maize-based diets containing guar gum, or wheat-based diets. Br. Poult. Sci. 43:78-85.
- Maisonnier, S.; Gómez J.; Carré, B.2001a. Nutrient digestibility and intestinal viscosities in broiler chickens fed on wheat diets, as compared to maize diets with added guar gum. Br. Poult. Sci. 42:102-110.
- Maisonnier, S.; Gómez J.; Chagneau, A. ;Carré,B. 2001b. Analysis of variability in nutrient digestibilities in broiler chickens. Br. Poult. Sci. 42:70-76.
- Malalithi, V.; Devegowda,G. 2001. In vitro evaluation of nonstarch polysaccharide digestibility of feed ingredients by enzymes. Poult. Sci. 80:302-305.
- Mandalari, G.; Bennett, R.; Bisignano, G.; Saija, A.; Dugo, G.; Lo Curto, I. R.; Faulds, C.; Waldron, K. 2006. Characterization of flavonoids and pectin from bergamot (*Citrus bergamia* Risso) peel, a major byproduct of essential oil extraction. J. Agric. Food Chem.54: 197-203.
- Marklund,S. & Marklund,G.1974. Involvement of the superoxide anion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dimutase. Eur. J.Biochem. 47, 469-474.
- Mc Dowell, L.; Conrad, J.; Thomas, J. y Harris, L. 1974. Tabla de Composición de Alimentos de América Latina. Univ. de Florida. p14.
- Menéndez Lees, P. y de Medina, M. 1931. Sub- productos de la industria cítrica. Su posible utilización en la alimentación del ganado. Revista de la Facultad de Agronomía N° 5. Julio de 1931. Montevideo. Uruguay. pp 113-120.
- Mercier, Y.; Gatellier, P.; Renerre, M. 2004. Lipid and protein oxidation in vitro, and antioxidant potential in meat from Charolais cows finished on pasture or mixed diet. Meat Sci. 66:467-473.
- Mercier, Y.; Gatellier, P.; Baeza, E.; Genot,C.; Renerre, M.1998. Dietary fat sources modulate the protective effect of vitamin E on lipid and protein oxidation in microsomal membranes from turkey muscles. In Proceeding 44 th International Congress of Meat Science and Technology, 30 August-September 1998, Barcelona, Spain (pp 634-635).

- MGAP-DIEA (MINISTERIO DE GANADERÍA, AGRICULTURA Y PESCA. DIRECCIÓN DE ESTADÍSTICAS AGROPECUARIAS). 2007. Anuario Estadístico Agropecuario 2007. Uruguay. pp 71-111.
- Mieres, J. M. 2004. Guía para la alimentación de rumiantes. INIA. Serie Técnica N° 142. p10.
- Miles, R.P.; Butcher, G.D.; Henry, P.R.; Litell, R.C. 2006. Effect of antibiotic growth promoter on broiler performance, intestinal growth parameters, and quantitative morphology. *Poult. Sci.* 85:476-485.
- Mokbel, M. S.; Hashinaga, F. 2006. Evaluation of the antioxidant activity of extracts from buntan (*Citrus grandis* Osbeck) fruit tissues. *Food Chem.* 94:529-534.
- Montreau, F. 1972. Sur le dosage des composés phénolique totaux dans les vins par le methode Folin-Cicalteau. *Connaiss Vigne Vin.* 24: 397-404.
- Moreira, J. 2005. Causas da ocorrência de carne PSE em frangos de corte e como controlá-las. IV Seminário Internacional de Aves e Suínos- Avesui 2005. Qualidade da carne de Aves. Enfoque á Industrialização. Brasil. pp 71-108.
- Moreno, M.; Belén, D.; García, D. y Mendoza, J. 2006. Evaluación del contenido de carotenoides totales en algunas variedades de cáscara de naranjas venezolanas. *Rev. Fac. Agron. (LUZ).* 23:298-305.
- Moreno, M.; Gómez, C., Mendoza, J. y Belén, D. 1999. Carotenoides totales en cáscara de naranja *Citrus sinensis* L. var. Valencia. *Rev. Unellez Ciencia y Tecnol.* 17:92-99.
- Mourão, J. L.; Pinheiro, V. M.; Prates, J. A. M.; Bessa, R. J. B.; Ferreira, L. M. A.; Fones C. M. G. A.; Ponte, P. I. P. 2008. Effect of dietary dehydrated pasture and citrus pulp on the performance and meat quality of broiler chickens. *Poult. Sci.* 87:733-743.
- Nakagawa, K.; Kasu, M.; Abukawa, T.; Aratani, K.; Yamaguchi, M.; Uesato, S. 2007. Cooper (II) ions convert catechins from antioxidants to prooxidants in protein carbonyl formation. *J. Health Sci.* 53:591-595.
- Nethol, V. 1981. Antioxidantes. En: Helman, J. Farmacotecnia teórica y práctica. Tomo V. Cap. 42. p1521.
- Nys, I. 2003. Dietary carotenoids and egg yolk coloration. En: Calidad de alimentos y

- calidad de productos de origen animal. Bases moleculares, fisiológicas, nutricionales y tecnológicas de la calidad de los alimentos. M. C. Cabrera, L. Astigarraga & A. Saadoun Ed., Montevideo. Uruguay. pp 46-62.
- Offer, G.; Knight, P. 1988. The structural basis of water-holding in meat.; Part 2: Drip Losses. In: Develop. Meat Sci. 4,ed. R. Lawrie, Elsevier, Oxford. pp 173-241.
- Oluremi, O.; Ojighen, V.; Ejemi, E. 2006. The nutritive potentials of sweet orange (*Citrus sinensis*) rind in broiler production. Int. J. Poult. Sci. 5:613-617.
- OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD).1983. Manual de técnicas básicas para un laboratorio de salud. Organización Panamericana de la Salud. Publ. Científica N° 439. pp 366-386.
- Orcasberro, R.; Marichal, M. J.; Arias, G.; Costabel, M. y Piaggio, L. 1987. Alimentos disponibles en el país para animales domésticos. Relevamiento preliminar. Fac. de Agronomía. Montevideo. Uruguay. 27p.
- Ouart, M.; Bell, D.; Janky, D.; Dukes, M.; Marion, E. 1988. Influence of source and physical form of xanthophylls pigment on broiler pigmentation and performance. Poult. Sci. 67:544-548.
- Patel, M., McGinnis, J. and Pubold, M. 1981. Effect of dietary cereal grain, citrus pectin, and guar gum on liver fat in laying hens and young chicks. Poultry Science 60:631-636.
- Patel, M.; Jami, M.; McGinnis, J. 1980. Effect of gamma irradiation, penicillin and/or pectic enzyme on chick growth depression and fecal stickiness caused by rye, citrus pectin and guar gum. Poult. Sci. 59:2105-2110.
- Pérez-Vendrell, A.M.; Hernández, J.M.; Llauro, L.; Schierle, J.; Brufau, J. 2001. Influence of source and ratio of xanthophyll pigments on broiler chicken pigmentation and performance. Poult. Sci. 80:320-326.
- Petersen, S.T.; Wiseman, J.; Bedford, M.R. 1999. The effect of age and diet on the viscosity of intestinal contents in broiler chicks. Br. Poult. Sci. 40:34-370.
- Pigurina, G.; Methol, M.; Acosta, Y.; Bassewitz, H. y Mieres, J. 1991. Guía para la alimentación de Rumiantes. La Estanzuela, INIA. Serie Técnica N° 5. pp 19-31.

- Praloran, J. C. 1977. Los agrios. Técnicas agrícolas y producciones tropicales. Ed. Blume. Barcelona. pp 267-442.
- Quiao, M.; Fletcher, D. L.; Smith, D. P.; Northcutt, J.K. 2001. The effect of broiler breast meat color on pH, moisture, water-holding capacity, and emulsification capacity. *Poult. Sci.* 80:676-680.
- Realini, C.; Duckett, S.; Brito, G.; Dalla Rizza, M.; De Mattos, D. 2004. Effect of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics fatty acid composition and quality of Uruguayan beef. *Meat Sci.* 66:567-577.
- Rehman, Z.U. 2006. Citrus peel extract-A natural source of antioxidant. *Food Chem.* 99:450-454.
- Reyes, S. y Guedes, M. 1987. Utilización de subproductos de la industria cítrica Montevideo. Uruguay. Tesis. Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 115p.
- Rincón, A., Vászquez, A.; Padilla, F. 2005. Composición química y compuestos bioactivos de las harinas de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata*) y toronja (*Citrus paradisi*) cultivadas en Venezuela. Caracas. ALAN 55.
- Ritcher, E. A.; Derawe, W.; Wojtaszewski, J. F. P. 2001. Glucose, excercise and insuline: emerging concepts. *J. Phys.* 535: 313-322.
- Rock, E. Com. pers., 8 de diciembre de 2005.
- Ruiz, J. A.; Pérez-Vendrell, A. M. y Esteve-García, E. 1999. Effect of beta-carotene and vitamin E on oxidative stability in leg meat of broilers fed different supplemental fats. *J. Agric. Food Chem.* 47: 448-454.
- Saadoun, A. Com. pers., 1 de diciembre de 2009.
- Saleh, F.; Tahir, M.; Ohtsuka, A.; Hayashi, K. 2005. A mixture of pure cellulase, hemicellulase and pectinase improves broiler performance. *Br. Poult. Sci.* 46:602-606.
- Sandoval, G.; Terraes, J. C.; Revidatti, F.; Fernández, R.; Gauna, C.; Glamuzina, M. 2003. Hematocrito, relación heterófilo- linfocito e inmovilidad tónica en pollos con estrés psico- físico crónico criados en jaulas. *Comunicaciones*

Científicas y Tecnológicas. Resumen V-026.4p. Univ. Nal. del Nordeste.
Consultado 1 nov.2008. Disponible en

www.unne.edu.ar/web/cyt/cyt/2003/comunic.

- Santé, V.; Fernández, X.; Mongin, G., Renou, J.- P. 2001. Nouvelles méthodes de mesure de la qualité des viandes de volaille. INRA Prod. Anim. 14:247-254.
- Santos, A.L.; Sakomura, N.K.; Freitas, E.R.; Fortes, C.M.S., Carilho, E.N. V.M. 2005. Comparison of free range broiler chicken strains raised in confined or semi-confined systems. Braz. J. Poult. Sci. 7:85-92.
- Sárraga, C.; Carreras, I.; García Regueiro, J. A. 2002. Influence of meat quality and NaCl percentage on glutathione peroxidase activity and values for acid-reactive substances of raw and dry-cured *longissimus dorsi*. Meat Sci. 62(4):503-508.
- Scerra, V.; Caparra,P.; Foti, F.; Lanza, M.; Priolo,A. 2001. Citrus pulp and wheat straw silage as an ingredient in lamb diets: effects on growth and carcass and meat quality. Small Ruminant Res. 40:51-56.
- Schachter, J.2000. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. Drug Metab.Rev. 32:307-326.
- Soest, P. J., Van; Robertson, J. B; Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74:3583-3597.
- Tabook, N.M., Kadim,I. T., Mahgoub, O. and Al-Marzooqi,W. 2006. The effect of date fiber supplemented with an exogenous enzyme on the performance and meat quality of broiler chickens. Br. Poultry Sci.47:73-82.
- Tasman-Jones, C.; Owen, R.; Jones,A. 1982.Semipurified dietary fiber and small bowell morphology in rats. Dig.Dis.Sci.27:519-524.
- Teira, G.; Perlo, F.; Bonato, P. y Favre, R. 2004. Estudio de mermas por descongelación en filets de pollo. Ciencia, Docencia y Tecnología. XV (028). Universidad Nal. de Entre Ríos. Argentina. pp 203-213.
- Terevinto, A. 2009. Oxidación lipídica y proteica, capacidad antioxidante y actividad de enzimas antioxidantes en carne vacuna fresca y madurada de razas Hereford y Braford del Uruguay. Seminario de Tesis II. Maestría en Ciencias

Agrarias. Facultad de Agronomía. 14p.Doc. Int.

- Trujillo, A. 2006. Comparación de una técnica in situ y una técnica in vitro para estimar la cinética de degradación en alimentos para animales. Montevideo. Uruguay. Tesis Maestría de Rumiantes. Montevideo, Uruguay. Facultad de Veterinaria. 70p.
- Urdaneta-Vargas, S.; Narváez-Bravo, C., Arzalluz-Fischer, A.; Mejía, W.; Oviedo, A. y García, E. 2007. Detección de títulos de anticuerpos contra anemia infecciosa aviar y su relación con otros virus inmunosupresoras en pollos de engorde. Estado Zulia. Venezuela. Rev. Cient. (Maracaibo), ago. 2007, vol.17, no.4, pp357-365.
- Vignola,G.; Lambertini,L.; Mazzoni,G.; Iammarco,M.; Tassinari,M.; Martelli,G.; Bertin,G.2009. Effect of selenium source and level of supplementation on the performance and meat quality of lambs. Meat Sci. 81:678-685.
- Vohra, P.; Kratzer, F.1964. Growth inhibitory effect of certain polysaccharides for chickens. Poult. Sci. 43:1164-1170.
- Wagner, D.; Thomas,O.1977. A rye type growth depression of chicks feed pectin.Poultry Science 56(2): 615-619.
- Warris, P.D.; Bevis, E. A.; Ekins, P.J. 1989. The relationship between glycogen stores and muscle ultimate pH in commercially slaughtered pigs. Br. Vet. J.145:378-383.
- Wang, Y.; Chuang,Y.; Hsu,H. 2008. The flavonoid, carotenoid and pectin content in peels of citrus cultivated in Taiwan. Food Chem. 106:277-284.
- Wood, J.; Richardson, R.; Nute, G.; Fisher, A.; Campo, M., Kasapidou, E.; Sheard D,P.; Enser, M. 2004. Effect of fatty acids on meat quality: a review. Meat Sci. 66:21-33.
- Yang, S.; Chung, C. 1985. Studies on the utilization of citrus by-products as livestock feeds. Feeding value of dried citrus by-products fed to layer. Korean J. Anim. Sci.27:239-245.
- Young, J. F.; Karlsson, A.H.; Henckel, P. 2004. Water-holding capacity in chicken breast muscle is enhanced by pyruvate and reduced by creatine supplements. Poult. Sci. 83:400-405.

- Yu, B.; Tsai, C.; Hsu, J.; Chiou, P. 1998. Effect of different sources of dietary fibre on growth performance, intestinal morphology and caecal carbohydrases of domestic geese. *Br. Poult. Sci.* 39(4):560-567.
- Zhang, L.; Barbut, S. 2005. Rheological characteristics of fresh and frozen PSE, normal and DFD chicken breast meat. *Br. Poult. Sci.* 46:687-693.

VII. ANEXOS

Efecto del *expeller* de citrus en el crecimiento y calidad de carne del pollo parrillero¹⁰

Olivero, Roberto¹; Cabrera, María Cristina^{1,2} del Puerto, Marta¹; Ramos, Ana^{1,2}
Terevinto, Alejandra²; Castromán, Gabriela²; Saadoun, Alí².

¹ Laboratorio Calidad de Alimentos y Calidad de Productos, GD Nutrición, Depto. Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía. Av. Garzón 780.

² Sección Fisiología & Nutrición. Instituto de Biología, Facultad de Ciencias. Iguá 4225. Montevideo, Uruguay. rolivero@fagro.edu.uy. CP.:12.900.

Resumen

Se estudió el efecto sobre la salud de los pollos y sobre la calidad de su carne de los residuos de la industria cítrica uruguaya (*expeller* cítrico, EC) usados como alimento. Fue evaluado el efecto de dosis de EC (0%; 1,75%; 3,5% y 7%) sobre consumo alimenticio, peso vivo, ganancia de peso y conversión alimenticia en etapa de terminación (44 a 58 días de edad). No hubo diferencias significativas para las tres primeras variables, pero sí para conversión alimenticia. El EC afecta favorablemente la capacidad de retención de agua y el pH de la carne. Ni en color de la piel ni el de la carne fueron afectadas por el EC. No se afectó mayormente la oxidación lipídica con el uso del EC, pero la oxidación proteica aumentó con las dosis altas. La actividad enzimática (GPx y catalasa) demuestra que el EC ejerció un efecto favorable previniendo la oxidación.

Palabras clave: nutrición, oxidación carne, subproductos cítricos

¹⁰ Artículo realizado según normas de la revista *Agrociencia*, de acuerdo al reglamento del posgrado de Facultad de Agronomía (Departamento de Biblioteca y Unidad de Posgrados y Educación Permanente. 2010. Guía para la presentación de tesis y trabajos finales de posgrado. Facultad de Agronomía. 24p.).

Summary

Effects of citrus expeller on the broilers' growth and meat quality

The effect on broilers' health and meat quality of Uruguay's citrus industry residues (citric expeller, CE) used as feed was evaluated. It was evaluated the effect of dose of EC (0%, 1.75%, 3.5% and 7%) on food consumption, weight, weight gain and feed conversion in finishing stage (44 to 58 days old). There were no significant differences for the first three variables, but feed conversion was reduced with CE doses. CE improved water holding capacity and meat pH. Skin and meat color were not influenced by CE. While lipid oxidation was not affected, protein oxidation was increased with higher CE doses. Enzyme activity (GPx and catalase) shows that CE enhances oxidation prevention.

Key words: nutrition, meat oxidation, citrus by-products

Introducción

La carne de ave toma cada vez más importancia como fuente de alimentación proteica. Los más importantes atributos relacionados a la calidad de la carne de ave son el color y la capacidad de retención de agua. La modulación de los atributos de calidad puede realizarse a través de la dieta, incluyendo el uso de granos o alimentos con propiedades antioxidantes, modificándose el pH y color y mejorando la conservación. Estos alimentos deben ser de bajo costo y accesibles al productor avícola. En función de esto y de la existencia de subproductos en la industria nacional, es interesante estudiar el efecto de un subproducto de la industria cítrica incorporado a la dieta, y su impacto sobre la calidad de la carne de ave, además de evaluar también la respuesta en crecimiento de las aves. Son importantes atributos el color de la piel y de la carne, dependiendo el primero de pigmentos carotenoides presentes en la dieta y el segundo de las oxigenaciones de mioglobina. La capacidad de retención de agua (CRA) de la carne afecta el rendimiento de la misma luego de la cocción, con la consecuencia en la fabricación de productos industrializados (Moreira, 2005). El pH muscular influye en color y capacidad de retención de agua de la carne. Los procesos oxidativos inciden en el deterioro de la calidad, siendo la oxidación de lípidos el principal factor de pérdida de calidad (Campo *et al.*, 2006). Las proteínas también sufren la acción de las especies reactivas, aunque el efecto es menor que en los lípidos debido a la lenta progresión de las reacciones. Las enzimas antioxidantes (SOD, catalasa y GPx) pueden medir el estatus oxidativo. La actividad de dichas enzimas es un indicador de la oxidación (Carreras, 2004; Mercier *et al.*, 2004).

El aumento de producción cítrica en el litoral uruguayo ha determinado un incremento de la cantidad de subproductos industriales posibles de ser volcados al mercado de raciones para animales. Se define *expeller* cítrico (EC) como el producto obtenido de la extracción de jugos de frutas cítricas, el cual consta de cáscara, pulpa y semilla que se secan, muelen y peletizan. Sin embargo, solamente se produce una relativa baja cantidad de EC, por parte de una única empresa que realiza dicho proceso ya que las otras derivan el subproducto fresco como alimento para animales,

sin proceso de secado, producto voluminoso y de caro transporte. El EC es considerado un concentrado energético, con bajo nivel de proteínas, en cuya composición deben citarse asimismo las pectinas, polifenoles y carotenoides.

En la alimentación de las aves, la inclusión de alimentos estratégicos, enfrenta limitantes debido a compuestos que tienen efectos no deseados sobre la nutrición de los animales a los cuales están destinados. En el caso del EC, el contenido de pectinas puede ser un factor que incida negativamente en un óptimo aprovechamiento por el pollo. Harborne y Williams (2000) citan los efectos antiinflamatorios y antimicrobiales de los polifenoles, en tanto López Bote (2004) cita el efecto beneficioso de flavonoides sobre la carne de pollo, lo que incluye una mejora en la capacidad de retención de agua. En el pH de la carne de ave, Mourão *et al.* (2008) vieron que dosis de 10% de pulpa de citrus disminuyó el pH intramuscular de la carne llegando a valores de 5,93. En referencia al color de piel y carne del pollo, algunos de los carotenoides pueden ser aprovechados por el pollo para pigmentación de piel siendo su utilización proveniente de residuos de citrus estudiada por Mourão *et al.* (2008). Es de interés estudiar el efecto del EC sobre el color de la carne, pH, CRA y capacidad de prevención de la oxidación, pues de haber efectos beneficiosos esto favorecería la posibilidad de valorizarlo como un alimento que mejore las propiedades de la carne aviar. Al mismo tiempo se pretende ponderar los eventuales efectos detrimentales debido a las pectinas. De comprobarse las ventajas sobre la salud aviar y la calidad de carne, estaríamos en presencia de un alimento funcional para aves de carne. En este estudio se abordarán los efectos de la inclusión del EC en dosis crecientes en la dieta de pollos de carne en etapa de terminación, en la cual se pretende determinar el efecto de la inclusión de dosis crecientes, sobre los parámetros relacionados a la performance productiva y cualitativa de la carne fresca y conservada en frío.

Los objetivos del estudio son evaluar el EC en la dieta del pollo en engorde, en respuesta a diferentes niveles de inclusión, determinando su incidencia en el crecimiento y rendimiento de carne a la faena.

Materiales y métodos

Animales y alojamiento

Se utilizaron 36 pollos parrilleros machos de la línea Ross, de 44 días de edad, alimentados con dieta comercial hasta el inicio de la experiencia, sacrificándose a los 58 días de edad. Las aves se criaron en piso y se alojaron en locales de la Facultad de Agronomía (Sayago), en jaulas individuales con comedero manual (recipiente individual) y bebedero automático de tipo chupete. El plan de luz aplicado correspondió a 23 horas de luz y 1 hora de oscuridad.

Protocolo experimental

A la edad de 44 días de edad, cuatro grupos de 9 pollitos recibieron totalmente al azar, una de las siguientes dietas experimentales (cuadro 1): dieta base sin EC (Testigo); dieta base con EC a 1,75 %; dieta base con EC a 3,5 % ó dieta base con EC a 7%. Se determinaron consumo de alimento acumulado entre los días 44 a 58 (g/ave), peso vivo (g/ave) el día 44 (peso inicial) y día 58 (peso final), ganancia de peso entre los días 44 a 58 y conversión alimenticia (kg alimento / kg peso vivo) entre los días 44 a 58. A los 58 días de edad los pollos se sacrificaron siguiendo las normas de la CHEA (2000).

Cuadro 1. Composición de las dietas

Ingredientes (%)	Experiencia 1				Experiencia 2			
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 1	T 2	T 3	T 4
Maíz	53,10	52,90	54,15	56,17	55,35	55,27	55,17	53,42
Concentrado soja	21,80	22,82	22,92	24,50	18,57	19,10	19,65	20,60
<i>Expeller</i> de citrus	-	1,75	3,50	7,00	-	1,75	3,50	7,00
Afrechillo de trigo	12,5	20,00	7,00	-	12,00	0,00	8,00	5,5
Harina de carne y hueso	5,60	5,60	5,60	5,60	5,60	5,60	5,60	5,60
Harina de sangre	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Fosfato de calcio	0,50	0,50	0,50	0,50	-	-	-	-
Carbonato de calcio	0,60	0,60	0,60	0,60	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Aceite de girasol	2,20	2,20	2,10	2,00	4,20	4,00	3,80	3,60
Metionina	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Premezcla vit-min.*	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Composición química								
PC (%)	21,40	21,59	21,34	21,41	19,95	19,95	19,96	19,97
EM (Kcal/Kg)**	2967	2992	3017	3098	3130	3139	3149	3159
FC (%)	3,22	3,39	3,32	3,32	3,10	3,31	3,33	3,66

*Premezcla de minerales y vitaminas para pollos barrilleros. Provee cada 1,5 kg: Vitamina A 12.000.000U.I., Vitamina D3 2.000.000 U.I., Vitamina E 25.000 U.I., Vitamina K 7,6 g, Vitamina B2 5 g, D-Pantotenato de calcio 10 g, Niacina 30 g, Acido fólico 0,5 g Vitamina B12 13 ml, Cloruro de colina 500 g, Vitamina B1 0,5 g, Vitamina B6 1 g, Manganeso 90 g, Zinc 35 g, Hierro 25 g, Cobre 2 g, Yodo 2 g, Cobalto 0,1g, Selenio 0,1g, Excipiente c.s.p. 1,5 Kg.

**La energía metabolizable calculada para EC se realizó como promedio de valores obtenidos de ecuación de Carpenter y Clegg (1956, modificada por Oluremi, 2006) y de estimación de EM en base al análisis de energía bruta realizado en nuestro laboratorio, siendo de 3100 kcal EM/kg en base fresca (3526,7 kcal EM/ kg en base seca).

Determinaciones

VARIABLES DE CRECIMIENTO. Se midieron consumo de alimento acumulado (g/ave/total), ganancia de peso (g), conversión alimenticia (Kg. alimento/Kg. peso vivo). Las determinaciones se realizaron entre los días 44 a 58.

VARIABLES DE CALIDAD DE CARNE. Se determinó rendimiento de pechuga y patas, medido a las 3 horas de la faena y calculado como cociente entre el peso de pechuga o patas y el peso vivo, siendo expresado en porcentaje. Se midió la cantidad de grasa abdominal (% peso vivo) (Depelch y Ricard, 1965): luego del sacrificio las carcasas se dejaron una noche a 4°C y luego se extrajo la grasa abdominal y la circundante a la molleja y al proventrículo. Para determinar la CRA (%), se extrajo una muestra de carne de pechuga a 1 h.30 minutos (tiempo arbitrario) luego del sacrificio y se midió la retención de agua a las 24 horas, según el método de Offer y Knight (1988). Se determinó cinética de pH a 15,45 minutos y 24 horas. Se midió el pH de la carne (dos muestras en la pechuga y dos muestras en ambos muslos de cada carcasa) en tres momentos luego de la faena: 15 minutos, 45 minutos, y 24 horas., estando en este caso las carcasas refrigeradas a 4°C. Para medir el pH se utilizó un aparato LT Lutron pH-201 con electrodo específico para medir carne. El color de piel se tomó sobre la pechuga, por colorímetro Minolta Lab CR-10, a los 15 minutos de la faena, siendo expresado en las dimensiones CIELab (luminosidad, L*; enrojecimiento, a*; y amarillamiento, b*) (Fletcher, 1992). El color de carne se determinó así: una vez medido el color de piel se retiró esta y se tomaron dos determinaciones de color de carne sobre pechuga y dos sobre muslo, por medio de colorímetro Minolta Lab CR-10, a los 15 minutos de la faena y a las 24 horas luego de la misma, estando en este caso las carcasas refrigeradas a 4°C. Se utilizó el método CIE. Las muestras de pechuga se tomaron en una franja central del músculo pectoral en dos sitios equidistantes a derecha e izquierda de la quilla; para el muslo las muestras se tomaron de la zona central anterior del muslo derecho y del izquierdo.

La oxidación lipídica fue medida por TBARS. Se determinan sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en músculo pectoral (mg de malonil- di- aldehído o MDA/kg de carne de pechuga fresca), según Linch y Frei (1993) con ciertas modificaciones (Gatellier *et al.*, 2004). Se calculó la concentración del MDA

utilizando su coeficiente de extinción molar ($156000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Las determinaciones se realizaron a 1 hora 30 minutos del sacrificio y a las 24 horas. La oxidación proteica fue medida a través de carbonilos (nmoles DPNH/ mg de proteína). Las determinaciones se realizaron en músculo pectoral, siguiendo el método de Mercier *et al.* (2004), para estimar el nivel de carbonilos, con ligeras modificaciones. Los carbonilos se cuantificaron por su reacción de la DNPH (2,4-dinitrofenilhidracina), con la formación de una base de Schiff que produce la correspondiente hidrazona, cuantificable espectrofotométricamente a 360 - 385nm. La concentración de DPNH se calculó utilizando su coeficiente de extinción molar ($22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y los resultados se expresaron en nmoles de DNPH/mg de proteína. Las determinaciones se realizaron a 1 h. 30 minutos y a las 24 horas. Las enzimas antioxidantes se determinaron de la siguiente manera: a) Glutathion peroxidasa. La actividad de GPx se midió por el método de De Vore y Green (1982) y Günzler y Flohé (1985). Dado que una unidad de GPx es definida como cantidad de extracto requerida para oxidar un milimol de NADPH por minuto, se calculó la concentración de NADPH utilizando su coeficiente de extinción molar a 22 °C ($6300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y se expresó en resultado en micromoles de NADPH oxidados /min/g carne fresca; b) Superóxido dimutasa. La actividad de SOD (se midió según Marklund y Marklund (1974, modificado por Gatellier *et al.* 2004). Una unidad de actividad enzimática (U) se tomó como la actividad necesaria para inhibir en un 50% la autooxidación del pirogalol. El resultado se expresó en UI, unidades de inhibición SOD totales/g carne pechuga fresca; c) Catalasa. La actividad de catalasa se midió según Aebi (1984), utilizándose el coeficiente de extinción molar del $\text{H}_2 \text{O}_2$. ($39,4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Los resultados se expresaron en micromoles de H_2O_2 consumidos/min/g carne pechuga fresca. Para la determinación de enzimas de oxidación, las muestras se tomaron a 1 hora 30 minutos luego del sacrificio (tiempo arbitrario).

Diseño y modelo estadístico.

El diseño utilizado fue completamente al azar, siendo la unidad experimental es el animal. El único factor utilizado para definir los tratamientos en ambas experiencias fue la dosis de EC. El modelo de diseño experimental fue parcelas al azar, expresado

como $Y = \mu + \zeta_i + \varepsilon_{ij}$. Y corresponde a las variables aleatorias medidas, μ es la media poblacional, ζ_i es el efecto de la dosis de EC y ε_{ij} es el error experimental, siendo i el i -ésimo tratamiento y j la j -ésima repetición. Los resultados fueron analizados por medio de análisis de varianza, aplicando el modelo lineal generalizado. Cuando se halló significancia, las medias de los tratamientos se compararon por medio de Tukey- Kramer. Se analizaron contrastes por medio de polinomios ortogonales. Para las variables TBARS, carbonilos y actividad antioxidante se utilizó un diseño factorial, analizándose efecto tiempo (1 h. 30 minutos y 24 horas) y efecto dosis de EC. Se aplicó el mismo paquete estadístico que en el caso anterior.

Resultados y discusión

Efecto de la inclusión de EC en el período de terminación, en el crecimiento animal, rendimiento y calidad de carne

No se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las dosis de EC sobre las variables productivas, a excepción de la conversión alimenticia ($p < 0,05$). La peor conversión puede atribuirse a un menor peso ganado en el período que a un mayor consumo de alimento. Los resultados se observan en el cuadro 2.

Cuadro 2. Efecto de la inclusión de EC en el consumo de alimento, peso vivo, ganancia de peso y conversión alimenticia de 44 a 58 días de edad.

EC (%)	Consumo Alimento (g/ave/total)	Peso vivo final (g)	Ganancia de peso (g/ave)	Conversión alimenticia (kg alimento consumido/kg ganancia peso)
0	2374 ± 57 a	2917 ± 13 a	1436,7 ± 39 a	1,66 ± 0,02 b
1,75	2374 ± 114 a	2860 ± 13 a	1358,3 ± 78,a	1,76 ± 0,04 ab
3,5	2229 ± 124 a	2598 ± 13 a	1187,5 ± 94 a	1,92 ± 0,09 a
7	2418 ± 71 a	2852 ± 92 a	1388,9 ± 54 a	1,75 ± 0,04 ab
p	0,54	0,28	0,085	0,010
n	9	9	9	9

Diferentes letras significan diferencia estadística entre las dosis en cada columna, test de Tukey-Kramer ($p < 0,05$). Los pesos iniciales no fueron diferentes entre sí ($p > 0,05$).

Se coincide con Ezcurra (1987) quien fija como dosis utilizables 5 a 10%, Mourão *et al.* (2008) y Oluremi *et al.* (2006). En lo que hace al rendimiento de pechuga y muslos, ambos no se afectaron por los tratamientos. En la capacidad de retención de agua, se aprecia un efecto positivo del EC al disminuir las pérdidas, lo cual redundaría en una mejor calidad de carne. Los resultados se observan en el cuadro 3.

Cuadro 3. Efecto del EC en el rendimiento de pechuga, rendimiento de muslo, capacidad de retención de agua y cantidad de grasa abdominal en relación al peso vivo.

EC (%)	Rendimiento pechuga (%)	Rendimiento Muslo (%)	CRA (%)	Grasa abdominal (% PV)
0	25,30 ±0,88 a	20,86 ±0,26 a	96,8 ± 0,36 a	1,43 ± 0,17 a
1,75	24,15 ±0,60 a	20,52 ±0,28 a	97,4 ± 0,40 b	1,52 ± 0,20 a
3,5	24,22 ±0,66 a	20,07 ±0,39 a	98,0 ± 0,13 b	1,46 ± 0,22 a
7	25,68 ±0,44 a	19,85 ±0,29 a	97,9 ± 0,15 b	1,73 ± 0,25 a
p	0,28	0,10	0,026	0,748
n	9	9	9	9

Letras iguales indican ausencia de diferencia estadística ($p > 0,05$).

No se observaron diferencias significativas en lo referente a cantidad de grasa abdominal. La inclusión de EC incide en el pH de la carne de ave, provocando una disminución significativa en pechuga y muslo (cuadro 4), pero en rangos deseables para la mejor calidad de carne de acuerdo a lo citado por Moreira (2005) y Kwon *et al.* (2008).

Cuadro 4. Efecto del EC en el pH de pechuga y muslo a los 15 minutos, 45 minutos y 24 horas luego del sacrificio

EC (%)	Pechuga			Muslo		
	pH 15	pH 45	pH 24	pH 15	pH 45	pH 24
0	6,57 ± 0,06 a	6,57 ± 0,06 a	6,08 ± 0,04 a	6,57 ± 0,06 a	6,38 ± 0,05 a	6,08 ± 0,04 a
1,75	6,44 ± 0,05ab	6,44 ± 0,05ab	5,92 ± 0,01 b	6,43 ± 0,05 ab	6,23 ± 0,03 b	5,92 ± 0,01 b
3,5	6,39 ± 0,03 b	6,39 ± 0,03 b	5,91 ± 0,08 b	6,29 ± 0,03 b	6,19 ± 0,02 b	5,91 ± 0,08 b
7	6,48 ± 0,03ab	6,48 ± 0,03ab	5,97 ± 0,01 b	6,35 ± 0,05 b	6,20 ± 0,02 b	5,97 ± 0,01 b
p	0,045	0,045	0,0005	0,0028	0,00003	0,0005
n	9	9	9	9	9	9

Diferentes letras significan diferencia estadística en cada columna, test de Tukey- Kramer ($p < 0,05$).

El efecto de disminución del pH sin alcanzar valores peligrosos debe explicarse por una mayor acumulación de glucógeno en casos de alimentación con EC. Posiblemente los antioxidantes presentes en el EC inhiban la enzima fosforilasa, enzima de degradación, por lo cual el glucógeno puede permanecer como tal sin ser escindido. El descenso de pH que se observa al agregar EC no es brusco, lo que se condice con lo hallado por Olivo (1999). La tendencia a una mejor CRA al utilizar EC es consistente con lo hallado en términos de pH, juzgándose entonces que ambas variables fueron favorables a la utilización del subproducto.

En color de piel no hubo diferencias significativas entre los tratamientos (cuadro 5), posiblemente por el bajo nivel de carotenoides útiles al pollo.

Cuadro 5. Efecto del EC en una dieta de terminación en el color de la piel expresado en L*, a* y b*

EC (%)	L*		a*		b*	
	15 min	24 h	15 min	24 h	15 min	24 h
0	54,94 ± 0,50 a	54,94 ± 0,50 a	0,91 ± 0,31a	0,91 ± 0,31a	26,3 ± 0,70 a	26,3 ± 0,70 a
1,75	54,90 ± 0,47 a	54,90 ± 0,47 a	0,76 ± 0,21a	0,76 ± 0,21a	26,7 ± 0,76 a	26,7 ± 0,76 a
3,5	54,30 ± 0,64 a	54,30 ± 0,64 a	0,59 ± 0,09a	0,59 ± 0,09a	25,2 ± 0,28 a	25,2 ± 0,28 a
7	55,10 ± 0,26 a	55,10 ± 0,26 a	1,09 ± 0,25a	1,09 ± 0,25a	26,5 ± 0,40 a	26,5 ± 0,40 a
p	0,655		0,494		0,30	
n	9		9		9	

Letras iguales indican ausencia de diferencia estadística ($p > 0,05$).

El color de carne, medido en la pechuga, a los 15 minutos del sacrificio no reflejó diferencias significativas entre los tratamientos en luminosidad ni amarillamiento (b*), aunque sí se encontraron en enrojecimiento (a*), el cual baja con la dosis de 7%, aunque esta diferencia significativa es sólo contra la dosis de 3,5%. El color de pechuga a las 24 horas del sacrificio mostró tendencias similares a las referidas para 15 minutos postmortem (cuadro 6).

Cuadro 6. Efecto del EC en el color de la carne de pechuga a los 15 minutos y a las 24 horas del sacrificio.

EC (%)	L*		a*		b*	
	15 min	24 h	15 min	24 h	15 min	24 h
0	44,5 ± 0,3 a	47,0 ± 0,6 a	0,9 ± 0,2	2,5 ± 0,4 ab	22,7 ± 0,3 a	24,6 ± 0,7 a
1,75	44,6 ± 0,3 a	45,8 ± 0,6 a	0,8 ± 0,2ab	3,0 ± 0,26 ab	22,8 ± 0,3 a	24,2 ± 0,6 a
3,5	44,4 ± 0,4 a	46,8 ± 0,4 a	1,2 ± 0,3 a	3,0 ± 0,5 a	23,3 ± 0,3 a	25,3 ± 0,4 a
7	44,9 ± 0,4 a	46,0 ± 0,8 a	0,4 ± 0,1 b	1,6 ± 0,3 b	23,0 ± 0,2 a	23,5 ± 0,5 a
p	0,7143	0,48	0,023	0,04	0,39	0,12
n	9		9		9	

Diferentes letras significan diferencia estadística en cada columna, test de Tukey-Kramer ($p < 0,05$).

Para color de carne medida en el muslo a los 15 minutos y a las 24 horas de sacrificio no hubo diferencias ni en L* ni en a* ni en b* (cuadro 7).

Cuadro 7. Color de carne de muslo a los 15 minutos y a las 24 horas del sacrificio

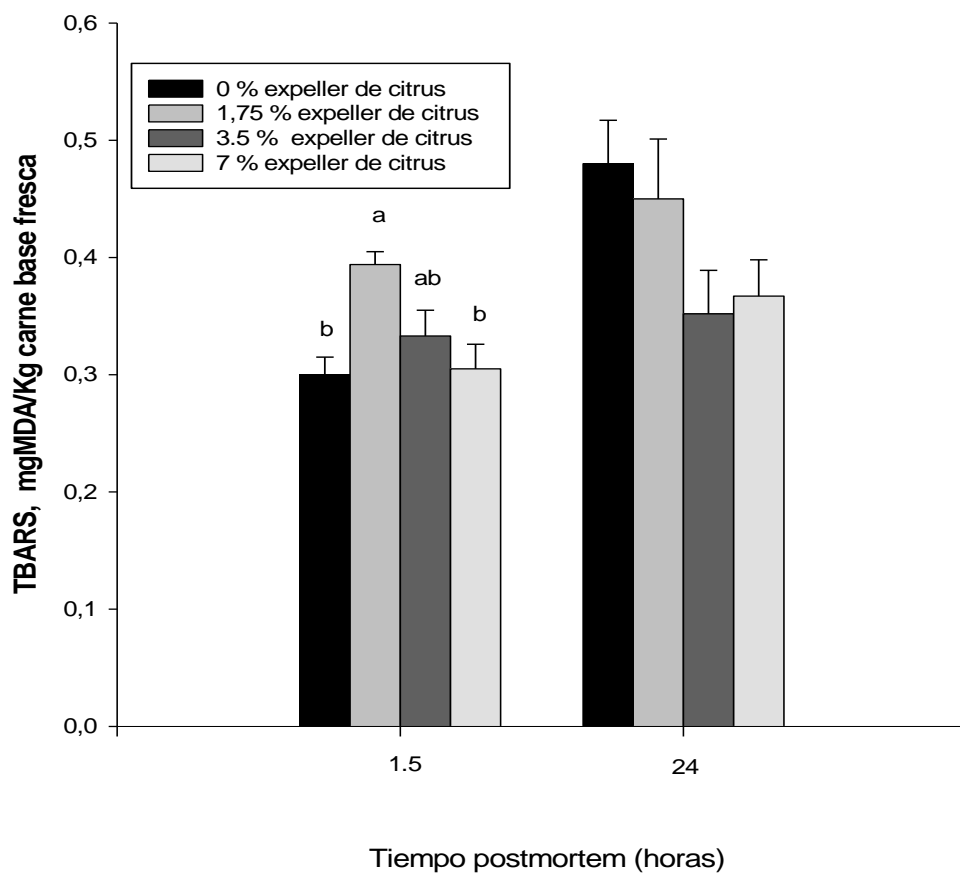
EC (%)	L*		a*		b*	
	15 min	24 h	15 min	24 h	15 min	24 h
0	48,0 ± 1,1 a	45,2 ± 0,7 a	3,4 ± 0,3 a	5,2 ± 0,5 a	23,7 ± 0,4 a	22,3 ± 0,3 a
1,75	49,5 ± 0,4 a	45,3 ± 0,3 a	3,3 ± 0,4 a	4,9 ± 0,3 a	24,8 ± 0,4 a	22,7 ± 0,5 a
3,5	49,1 ± 0,7 a	45,3 ± 0,4 a	4,0 ± 0,3 a	5,7 ± 0,6 a	25,4 ± 0,5 a	23,3 ± 0,3 a
7	49,5 ± 0,7 a	44,9 ± 0,5 a	3,0 ± 0,3 a	4,7 ± 0,5 a	24,8 ± 0,5 a	22,7 ± 0,4 a
p	0,48	0,91	0,19	0,42	0,067	0,32
n	9	9	9	9	9	9

Letras iguales indican ausencia de diferencia estadística en cada columna, test de Tukey-Kramer ($p < 0,05$).

Resumiendo, se apreció un efecto favorable del EC en la calidad de la carne a través de una mejora en la capacidad de retención de agua y pH postmortem. En cuanto a color, no se apreciaron tendencias importantes ni en el color de la piel ni en el color de la carne que indiquen una incidencia de la utilización de EC.

Efecto de la inclusión de EC en la oxidación de lípidos y proteínas y la actividad de las enzimas antioxidantes de la carne de ave

En relación a la oxidación lipídica, al estudiar el comportamiento de las dosis en cada uno de los tiempos (figura 1), se aprecia que la dosis de 1,75% fue la que mostró valores más altos de MDA a la hora y media de faena, por lo que el deterioro oxidativo fue mayor en dicho caso, tal vez debido a que dicha dosis resulte insuficiente para frenar la oxidación. A las 24 horas no se hallaron diferencias. En el estudio de los efectos principales, el tiempo postmortem resultó significativo (TBARS) a las 24 horas dado que fue mayor que a 1,5 horas; $p = 0,0005$), así como la inclusión del EC (sólo la dosis de 1,75% de EC dio TBARS mayores a la de 7% EC, $p < 0,017$). Del estudio para cada uno de los tiempos postmortem surgen diferencias significativa entre las dosis a 1,5 horas postmortem ($p < 0,05$).



Efectos principales:
 -tiempo postmortem: $P < 0.0005$ (24 horas > 1.5 horas)
 -expeller de citrus (EC): $P < 0.017$ (1,75% EC > 7% EC)

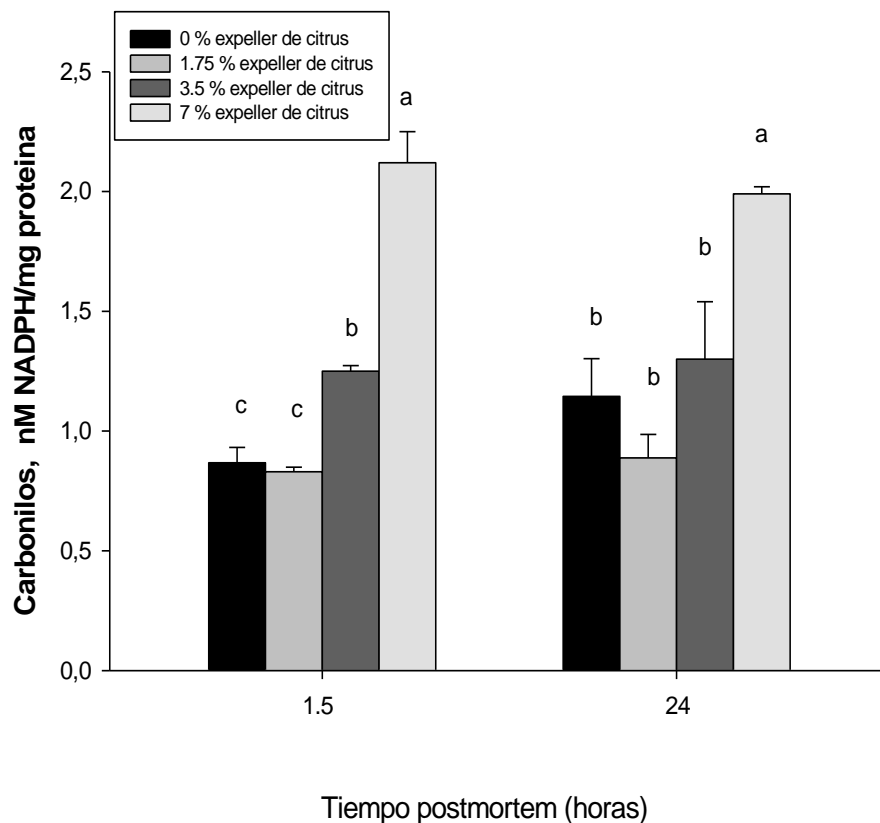
Diferentes letras significan diferencia estadística según test de Tukey- Kramer ($p < 0,05$); se consideraron los efectos de dosis y tiempo.

Figura 1. Efecto de dosis crecientes de EC en la oxidación lipídica (TBARS, expresado como MDA mg / kg carne pechuga fresca) a 1.5 y a 24 horas post mortem. Los datos representan la media \pm SEM de n=9 aves.

Analizando la evolución de los TBARS, la significancia encontrada en el efecto tiempo se condice con el lógico deterioro que la carne experimenta a medida que pasa el tiempo luego del sacrificio, al menos en lo que hace referencia a la oxidación lipídica. La ausencia de significancia estadística entre los valores del testigo y de los tratamientos (pool de dosis), indica que no hay efecto de la inclusión del EC en los dos momentos considerados.

En la oxidación proteica expresada en carbonilos, fue significativo el efecto dosis pero no el efecto tiempo. Hubo efecto significativo de la inclusión del EC ($p=0,000001$). Del estudio para cada uno de los tiempos postmortem surgen diferencias significativas entre las dosis a 1,5 horas postmortem así como entre las dosis a 24 horas postmortem ($p<0,05$). En el estudio de efectos principales el tiempo post mortem no resultó significativo (carbonilos a 24 horas no difirieron de carbonilos a 1,5 horas).

En el análisis global de los carbonilos (pool de dosis), hubo diferencias para efecto EC: los carbonilos se incrementan al utilizarlo, respecto del testigo; asimismo se ve que la dosis de 1,75% disminuye los carbonilos frente a las dos mayores, y que la dosis de 7% incrementa los carbonilos frente a la de 3,5%. Así, no se puede concluir que haya una diferencia en calidad de la carne a la hora y media del sacrificio y a las 24 horas desde el punto de vista de la oxidación proteica, ya que ésta no aumentó con el tiempo transcurrido desde el sacrificio. El uso de EC aumenta los carbonilos en los dos momentos considerados, pero el efecto es mayor a las 24 horas, siendo la dosis de 7% inconveniente desde este punto de vista. Los resultados se muestran en la figura 2.



Efectos principales
 -tiempo: ns
 -expeller de citrus: P<0.0001

Diferentes letras significan diferencia estadística según test de Tukey- Kramer ($p < 0,05$); se consideraron los efectos de dosis y tiempo.

Figura 2. Efecto de dosis crecientes de EC en la oxidación proteica (carbonilos expresados como, nmoles DPNH/mg proteína, pechuga fresca) a 1,5 y a 24 horas post mortem. Los datos representan la media \pm SEM de $n = 9$ aves.

Al estudiar el comportamiento de las dosis en cada uno de los tiempos, en ambos casos se aprecia que la dosis más alta de EC incrementa los carbonilos significativamente, en tanto en las otras dosis se ve un aumento significativo con la dosis de 3,5% respecto del testigo a la hora y media del sacrificio, diferencia que no se manifiesta a las 24 horas. Es posible que esto se deba a que el EC no posee factores que impidan la oxidación proteica; asimismo se ha visto que algunos

antioxidantes pueden según su concentración volverse prooxidantes (Nakagawa *et al.*, 2007). El EC incrementa por tanto el valor de los carbonilos y la oxidación proteica. Del estudio se refleja que las tendencias encontradas para TBARS son diferentes de las encontradas para los carbonilos, deduciéndose que no hay efectos importantes del agregado del EC sobre la oxidación lipídica y sí los hay sobre la oxidación proteica, en donde los mismos se incrementan con el agregado de EC. Hubo efecto significativo de la inclusión de EC ($p=0,000001$) en la actividad de la **GPx**. La enzima **SOD** se vio significativamente aumentada por la inclusión de EC ($p=0,00084$). La actividad de **catalasa** se vio afectada significativamente por la inclusión del EC ($p=0,0003$). Los resultados referentes a enzimas se observan en los cuadros 8, 9 y 10 respectivamente.

Cuadro 8. Efecto de dosis crecientes de EC en la actividad de enzima GPx (μ moles de NADPH oxidados/min/ g carne de pechuga) a 1,5 y a 24 horas post mortem. Los datos representan la media \pm SEM de $n=9$ aves.

EC (%)	Actividad de GPx (μ moles de NADPH oxidados/min/ g carne pechuga fresca)	Actividad de GPx (μ moles de NADPH oxidados/min/ g carne pechuga fresca)
	1h 30 min	24 h
0	6,103 \pm 0,22 a	5,021 \pm 0,15 a
1,75	4,569 \pm 0,20 b	4,465 \pm 0,17 b
3,5	4,698 \pm 0,14 b	2,857 \pm 0,05 c
7	4,276 \pm 0,08 b	2,668 \pm 0,16 c
p Efecto EC	0,000001	
p Efecto tiempo	0,000001	
n	9	

Diferentes letras significan diferencia estadística según test de Tukey-Kramer ($p<0,05$); se consideraron los efectos de dosis y tiempo.

Cuadro 9. Efecto de dosis crecientes de EC en la actividad de enzima SOD (UI, unidades de inhibición SOD totales/g carne de pechuga) a 1,5 y a 24 horas post mortem. Los datos representan la media \pm SEM de n= 9 aves.

EC (%)	Actividad de SOD (UI, unidades de inhibición SOD totales/g carne pechuga fresca)	Actividad de SOD (UI, unidades de inhibición SOD totales/g carne pechuga fresca)
	1 h 30 min	24 h
0	55,09 \pm 2,43 a	66,56 \pm 3,74 a
1,75	70,99 \pm 5,86 ab	54,65 \pm 5,57 ab
3,5	102,43 \pm 18,74 b	74,14 \pm 6,24 ac
7	85,57 \pm 2,24 ab	73,57 \pm 2,25 a c
p Efecto EC	0,000839	
p Efecto tiempo	0,033599	
n	9	

Diferentes letras significan diferencia estadística según test de Tukey-Kramer ($p < 0,05$); se consideraron los efectos de dosis y tiempo.

Cuadro 10. Efecto de dosis crecientes de EC en la actividad de enzima catalasa (μ moles de H₂O₂ consumidos/min/g carne de pechuga) a 1,5 y a 24 horas post mortem. Los datos representan la media \pm SEM de n= 9 aves

EC (%)	Actividad de catalasa (μ moles de H ₂ O ₂ consumidos/min/g carne pechuga fresca)	Actividad de catalasa (μ moles de H ₂ O ₂ consumidos/min/g carne pechuga fresca)
	1 h 15 min	24 h
0	100,08 \pm 2,84 a	78,19 \pm 2,84 ab
1,75	99,63 \pm 2,72 a	76,39 \pm 3,97 ab
3,5	82,22 \pm 7,40 b	84,87 \pm 11,23 a
7	80,28 \pm 3,95 b	58,71 \pm 0,65 b
p Efecto EC	0,000310	
p Efecto tiempo	0,000018	
n	9	

Diferentes letras significan diferencia estadística según test de Tukey-Kramer ($p < 0,05$); se consideraron los efectos de dosis y tiempo.

En dichas enzimas pudo verse efecto significativo del tiempo de sacrificio, ya que en todos los casos fueron más altas a la hora y media de sacrificio. Esto puede deberse a que son inmediatamente consumidas para evitar la oxidación, por lo que su presencia en la carne a las 24 horas es ya menor, considerando que este proceso puede verificarse en cierta medida en carnes que fueron refrigeradas por 24 horas. Analizando la GPx se vio diferencia entre los tiempos de sacrificio, pues los valores de GPx fueron mayores para la hora y media de sacrificio, frente a las 24 horas. La GPx fue menor con el uso del EC (en todos los casos sus valores son menores que el testigo), aunque no hubo diferencia entre las dos dosis mayores. Chow *et al.* (1973) vieron en ratas que al administrarse dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados aumentaba cuatro veces la actividad de GPx por lo que infirieron que esta vía enzimática es utilizada para protegerse del estrés oxidativo. Probablemente esta protección proviniera en el caso de este experimento, de los polifenoles presentes en el EC, y por este motivo no se verificara un aumento en la GPx.

En SOD se vio similar tendencia en relación al tiempo de sacrificio que en GPx pero sus valores aumentaron con la utilización de EC. No hubo diferencia entre las dos dosis mayores. En catalasa también los valores fueron mayores a la hora y media de sacrificio frente a las 24 horas. En relación a la respuesta frente a la utilización de EC, los valores de catalasa obtenidos al utilizarlo fueron menores respecto del testigo a la hora y media de sacrificio. GPx y catalasa muestran tendencias similares en lo referente a la disminución en sus valores con la utilización de EC, lo que no sucede en SOD. Podría pensarse que los polifenoles del EC atemperarían el efecto oxidativo y de esa manera las enzimas no aumentarían su concentración, al no ser necesario por parte de la célula recurrir a ellas. Los altos valores de SOD pudieron relacionarse a la oxidación de carbonilos, observándose diferencias en el color de la pechuga debido a que SOD no pudo frenar la oxidación de radicales, oxidándose las proteínas debido a dichos radicales. De todas formas, Carreras (2004) estudiando los contenidos de enzimas antioxidantes en carne de pollo, concluyó que dichas enzimas no fueron indicadores determinantes de la estabilidad oxidativa de los tejidos en carne de pollo y pavo, no pudiendo establecerse relación clara entre los antioxidantes agregados a la dieta y la actividad de las enzimas de oxidación.

Dado que las tendencias halladas en carbonilos no repercuten en forma importante en el color de la carne, que tampoco las dosis altas de EC afectan negativamente el pH y que el EC resulta favorable desde el punto de vista de la CRA, no puede inferirse que el EC resulte negativo para la calidad de carne dentro de las dosis utilizadas en este experimento.

Realizando un balance, se puede afirmar que es posible utilizar el EC a las dosis estudiadas sin que se observe un deterioro importante en aquellas variables referentes al crecimiento del pollo y a la calidad de carne.

Conclusiones

Los rangos de EC aquí utilizados no muestran mayores efectos sobre la conversión alimenticia. El EC mejoró la CRA y el pH de la carne. No se apreciaron tendencias importantes ni en color de la piel ni en color de carne que indiquen incidencia de la utilización de EC. No se afectó mayormente la oxidación lipídica con el uso del EC, pero sin embargo la oxidación proteica aumentó con las dosis altas. El estudio de las enzimas GPx y catalasa demuestran que el EC ejerció un efecto favorable respecto de la prevención de la oxidación. Se concluye que es posible utilizar el EC disponible, de composición similar al utilizado en este estudio, en la alimentación de pollos tanto en iniciación como en terminación hasta un máximo de 7%, sin que haya efecto negativo en las variables productivas. La modulación que el EC puede ejercer se traduce en una mejor aptitud para conservación y procesamiento de la carne, debido a los antioxidantes que contiene. El EC podría ser una materia prima interesante de utilizar como alimento funcional en pollos.

Agradecimientos

La presente investigación fue desarrollada y financiada en el marco del Proyecto DGSSAA (MGAP)-Facultad de Agronomía. Los autores agradecen a Germán Acosta y Clelia Delgado por la colaboración en los aspectos prácticos del trabajo experimental; a Carina Díaz de la empresa Azucitrus S. A., por su disponibilidad para las gestiones y consultas relativas a la materia prima utilizada en el experimento y a María Laura Alberro y Lilián Perdomo, por su colaboración en distintas etapas del trabajo.

Bibliografía

- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 105, 121-126.
- Campo, M, Nute, G., Huegues, S., Enser, H., Wood, J. and Richardson, R. 2006. Flavor perception of oxidation in beef. *Meat Science* 72(2):303-311.

- Carreras Ferrer, I. 2004. Influencia de la suplementación de antioxidantes y de la administración de enrofloxacin en la calidad y seguridad de la carne de ave. Tesis. Univ. de Girona. España. 316p.
- Chow, C.K., Reddy, K., Tappel, A. A., 1973. Effect of dietary vitamin E on the activities of the glutathione peroxidase system in rat tissues. *Journal of Nutrition* 103, 618-624.
- Depelch, P., Ricard, F. H. 1965. Relation entre les depots adipeux, visceraux et les lipides corporeles chez le poulet. *Annales de Zootechnie* 14.181-189.
- De Vore, V.A., Greene, B. E. 1982. Glutathione peroxidase in post-rigor bovine semitendinosus muscle. *Journal of Food Science* 47-1406-1409.
- Ezcurra, L. 1987. Alimentos no tradicionales para la avicultura en países de América Latina y el Caribe. Instituto de Investigaciones Avícolas de Cuba. Parte 1. *Revista Avicultura* 31(1): 77-96.
- Fletcher, D. L. 1992. Methodology for achieving pigment specifications. *Poultry Science* 71:733-743.
- Gatellier, P., Mercier, Y., Renerre, M. 2004. Effect of diet finishing mode (pasture or mixed diet) on antioxidant status of Charolais bovine meat. *Meat Science* 67: 385-394.
- Günzler, A. , Flohé, L. 1985. Glutathione peroxidase. In: Greenwald, R.A. (ed.) *CRC handbook of methods for oxygen radical research*. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida, USA. Vol.1, 285-290.
- Harborne, J. B., Williams, C.A. 2000. Advances in flavonoid research since 1992, *Phytochemistry* 55:481-504.
- Kwon, J.-H.; Kwon, Y., Nam, K.-G.; Lee, E.; Ahn, D. 2008. Effect of electron-beam irradiation before and after cooking on the chemical properties of beef, pork and chicken. *Meat Science* 80:903-909.
- Linch, S. M., Frei, B. 1993. Mechanism of copper- and iron-dependent oxidative modification of human low-density lipoprotein. *Journal of Lipid Research* 34, 1745-1753.
- López Bote, C. 2004. Bioflavonoids effects reach beyond productivity. *Feed Mix* 12(1):1-4.

- Marklund, S. & Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dimutase. *European Journal of Biochemistry* 47, 469-474.
- Mercier, Y., Gatellier, P., Renner, M. 2004. Lipid and protein oxidation in vitro, and antioxidant potential in meat from Charolais cows finished on pasture or mixed diet. *Meat Science* 66(2):467-473.
- Moreira, J. 2005. Causas da ocorrência de carne PSE em frangos de corte e como controlá-las. IV Seminário Internacional de Aves e Suínos- Avesui 2005. Qualidade da carne de Aves. Enfoque á Industrialização. Brasil. pp71-108.
- Mourão, J. L., Pinheiro, V. M., Prates, J. A. M., Bessa, R. J. B., Ferreira, L. M. A., Fones, C. M. G. A., Ponte, P. I. P. 2008. Effect of dietary dehydrated pasture and citrus pulp on the performance and meat quality of broiler chickens. *Poultry Science* 87(4):733-743.
- Nakagawa, K., Kasu, M., Abukawa, T., Aratani, K., Yamaguchi, M., Uesato, S. 2007. Cooper (II) ions convert catechins from antioxidants to prooxidants in protein carbonyl formation. *Journal Health Science* 53(5):591-595.
- Offer, G., Knight, P. 1988. The structural basis of water-holding in meat.; Part 2: Drip Losses. In: *Developments in Meat Science* 4, ed. R. Lawrie, P.173-241. Elsevier, Oxford.
- Olivo, R. 1999. Carne PSE em frangos. Faculdade de Ciências Farmacêuticas (Tese de Doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo. 97p.
- Oluremi, O., Ojighen, V., Ejembi, E. 2006. The nutritive potentials of sweet orange (*Citrus sinensis*) rind in broiler production. *International Journal of Poultry Science* 5(7):613-617.