

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE CIENCIAS - FACULTAD DE AGRONOMÍA
MAESTRÍA EN CIENCIAS NUTRICIONALES

**SELENIO DIETARIO Y ESTATUS OXIDATIVO, ANTIOXIDANTE Y
MINERAL DE LOS MÚSCULOS *GASTROCNEMIUS* y *PECTORALIS*
AVIARES**

por

Silvia Andrea GIGANTE DE LUCA

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

MONTEVIDEO
URUGUAY
Diciembre 2020

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis aprobada por el tribunal integrado por Dra. Carmen Marino, Dra. María Salhi, Dra. Caterina Rufo, el 23 de diciembre del 2020. Autora: Silvia Gigante. Directora Dra. María Cristina Cabrera, Co-directora Dra. Marta del Puerto.

AGRADECIMIENTOS

En primera instancia deseo agradecer profundamente de corazón a mis orientadoras de este trabajo, Dra. M. Cristina Cabrera y Dra. Marta del Puerto por su confianza, dedicación, constante apoyo y generosidad.

A la Dra. Carmen Marino que me ayudo a elegir esta maestría la cual colmó plenamente mis expectativas.

A los docentes de la Facultad de Agronomía por la calidez y calidad de los cursos dictados en especial al Dr. Alí Saadoun, a la Dra. Alejandra Terevinto y a la Dra. Fernanda Zaccari.

A Carolina Menoni.

A mi familia por su apoyo, paciencia y contención permanente.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
ABREVIATURAS.....	VII
RESUMEN.....	VIII
SUMMARY.....	IX
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1 PROCESOS OXIDATIVOS.....	4
1.1.1 <u>Oxidación lipídica</u>	5
1.1.2 <u>Oxidación proteica</u>	7
1.1.3 <u>Procesos oxidativos en carne</u>	9
1.1.4 <u>Degradación oxidativa del grupo hemo</u>	12
1.1.5 <u>Mecanismos antioxidantes</u>	14
1.2 IMPORTANCIA DEL SELENIO.....	17
1.2.1 <u>Selenio en la nutrición humana</u>	18
1.2.2 <u>Selenio en la alimentación animal</u>	21
1.3 OBJETIVOS.....	24
1.4 HIPÓTESIS.....	25
2. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	26
2.1 ANIMALES, TRATAMIENTOS Y MANEJO DE MUESTRAS.....	26
2.2 DETERMINACIÓN DE LA OXIDACIÓN LIPÍDICA Y PROTEÍCA.....	28
2.2.1 <u>Determinación de la oxidación lipídica por el método de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, TBARS</u>	28
2.2.2 <u>Determinación de la oxidación proteica a través de la cuantificación de sulfhidrilos o tioles libres</u>	28

2.3 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	30
2.3.1 <u>Cuantificación de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa</u> 30	
2.3.2 <u>Cuantificación del glutatión reducido (GSH)</u>	31
2.4 DETERMINACIÓN DE LA FUNCIONALIDAD DE LA PROTEÍNA.....	32
2.4.1 <u>Cuantificación de la solubilidad proteica</u>	32
2.4.2 <u>Determinación de la pérdida por goteo (drip loss)</u>	32
2.5 DETERMINACIÓN DE LAS FORMAS QUÍMICAS DEL HIERRO EN MÚSCULOS CRUDOS Y COCIDOS.....	33
2.5.1 <u>Determinación del contenido de hierro hemínico</u>	33
2.5.2 <u>Determinación del contenido de hierro no hemínico</u>	34
2.5.3 <u>Determinación del contenido de hierro total</u>	34
2.6 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE SELENIO EN LOS MÚSCULOS CRUDOS Y COCIDOS.....	35
2.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	36
3. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	37
3.1 EFECTO DEL SELENIO DIETARIO EN LA OXIDACIÓN DE LÍPIDOS Y PROTEÍNAS	37
3.1.1 <u>Oxidación de lípidos</u>	37
3.1.2 <u>Oxidación proteica</u>	39
3.2 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON Se EN LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	42
3.2.1 <u>Actividad de la enzima glutatión peroxidasa</u>	42
3.2.2 <u>Contenido de glutatión reducido</u>	44
3.3 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE Se EN LA FUNCIONALIDAD PROTEICA	46
3.3.1 <u>Solubilidad proteica</u>	46

3.3.2 <u>Pérdida por goteo (drip loss)</u>	48
3.4 MODIFICACIÓN DE LAS FORMAS QUÍMICAS DEL HIERRO EN LA CARNE DE AVE.....	51
3.4.1 <u>Contenido de hierro total en los músculos crudos y cocidos</u>	51
3.4.2 <u>Contenido de hierro hemínico y no hemínico en los músculos <i>Pectoralis</i> y <i>Gastrocnemius</i> y la modificación provocada por la dieta y la cocción</u>	53
3.5 CONTENIDO DE SELENIO EN LA CARNE SUPLEMENTADA Y PÉRDIDA POR COCCIÓN.....	56
4. <u>CONCLUSIONES</u>	59
5. <u>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	61

ABREVIATURAS

ANOVA – análisis normal de varianza	NCSS - statistical software
ARNm - ácido ribonucleico mensajero	nmoles – nanomoles
EDTA – ácido etilendiaminotetracético	NS – no significativo
EEM – error estándar de la media	OH ^o – radical hidroxilo
EROS – especies reactivas de oxígeno	O ₂ – oxígeno
g – gramo	°C – grados Celsius
GLM – modelo general lineal	RO ^o - radical alcoxilo
GPx – glutatión peroxidasa	ROO ^o - radical peroxilo
GSH – glutatión reducido	ROOH – hidroperóxidos
GSSG – glutatión oxidado	rpm – revoluciones por minuto
HCl – ácido clorhídrico	Se – selenio
H ₂ O ₂ – peróxido de hidrógeno	SeMet – Seleniometionina
IDR – ingesta diaria recomendada	SeNa – Selenito de sodio
kg – kilogramo	TBARS – especies reactivas al ácido Tiobarbitúrico
MDA – malondialdehído	TCA – ácido tricloroacético
mg – miligramos	µg – microgramo
min – minutos	µl – microlitro
ml – mililitros	µmoles – micromoles
mM – milimolar	

RESUMEN

Se estudió el efecto de la incorporación de selenio en la dieta de las aves, sobre los procesos oxidativos de la carne aviar, la capacidad antioxidante, la funcionalidad proteica, las formas químicas del hierro y el contenido de selenio en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius*. Se distribuyeron aleatoriamente 90 pollos Ross en 3 grupos según la dieta de terminación que recibieron: con incorporación de seleniometionina (0,3 ppm); con selenito de sodio (0,3 ppm); control sin adición de selenio. Según los resultados, los grupos suplementados respecto al grupo control no mostraron diferencias en la oxidación lipídica, pero sí se vio un efecto significativo en el contenido de sulfhidrilos proteicos. El selenio orgánico activó la enzima glutatión peroxidasa en el músculo *Gastrocnemius*, en tanto que la fuente inorgánica, fue quien tuvo un efecto en el músculo *Pectoralis*. No se encontró un efecto de la dieta en el contenido de glutatión reducido, siendo en todos los tratamientos, el músculo *Pectoralis* quien posee valores más elevados. No se encontraron diferencias en relación a la solubilidad proteica con la suplementación, pero ambas fuentes, disminuyeron la pérdida por goteo en la carne a las 24 horas *post mortem*, no así en la carne congelada. La suplementación no modificó el contenido de hierro total ni hemínico; inversamente sí hubo un efecto en el no hemínico siendo más bajo el valor en los suplementados. La cocción disminuyó el contenido de hierro hemínico lo que se corresponde con aumentos en la proporción del no hemínico. La forma orgánica favoreció significativamente el depósito de selenio. Se concluye que la suplementación, con ambas fuentes, ofrecería ventajas nutricionales y sensoriales respecto a la no suplementada en relación a mayor actividad de la enzima glutatión peroxidasa y menor pérdida por goteo en la carne fresca. Así mismo permitiría obtener valores más bajos de hierro no hemínico lo cual es muy importante por su papel como factor pro-oxidante de proteínas y lípidos.

Palabras clave: TBARS, sulfhidrilos, GPx, GSH, hierro hemínico

DIETARY SELENIUM AND OXIDATIVE, ANTIOXIDANT AND MINERAL STATUS OF THE AVIAN *GASTROCNEMIUS* AND *PECTORALIS* MUSCLES

SUMMARY

The research studied the effect of the incorporation of selenium in the diet of the birds, on the oxidative processes of the poultry meat, the antioxidant capacity, the protein functionality, the chemical forms of iron, and the content of selenium in the *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles. Ninety Ross chickens were randomly distributed into 3 groups according to the finishing diet they received: with incorporation of selenomethionine (0.3 ppm); with sodium selenite (0.3 ppm); and control without addition of selenium. According to the results, the supplemented groups with respect to the control group did not show differences in lipid oxidation, but a significant effect was seen in the content of protein sulfhydryls. Organic selenium activated the enzyme glutathione peroxidase in *Gastrocnemius* muscle, while the inorganic source in *Pectoralis* muscle. No effect of diet was found on the reduced glutathione content, with the *Pectoralis* muscle having the highest values in all treatments. No differences were found in relation to protein solubility with supplementation, but both sources decreased drip loss in meat at twenty-four hours *post mortem*, not in frozen meat. The supplementation did not modify the content of total or heme iron; conversely, there was an effect in the non-heme, being the value lower in the supplemented ones. Cooking decreased the heme iron content, which corresponds to increases in the non-heme proportion. The organic form significantly favored the deposit of selenium. It is concluded that supplementation, with both sources, would offer nutritional and sensory advantages over non-supplementation in relation to higher activity of the glutathione peroxidase enzyme and less drip loss in fresh meat. Likewise, it would allow obtaining lower values of non-heme iron, which is very important due to its role as a pro-oxidant factor for proteins and lipids.

Keywords: TBARS, sulfhydryls, GPx, GSH, heme iron

1. INTRODUCCIÓN

La carne de ave, fuente de proteína animal, es una de las más consumidas en el mundo por su disponibilidad y menor costo (OCDE/FAO, 2019). Nutricionalmente, es fuente de proteínas de alta calidad, péptidos de acción antioxidante, y nutrientes esenciales como vitaminas y elementos traza (del Puerto *et al.*, 2017). Las proteínas de alto valor biológico, contienen todos los aminoácidos esenciales, tanto para niños como para adultos (FAO, 2013). El aporte de lípidos es variable según se consuma la carne con o sin piel, si se consume sin piel resulta una carne magra, la pechuga sin piel aporta tan solo 2,9 g de lípidos cada 100 g de alimento (USDA, 2019). La composición en ácidos grasos, con un perfil más hacia los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados, contribuye a una dieta más equilibrada (Gómez *et al.*, 2011), siendo posible modificarla aún más hacia un perfil más insaturado a través de la dieta del animal (Cabrera *et al.*, 2006). La carne aviar, al igual que otras carnes aportan vitaminas del complejo B, y son una fuente importante de minerales como el hierro en su forma hemo (Cabrera *et al.*, 2010; Ramos *et al.*, 2012), de interés para la alimentación humana y de niños en particular por su papel en la prevención de anemia por déficit de hierro. Por otra parte el hierro hemínico tiene un rol clave en el metabolismo y en el sistema enzimático antioxidante (Terevinto *et al.*, 2010). La carne de ave proporciona también cantidades significativas de oligoelementos particularmente, selenio, cobre, zinc, magnesio que son claves para las metaloenzimas y su actividad para contrarrestar los radicales libres en el organismo (Cabrera *et al.*, 2014; Wang y Fu, 2012). Se destaca que pueden enriquecerse en selenio los músculos de aves con dietas suplementadas con selenio (del Puerto *et al.*, 2017).

El músculo aviar, que posteriormente se transforma en carne o

proteína animal, sufre importantes cambios metabólicos que promueven los procesos oxidativos y que en función del daño en los lípidos y las proteínas; que componen la bioquímica del músculo; pueden afectarlo negativamente y producir cambios en las características nutricionales y sensoriales, durante el procesamiento y la conservación. Los principales cambios de la carne de aves, comienzan en el período *post mortem* pero lo que sucede antes de dicho período también tiene incidencia, así como la dieta, además del manejo y las características genéticas (del Puerto, *et al.* 2014). Los procesos oxidativos como la peroxidación lipídica y proteica afectan la capacidad de retener agua de la fibra muscular y los atributos nutricionales por pérdida de ácidos grasos, hierro hemínico y formación de compuestos secundarios potencialmente dañinos para la salud (Soyer *et al.*, 2010). La carne de ave es un alimento, que tiene interés nutricional pero también sensorial, por lo cual los cambios que afecten cualquiera de estas propiedades estarán afectando el valor nutricional en su conjunto. Algunos parámetros como la capacidad de retener agua, están considerados entre las características más importantes que influyen en la calidad sensorial de la carne. Se ha demostrado que el selenio dietético tiene un papel clave en el sistema de defensa antioxidante y contribuye a disminuir la pérdida por goteo en carne de ave en el período *post mortem* (del Puerto *et al.*, 2016). La enzima muscular glutatión peroxidasa tiene una alta dependencia de la dieta y su actividad aumenta con el nivel de selenio dietético (Zhang *et al.*, 2010). Por ello, una estrategia para mejorar la estabilidad oxidativa de la carne es la incorporación de selenio en la alimentación de aves antes del sacrificio, buscando un efecto sobre la oxidación de los lípidos y proteínas (Estévez, 2015; Estévez *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2019). En los últimos años se ha visto que la eficiencia del selenio dietético podría variar según si la fuente utilizada es orgánica (selenometionina y selenocisteína), o inorgánica (selenito de sodio) (Surai *et al.*, 2018; Surai y Fisinin, 2014).

Las características nutricionales y sensoriales de la carne de ave

determinan que sea un alimento apropiado en las distintas etapas de la vida y que pueda formar parte de la alimentación de personas que presentan diversas patologías como ser las digestivas entre otras. Es un alimento que trasciende las culturas, y permite alcanzar la seguridad nutricional (Cabrera *et al.*, 2018), por su disponibilidad, costo, atributos funcionales (Grashorn, 2007) y su versatilidad en diferentes preparaciones.

Si bien tradicionalmente la elección de productos cárnicos venía determinada básicamente por aspectos sensoriales, en la actualidad los consumidores tienen en cuenta otros factores como ser las implicancias para la salud, la inocuidad y el valor nutritivo (Cáffaro *et al.*, 2018). La industria de alimentos busca atender estas demandas, en la producción avícola en particular, se puede obtener productos con mejor valor nutricional mediante el mejoramiento de la nutrición animal (dos Reis *et al.*, 2019; Saadoun y Cabrera, 2014).

El sector avícola uruguayo, como productor de proteína animal, tiene por delante importantes desafíos para adaptarse a los estándares de los mercados mundiales y competir a nivel nacional con otras carnes y en este sentido la obtención de productos con mayor valor nutricional y sensorial contribuye a mejorar la competitividad. El aporte de conocimiento que pueda aplicarse a obtener mejores alimentos con impacto en la salud es un objetivo del grupo de investigación donde se desarrolló esta tesis y fundamenta el tema de la presente investigación.

El objetivo principal de este trabajo de tesis fue estudiar el efecto de la incorporación de selenio, orgánico e inorgánico, en la dieta de las aves, sobre los procesos oxidativos de la carne aviar, como la oxidación de lípidos y proteínas, el estatus antioxidante a través de la actividad de la glutatión peroxidasa y el glutatión reducido, la funcionalidad proteica, así como las formas químicas del hierro y el contenido de selenio en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius*. El estudio de las formas químicas del hierro y el

contenido de selenio se realizaron en carne cruda y cocida.

1.1 PROCESOS OXIDATIVOS

El estrés oxidativo se produce cuando existe un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno y la capacidad de un sistema biológico de reparar el daño resultante. Todas las formas de vida mantienen un entorno reductor dentro de sus células, el mismo es preservado por las enzimas que mantienen el estado reducido a través de un constante aporte de energía metabólica. Desbalances en este estado normal redox pueden causar efectos tóxicos a través de la producción de peróxidos y radicales libres que dañan a todos los componentes de la célula, incluyendo las proteínas, los lípidos y los ácidos nucleicos (Cecarini *et al.*, 2007).

En condiciones fisiológicas normales, las células se ven afectadas de forma continua por agentes pro oxidantes que provienen de fuentes tanto externas como internas y que provocan alteraciones en el metabolismo celular (Sies *et al.*, 2017). Los más destacables son las especies reactivas derivadas del oxígeno (EROs), también conocidas como ROS por su sigla en inglés, Reactive Oxygen Species. Las EROs, presentan una reactividad más alta que el oxígeno molecular; las más relevantes en los sistemas biológicos son: el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el radical hidroxilo (HO^{\cdot}), y los radicales formados en la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados, alcoxilo ($alkO^{\cdot}$) y el alquilperoxilo ($alkOO^{\cdot}$). Entre las EROs no radicales se encuentran el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el ácido hipocloroso ($HOCl$) (Terevinto *et al.*, 2019).

Por otra parte, además de las EROs, existen también especies reactivas del nitrógeno (ERN) como el óxido nítrico (NO^{\cdot}) radical del dióxido de nitrógeno (NO_2^{\cdot}), y formas no radicales, como el anión del peroxinitrito ($ONOO^-$), el ácido peroxinitroso ($ONOOH$), los cuales, junto con las EROs se generan continuamente en cantidades pequeñas en procesos celulares normales

como la señalización celular, la neurotransmisión, la relajación del músculo, entre otros (Londoño, 2012).

Los procesos oxidativos mediados por radicales libres, afectan predominantemente a los ácidos grasos insaturados de los lípidos, los grupos hemo de los pigmentos, los aminoácidos de las proteínas y los dobles enlaces conjugados de las vitaminas (Insani *et al.*, 2008).

1.1.1 Oxidación lipídica

La oxidación de los lípidos es un proceso sumamente complejo que implica numerosas reacciones en cadena que se da en tres etapas: iniciación, propagación y terminación, dando lugar a una gran variedad de cambios físicos y químicos. Salvo el comienzo de la reacción, las etapas posteriores se desarrollan simultáneamente.

Fase de iniciación

La absorción de oxígeno por parte de los ácidos grasos insaturados exige la intervención de radicales libres; esto explica que para dar comienzo la oxidación exista un período inicial de inducción en el que se alcanza un determinado nivel en la concentración de radicales libres. Esta primera fase consiste en la sustracción de un átomo de hidrógeno de un carbono metileno de un ácido graso (LH) convirtiéndose en un radical libre (Figura 1).



Figura 1. Iniciación

Esta reacción tiene una elevada energía de activación lo que explica que sea difícil de iniciar de forma espontánea. Para su desarrollo se precisa de temperaturas elevadas y catalizadores: luz, presencia de ciertos metales

(cobre, hierro, níquel, cobalto, y manganeso) o metaloproteínas con un grupo hemo. Esta fase es más sencilla cuanto más elevado es el número de dobles enlaces del ácido graso, por este motivo los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) son más susceptibles a la oxidación (Morrissey *et al.*, 1998).

Fase de propagación

Una vez que se han formado radicales libres, éstos se combinan con el oxígeno dando lugar a más radicales peróxido que pueden sustraer hidrógeno de otra molécula insaturada rindiendo peróxido y un nuevo radical libre; comienza así la fase de propagación. Esta reacción puede tener lugar ciento de veces y tiene la naturaleza de reacción en cadena, la misma procede rápidamente ya que requiere menor energía. Cuando el número de hidroperóxidos es suficientemente elevado estos pueden asociarse (Figura 2).

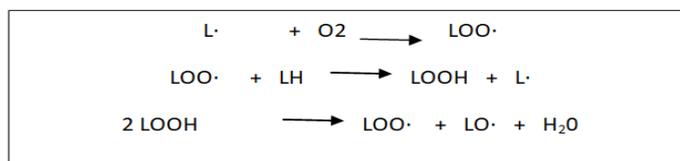


Figura 2. Propagación de la peroxidación lipídica

Los hidroperóxidos generados pueden reaccionar con ión ferroso (Fe^{2+}) o catión cuproso (Cu^+) y formar radicales peroxilo ($\text{LOO}\cdot$) y alcóxido ($\text{LO}\cdot$) que a su vez son capaces de iniciar nuevas reacciones. Por lo tanto, en presencia de estos metales la reacción en cadena no solo se propaga sino que también se amplifica.

Paralelamente, el ión férrico (Fe^{3+}) y el catión cúprico (Cu^{2+}) pueden ser reducidos mediante reacción con el radical anión superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) u otros reductores fuertes, permitiendo un ciclo redox en el que el metal de transición puede ser utilizado varias veces (Morrissey *et al.*, 1998) (Figura 3).

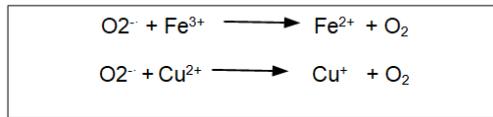


Figura 3. Reciclaje iones metálicos

Es importante tener en cuenta el elevado consumo de oxígeno que tiene lugar durante esta fase, ya que si el aporte de oxígeno no es limitado, se puede llegar a la oxidación de la totalidad de los ácidos grasos insaturados.

Fase de terminación

Los radicales libres procedentes de la descomposición de los peróxidos lipídicos se asocian formando compuestos no radicales de baja masa molecular, aldehídos, cetonas, lactonas, ácidos grasos de cadena corta, hidrocarburos entre otros (Figura 4). Dentro de estos productos secundarios, los aldehídos son compuestos clave, ya que reaccionan fácilmente con proteínas. Todos estos productos tienen algún grado de toxicidad, el malondialdehído en particular, es un iniciador carcinogénico y mutagénico (Cifuni *et al.*, 2004), y pueden llegar a modificar las características organolépticas y propiedades nutricionales de los alimentos.

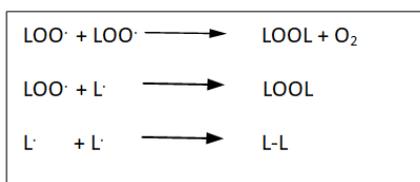


Figura 4. Terminación de la peroxidación lipídica

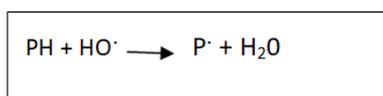
1.1.2 Oxidación proteica

En los alimentos la oxidación lipídica ha sido tradicionalmente más estudiada que la proteica, los primeros informes sobre la ocurrencia de la

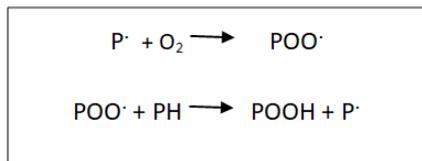
misma en alimentos musculares fueron publicados a principios de la década del noventa y posteriormente revisado por Xiong, (2000). La oxidación de proteínas es responsable de muchas modificaciones biológicas, como la fragmentación o agregación proteica, la disminución de la solubilidad y biodisponibilidad de aminoácidos.

El término oxidación proteica hace referencia a la modificación de una proteína inducida de forma directa por EROs o bien indirectamente mediante reacción con productos secundarios. Los grupos carbonilo deficiente en electrones son altamente reactivos con aminos y resto tiol para producir enlaces cruzados entre polipéptidos o segmentos dentro de la misma molécula de proteína (Estevez, 2011; Dominguez *et al.*, 2020). El radical libre produce una desaminación oxidativa en presencia de un metal de transición que actúa como catalizador lo que provoca la pérdida del grupo amino y la formación de un grupo carbonilo. El proceso de oxidación proteica tiene lugar sobre la proteína íntegra y no hace falta una proteólisis previa. Se desconoce si una proteína parcialmente degradada es más o menos sensible a la acción de los radicales libres (Estévez, 2011).

La oxidación de proteínas se da por medio de mecanismos como la carbonilación, la ruptura de enlaces peptídicos, la nitración y la formación de enlaces proteína-proteína. Los objetivos de las EROs suelen ser el esqueleto peptídico y el grupo funcional. Como consecuencia se extrae un átomo de hidrógeno y se forma un radical proteico en el carbón central (P \cdot), como se indica a continuación:



El radical se convierte en peróxido (POO \cdot) en presencia de oxígeno y capta un hidrógeno de una molécula susceptible para formar un peróxido de alquilo (POOH), como se ve en las siguientes reacciones:



La oxidación proteica implica gran variedad de moléculas susceptibles, mecanismos y productos finales de oxidación. De este modo, cada aminoácido presenta una ruta específica de oxidación y da lugar a productos de oxidación específicos (Estévez, 2011).

Otras reacciones con EROs, como el radical perhidroxil HO_2^{\cdot} o metales de transición como el Fe^{2+} o Cu^+ , pueden formar un radical alcoxi (PO^{\cdot}) y su derivado hidroxilo (POH) (Estévez, 2011). La formación de carbonilos a partir de las cadenas laterales de lisina, treonina, arginina y prolina se suele atribuir a los sistemas de oxidación catalizada por metales. Esta oxidación se produce por reacción H_2O_2 con un metal de transición, óxido ferroso (Fe^{2+}), o férrico (Fe^{3+}), produciendo el radical hidroxilo (HO^{\cdot}) el cual, a su vez, reacciona con las cadenas laterales de los aminoácidos adyacentes al sitio de unión del metal a la proteína. El hierro hemínico induce la carbonilación en proteínas cárnicas (Estévez, 2017). Como consecuencia de la oxidación mediada por metales, a partir de la treonina se forma el ácido alfa-cetobutírico, de la lisina se forma el semialdehído α -aminoadípico (AAS), y de la arginina y la prolina se obtiene el semialdehído γ -glutámico (SGG). El AAS y SGG se consideran los principales carbonilos, debido a la oxidación de proteínas catalizada por metales en la carne y en productos cárnicos (Estévez, 2011).

1.1.3 Procesos oxidativos en carne

La susceptibilidad de la carne a sufrir reacciones oxidativas puede ocurrir por factores endógenos y exógenos. Entre los endógenos se encuentran el contenido de hierro hemo, lípidos insaturados y la presencia o no de enzimas antioxidantes. Con respecto a los exógenos se encuentran

el estrés previo al sacrificio, la maduración *post mortem* (pH, temperatura, acortamiento de la fibra muscular), la transformación (tratamientos culinarios, reducción de tamaño, emulsificación, deshuesado, adición de aditivos) y condiciones de almacenamiento (temperatura, tiempo y disponibilidad de oxígeno).

La selección genética que se ha venido realizando en las aves de alta producción para obtener pechugas más grandes, magras y con tasas de crecimiento más rápido, ha tenido como consecuencia una mayor susceptibilidad al estrés oxidativo (Estévez, 2017). Por otra parte la manipulación de la composición de los ácidos grasos suministrados en la dieta del animal permite reducir el nivel de saturación, aumentar el contenido en ácidos mono y poliinsaturados, pero uno de los principales problemas que aparecen es el incremento de la oxidación lipídica, especialmente durante los procesos de almacenamiento y cocción. La disminución del pH *post mortem* facilita la oxidación de los componentes musculares que puede favorecer la acción pro-oxidante de la mioglobina (Estévez, 2011). Además otros cambios como la alteración de la compartimentación celular y la liberación de hierro catalítico libre y enzimas oxidantes también contribuyen a promover la oxidación. La trituración o el fileteado, aumenta el área de superficie de la proteína y daña la estructura celular y el sistema de defensa antioxidante, esto hace que los diversos pro-oxidantes queden en contacto directo con las proteínas en presencia de oxígeno molecular, convirtiéndolas en más vulnerables al ataque de las EROs (Soyer *et al.*, 2010). Durante la cocción, se desnaturalizan las hemoproteínas que participan en la catálisis de la oxidación y se liberan los ácidos grasos polinsaturados de la membrana, principales sustratos de oxidación (Rhee *et al.*, 1996). La aparición temprana de oxidación proteica y lipídica *post mortem* se ha encontrado durante la maduración, almacenamiento en frío y congelación de pollos (Zhang *et al.*, 2010). Además, la producción de aves de corral en climas cálidos y el suministro de alimentos oxidados empeoran los procesos

oxidativos *in vivo* en los tejidos. El aumento de la oxidación proteica durante el almacenamiento en congelación fue atribuido a la liberación de hierro catalítico por la alteración de las membranas celulares y la posible crioconcentración de solutos pro-oxidante alrededor de las moléculas de proteína en la porción de agua descongelada (Utrera y Estévez, 2013).

La carbonilación puede tener lugar en ausencia de oxidación lipídica, pero en sistemas complejos como la carne, la presencia de lípidos oxidados influye muy probablemente sobre la oxidación proteica aunque los mecanismos y las vías exactas todavía están bajo estudio. Los radicales lipídicos e hidroperóxidos que se forman en la oxidación lipídica pueden iniciar la oxidación de proteínas cercanas y viceversa (Estévez, 2011). Una vez que comienzan las reacciones oxidativas, los cambios medibles indican que la oxidación lipídica avanzaría más rápido que la proteica (Estévez, 2017; Wang *et al.*, 2009). Ambas afectan la calidad de la carne y de los productos avícolas y son una de las principales causas de rechazo del consumidor, pérdidas económicas e implicancias para la salud. La oxidación lipídica provoca la aparición de olores, sabores extraños y alteran el color reduciendo la calidad organoléptica. Las proteínas oxidadas pierden parte de sus propiedades funcionales como la capacidad de retención de agua, que es muy importante en la jugosidad de la carne fresca, además de la pérdida de nutrientes solubles en dicha agua. Por otro lado, se produce una disminución del valor nutritivo de la carne por pérdida de ácidos grasos y de aminoácidos esenciales. Las proteínas oxidadas que pasan sin digerir al intestino grueso se fermentan y producen compuestos potencialmente nocivos para la salud (Bekhit *et al.*, 2013). La medición del contenido de sulfhidrilos y carbonilos es una forma interesante de evaluar el ataque de los radicales libres sobre las proteínas en los músculos (Korzeniowska *et al.*, 2015).

1.1.4 Degradación oxidativa del grupo hemo

El hierro es un metal con funciones de gran importancia debido a que participa en procesos vitales para el ser humano como la respiración celular y diversos sistemas enzimáticos. La deficiencia de hierro, y especialmente la anemia por deficiencia de hierro, constituye la carencia nutricional más frecuente y más grave a nivel mundial y ocurre tanto en países en vías de desarrollo como industrializados (WHO, 2011). Las adolescentes embarazadas y los niños menores de 2 años, son grupos de alto riesgo. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (2011), más de 2 billones de personas tienen deficiencia de hierro, lo que representa casi el 25% de la población mundial. En Uruguay, en el año 2012 el 24,3 % de las adolescentes embarazadas y el 41 % de los niños menores de un año presentó anemia (RUANDI *et al.*, 2011). La deficiencia de hierro afecta el desarrollo cognitivo en niños y en la mujer embarazada se asocia con mayor riesgo de parto prematuro, enfermedades infecciosas y mortalidad materna (Black, 2003; O'Brien *et al.*, 2003).

Los productos cárnicos son la principal fuente de hierro biodisponible. En los alimentos el hierro está presente en dos formas, hierro hemínico y hierro no hemínico. Los vegetales y productos lácteos contienen sólo hierro no hemínico, mientras que las carnes contienen ambos tipos de hierro. El hierro hemínico se encuentra formando parte de la mioglobina, hemoglobina y enzimas mientras que el hierro no hemínico forma parte de enzimas relacionadas con el metabolismo oxidativo. El hierro hemínico tiene un rol clave en el metabolismo y en el sistema enzimático antioxidante (Cabrera *et al.*, 2010).

La absorción de hierro de la dieta ocurre por distintos mecanismos según las diferentes formas del hierro. El hierro hemínico se absorbe como un complejo intacto, luego el hierro se libera dentro de las células de la mucosa intestinal por acción enzimática (West y Oates, 2008). La absorción no es afectada por la composición de la dieta y es altamente disponible. La

biodisponibilidad del hierro no hemínico en cambio, es fuertemente influenciada por una variedad de sustancias que incrementan o inhiben su absorción, siendo su disponibilidad muy baja 1 - 20 %. Uno de los factores potenciadores de la absorción es un componente del tejido muscular identificado como L- α -Glicerofosfocolina denominado 'factor carne' que favorece la absorción de hierro no hemínico (Armah *et al.*, 2008).

El contenido de hierro en las carnes puede variar por distintos factores como ser: la especie animal, el método de cría, el tipo de alimentación, entre otros. Si bien el contenido de hierro en las aves es menor en relación a otras carnes, se ha visto que es posible aumentar el contenido de hierro hemo a través de la inclusión de selenio en la dieta (del Puerto *et al.*, 2016), y con sistemas de cría orgánicos (Castromán *et al.*, 2013). En general el contenido de hierro se informa sobre el total, sin embargo conocer los niveles hierro hemínico permite monitorear su contenido en carnes crudas y estimar el impacto de la cocción. El hierro hemínico en la carne se puede convertir parcialmente en hierro no hemínico por tratamiento térmico o sufrir nitrosilación en el tracto gastrointestinal (de La Pomélie *et al.*, 2019). El tipo de cocción, la temperatura y el tiempo de los métodos de cocción influyen fuertemente en el grado de degradación y nitrosilación del hemo en la carne (de La Pomélie *et al.*, 2019; Purchas *et al.*, 2004; Lombardi-Boccia *et al.*, 2002). La cocción causa la liberación del hierro de las hemoproteínas por desnaturalización de la proteína, afectando la proporción de cada una de las formas. Purchas *et al.* (2004) observaron que el músculo de res contenía 72% de hierro hemo en estado crudo, luego de la cocción en bolsas de plástico en un baño de agua 30 minutos a 60 °C, se redujo a 42%, y a 80 °C se redujo a menos del 5%. El hierro no hemínico es un promotor de la oxidación lipídica. Los radicales libres producidos por oxidación lipídica pueden iniciar las reacciones de oxidación de la oximioglobina a metamioglobina. Los músculos que contienen mayor cantidad del pigmento se oxidarán en mayor medida. En una revisión realizada por Estévez (2011),

sobre oxidación proteica en sistemas cárnicos, se mostraban varios trabajos donde se hallaron correlaciones significativas entre el contenido de hierro no hemo y carbonilos; al parecer el deterioro oxidativo de proteínas, podría promover la degradación del grupo hemo y la subsecuente liberación del hierro.

1.1.5 Mecanismos antioxidantes

En el animal vivo y post mortem existen mecanismos para limitar la exposición a las EROs que incluyen:

a) enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa. Representan la primera y principal línea de defensa contra la oxidación de la carne, previniendo la formación de radicales libres.

b) compuestos con actividad antioxidante provenientes de la dieta como el selenio y el glutatión reducido, de interés en este trabajo, las vitaminas E, C y el β -caroteno, que actúan restringiendo la propagación de la reacción en cadena.

Glutatión Peroxidasa (GPx)

La enzima GPx es una proteína tetramérica con 4 subunidades idénticas cada una con un átomo de selenio unido. Se encuentra en la matriz mitocondrial y en el citosol de las células. La GPx necesita selenio en forma de selenocisteína, en el centro activo. A pesar de que la GPx comparte el sustrato (H_2O_2) con la catalasa, solo ella puede reaccionar efectivamente con los hidroperóxidos lipídicos, siendo la principal vía de protección contra bajos niveles de estrés oxidativo. La GPx cataliza la reacción a través de la cual el glutatión reducido reacciona con peróxidos para transformarlos en agua y alcohol. Durante el proceso el glutatión es oxidado (GSSG) para posteriormente ser regresado a su estado original por la enzima glutatión reductasa, utilizando NADPH como reductor (Rotruck *et al.*, 1973).

La reacción general para las GPx es la siguiente:

GPx



En este esquema ROOH es cualquier hidro o lipo peróxido, GSH es el glutatión reducido, ROH es el peróxido reducido y GSSG el glutatión en su forma oxidada.

La principal forma de la GPx es la dependiente de selenio (selenoproteínas) dado que es la única que puede convertir estos compuestos en productos no reactivos. La actividad de la GPx está muy relacionada con la ingestión dietética de selenio, se ha propuesto que la actividad de esta enzima en sangre podría servir como índice del estatus de selenio del animal (Descalzo y Sancho, 2008). Por lo tanto el aporte nutricional de selenio es un factor importante en la regulación de la actividad de la enzima y la eficiencia del sistema antioxidante (Schrauzer y Surai, 2009), por eso actualmente se lo incorpora en la dieta animal como un método efectivo para incrementar la estabilidad oxidativa del músculo. Así mismo se debe tener en cuenta que el efecto del selenio proveniente de la dieta sobre el estatus antioxidante depende de distintos factores como ser: los nutrientes antioxidantes y pro-oxidantes aportados, los aditivos, la absorción y la biodisponibilidad de todos. La actividad de las enzimas puede diferir entre especies, entre animales de una misma especie y entre los distintos tipos musculares. Los músculos que sufren mayor estrés oxidativo, presentan una mayor actividad de las enzimas antioxidantes. En aves el músculo *Gastrocnemius*, es más oxidativo, presenta fibras de color rojizo con mayor cantidad de mioglobina, permitiendo contracciones rápidas y lentas. El músculo *Pectoralis* en cambio, posee abundantes fibras musculares de aspecto más claro, con menor contenido de mioglobina, su metabolismo es más glucogénico (Lawrie, 1979).

El hecho de suplementar la dieta de animales destinados a la producción cárnica tiene como objetivo garantizar la deposición de suficiente antioxidante en los músculos para una correcta protección frente a la degradación oxidativa. Sin embargo en los últimos años se ha visto que la capacidad de asimilación del selenio dietético puede depender en gran medida de la fuente utilizada, ya sea orgánica como selenometionina o inorgánica como el selenito de sodio (Surai *et al.*, 2018).

Glutati3n reducido (GSH)

El glutati3n reducido es un importante compuesto bioactivo formado por los amino3cidos: ciste3na, glicina y 3cido glut3mico (Mart3nez *et al.*, 2006). Es el principal compuesto de azufre de bajo peso molecular, soluble en agua, que se encuentra com3nmente en todas las c3lulas eucariotas de plantas y animales (Rakowska *et al.*, 2017). Es uno de los antioxidantes m3s importantes, junto con el 3cido asc3rbico, la alb3mina, la ciste3na, los flavonoides, el 3cido f3tico, la melanina, el alfa-tocoferol, el betacaroteno, la bilirrubina y la coenzima Q (Rakowska *et al.*, 2017).

La s3ntesis ocurre en dos etapas y depende de la disponibilidad de sustratos y de mecanismos regulatorios a nivel de la enzima gamma-glutamil cisteinil sintetasa (γ GCS). El GSH est3 sujeto a un constante recambio en el organismo; h3gado, ri3ones, pulmones, coraz3n, intestinos y m3sculos son los principales 3rganos responsables de su homeostasis. La captaci3n de cada 3rgano o tejido depende de la actividad de la enzima gamma glutamil transpeptidasa (γ GT o GGT) localizada en la membrana celular. El nivel de GSH disminuye con la edad como resultado de la disminuci3n de la actividad de la γ GCS (Mart3nez *et al.*, 2006).

La funci3n m3s importante del glutati3n en los organismos vivos es proteger las c3lulas contra el estr3s oxidativo. Este compuesto elimina eficazmente especies reactivas de ox3geno, por ejemplo, radicales hidroxilo, per3xidos de hidr3geno, per3xidos lip3dicos y aniones super3xido. El

glutación también participa en la desintoxicación de productos de oxidación de lípidos, principalmente malondialdehído y 4-hidroxi-2-nonenal (Kulczyński *et al.*, 2019). Se observa un nivel reducido de glutación en el desarrollo de muchas enfermedades, como diabetes, alcoholismo, SIDA y enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer y Parkinson. La suplementación con GSH en personas sanas influyó en el aumento de su concentración en sangre, eritrocitos, plasma, células bucales, estimuló la función inmune del cuerpo, y al mismo tiempo, limitó las reacciones de oxidación (Richie *et al.*, 2015). El efecto significativo de GSH en la salud humana y animal es indiscutible (Estévez *et al.*, 2020).

Aunque el GSH está presente en los alimentos en pequeñas cantidades y es una pequeña fracción de la cantidad total de aminoácidos que contienen azufre, su consumo está asociado, con aumentos de su concentración en diversos tejidos y con la prevención de muchas enfermedades (Minich y Brown, 2019). El efecto de aumentar los niveles de glutación bajo la influencia de la dieta a corto plazo, tiene un papel muy importante en el buen funcionamiento del glutación corporal. Sin embargo, el GSH es un “antioxidante paradójica”, ya que estudios recientes ponen en evidencia que un excesiva ingesta tiene efecto pro oxidante (Minich y Brown, 2019). En algunos casos, es difícil saber el nivel al que un antioxidante se convierte en prooxidante, aún hay mucho que comprender sobre el papel de los niveles de glutación en la salud (Minich y Brown, 2019).

Si bien la información en relación al contenido de GSH en alimentos es escasa se sabe que las carnes son ricas en este compuesto, también algunos productos vegetales como los espárragos, las papas y las naranjas. Así mismo las carnes contienen grandes cantidades de precursores de GSH, especialmente cisteína y metionina (Bukowska, 2004). Otros alimentos como los huevos, aceites, bebidas, productos lácteos y cereales son pobres en ese compuesto (Minich y Brown, 2019; Valencia *et al.*, 2001). El contenido de GSH en la carne está determinado por muchos factores como la raza, las

condiciones ambientales (incluida la alimentación del animal), actividad física, edad del sacrificio, sexo, estado fisiológico, entre otros aún no identificados (Rakowska *et al.*, 2017). Se ha visto que se puede aumentar el contenido de GSH en el músculo esquelético al suplementar la alimentación de los animales con metionina y sus análogos. La metionina es precursor de la cisteína, que es esencial para la síntesis de glutatión y taurina, dos importantes antioxidantes celulares no enzimáticos. El aumento del contenido de GSH se ha documentado en cerdos (Lebret *et al.*, 2018) y pollos de engorde (Németh *et al.*, 2004) y generalmente ocurren junto con una mayor estabilidad oxidativa y beneficios en términos de calidad de la carne.

1.2 IMPORTANCIA DEL SELENIO

1.2.1 Selenio en la nutrición humana

El selenio (Se) es un oligoelemento esencial para el mantenimiento, el crecimiento y la salud de todas las formas de vida conocidas. Puede actuar en reacciones químicas con valencia positiva (+2, +4, +6) o negativa (-2). Esta posición entre metales y no metales permite que las proteínas que contienen selenio puedan actuar como catalizadores efectivos en reacciones redox (Jacob *et al.*, 2003). El selenio está presente en la naturaleza tanto de manera inorgánica como orgánica, encontrándose esta última como parte de la selenometionina y selenocisteína donde sustituye al azufre de la molécula debido a la gran analogía química entre estos dos elementos. El selenio juega un papel relevante y único en un buen número de procesos vitales. Induce la apoptosis, estimula el sistema inmunológico e interviene en el funcionamiento de la glándula tiroides y la actividad cerebral. Desempeña un papel clave en la señalización del estado redox mediante la reducción de los peróxidos lipídicos hidrogenados a través de la participación en el sistema de defensas antioxidantes que comprenden la glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa y catalasa. Las investigaciones realizadas sugieren la

existencia de una correlación entre el consumo de selenio y la prevención de cáncer en humanos (Gromadzińska *et al.*, 2008; Schrauzer y Surai, 2009).

La concentración de selenio en los alimentos presenta fuertes variaciones entre países dadas las diferencias en su concentración en el suelo, que se trasladan posteriormente a toda la cadena alimentaria (Cabrera *et al.*, 2010). Las plantas y levaduras lo absorben del suelo como selenito, selenato o en su forma metálica. Su concentración en las plantas depende de múltiples factores como su contenido en el suelo, pH, nivel de fertilización, composición mineral, precipitaciones, aireación y tipo de planta entre otros factores. En Uruguay, Pittaluga Rossi (2018) informó que los contenidos de selenio de las pasturas naturales fueron distintos entre los ambientes edáficos. Y concluyó que el aporte de selenio para el ganado, obtenido del campo natural, sería insuficiente durante el período de verano-otoño. Los alimentos contienen diversas formas químicas de selenio la principal forma nutricional natural es la selenometionina que representa más del 50 % del total del selenio ingerido en la dieta animal (Zhan *et al.*, 2007).

La ingesta diaria recomendada (IDA) de selenio es de 0,065 mg para hombres y 0,055 mg para mujeres de 19 a 65 años de edad, respectivamente (FAO, 2002). Schrauzer y Surai (2009) sugieren que la IDA actualmente adoptada para el selenio es demasiado baja y proponen su revisión dado que por un lado, según esos autores, son más bajas que el requerimiento fisiológico y por otro, existen selenoenzimas que requieren cantidades de selenio más altas para alcanzar sus máximos de actividad. Por otra parte tampoco tienen en cuenta la alta afinidad del selenio por algunos metales tóxicos como el mercurio, el cadmio y no metales como el arsénico, para los cuales el selenio funciona como un agente desintoxicante. Un factor a tener en cuenta es que las recomendaciones no especifican la forma química de selenio para la suplementación y el mantenimiento de la salud.

La deficiencia de selenio en humanos sigue siendo un problema en muchos países (Zhang *et al.*, 2010) por ello se promueven estrategias como ser: la suplementación vía oral, la mejora del contenido en el suelo y la producción de alimentos ricos en selenio (Surai y Fisinin, 2014). Se han desarrollado modificaciones dietéticas en la alimentación animal para proporcionar carne con mayor cantidad de este mineral (Schrauzer y Surai, 2009; Zhang *et al.*, 2010).

La carne es una fuente importante de selenio (Ramos *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2010), su concentración varía mucho debido a las diferentes prácticas de producción y a la variabilidad en el contenido de selenio tanto de los granos utilizados para la alimentación como en los suelos según la región geográfica de cría. En investigaciones realizadas en nuestro país se han mostrado interesantes contenidos de selenio en el músculo de novillos Hereford, Braford y Aberdeen Angus alimentados a pasturas (Ramos *et al.*, 2013; Cabrera *et al.*, 2010). Por otra parte se han observado diferencias en el contenido de selenio debidas a la alimentación (Latrónico *et al.*, 2013), a la especie (Mernies *et al.*, 2014), al tipo de músculo (Saadoun *et al.*, 2011), al proceso de maduración y de transformación (Ramos *et al.*, 2012; Latrónico *et al.*, 2013).

La selenometionina se absorbe activamente en el tracto gastrointestinal y la mayor parte se transfiere al pool de aminoácidos. A partir de ahí, algunos se incorporan a proteínas corporales, o se degradan enzimáticamente en el hígado a formas bioactivas. La incorporación de selenometionina en proteínas proporciona un medio para acumular reservas de selenio reutilizables en el cuerpo. La selenometionina juega un papel importante en el mantenimiento del selenio en el organismo al ser el único compuesto que se incorpora significativamente a las proteínas corporales. La eliminación del selenio orgánico se produce principalmente por vía fecal. El selenito se incorpora a los eritrocitos, donde se reduce a ión selenio por el glutatión, para ser posteriormente trasladado por el plasma de manera

selectiva conjugado con la albúmina y siendo finalmente transferido al hígado. El selenato se transporta directamente al hígado, pudiendo ser a posteriori eliminado con la orina (Daniels, 1996).

1.2.2 Selenio en la alimentación animal

El selenio se ha convertido en un nutriente interesante en la producción animal porque mejora el valor nutricional y las características de calidad de los productos cárnicos (Schrauzer y Surai, 2009). La deficiencia severa de selenio en aves, está asociada con el desarrollo de varios trastornos como ser la degeneración muscular, diátesis exudativa, hemorragia muscular, atrofia del páncreas, lesión hepática, entre otras. Si bien estas patologías actualmente son poco frecuentes en la industria avícola, la disminución del rendimiento debido a niveles sub óptimos de selenio y defensas antioxidantes inadecuadas en condiciones de estrés aún se pueden observar (Surai *et al.*, 2018). Como se explicó anteriormente la enzima muscular glutatión peroxidasa tiene una alta dependencia del selenio y su actividad aumenta con la concentración del mismo en la dieta (Li *et al.*, 2011). Se ha demostrado que las propiedades antioxidantes del selenio continúan en el tejido muscular *post mortem* y previenen la oxidación de los lípidos (Chen *et al.*, 2013).

Los requerimientos de selenio para pollos de engorde son de 0,15 mg/kg (Council, 1994), sin embargo esta cantidad no es adecuada para evitar pérdidas de producción como resultado de trastornos por deficiencia de selenio (Surai y Fisinin, 2014). Además debido a la enorme variabilidad de este elemento en los alimentos y las condiciones tendientes a la oxidación de lípidos es que se promueve la suplementación en las raciones para aves. El nivel recomendado para la suplementación de pollos de engorde es 0,2 a 0,3 mg/kg de selenio (Surai y Fisinin, 2014). Ahora bien en esta recomendación no se especifica la forma química del elemento que se va a agregar (Schrauzer y Surai, 2009).

Diferencias entre el selenio orgánico e inorgánico.

Desde el momento en que el selenio es ingerido por el animal, la distribución, absorción y excreción dependen de varios factores como ser: la forma química, la cantidad total en la dieta y la presencia de otros componentes del alimento, como el azufre, metales pesados y vitaminas. Otros factores propios del animal como ser el sexo, las condiciones de salud y el status nutricional también pueden afectar la absorción y la distribución del mismo en el organismo.

En los últimos años se ha sugerido que la forma dietética de selenio suplementado es un determinante importante de su eficiencia, y que tanto el selenio orgánico como el inorgánico, tendrían un efecto diferente en relación a ciertos parámetros de calidad de las carnes de aves. Existe cierta variabilidad en los datos informados por diferentes investigadores en relación a este tema. Algunos autores explican las principales diferencias en la asimilación y el metabolismo entre las formas orgánicas e inorgánicas por el hecho de que el sistema digestivo de los animales, incluyendo el de las aves, se adaptó durante su evolución a la metabolización del selenio orgánico proveniente de las plantas, y que por lo tanto, la inclusión de selenito o de selenato en la dieta no es una situación natural (Surai *et al.*, 2018). Por otra parte al parecer el selenito de sodio es pro-oxidante y en combinación con hierro o zinc podría estimular la oxidación lipídica y causar daños al enterocito con disminución de la absorción de diferentes nutrientes, incluyendo antioxidantes (Calvo *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2011).

En los principales ingredientes de las raciones, granos, soja y semillas oleaginosas, el selenio se encuentra principalmente en forma orgánica (más del 50% del total), mientras que tradicionalmente las fuentes de selenio más usadas en la suplementación de raciones son las fuentes inorgánicas, como los selenatos y selenitos de sodio (Surai *et al.*, 2018). Un factor a tener en cuenta es que los nutrientes en la ración pueden interactuar entre sí, tal es el

caso del selenito de sodio que puede reducirse a la forma no disponible (selenio elemental) por varios nutrientes que poseen actividad reductora. Por ejemplo, la reacción química entre el selenito de sodio y el ácido ascórbico en la premezcla, la alimentación o el intestino puede conducir a la reducción de selenito a selenio elemental, que no puede ser absorbido en el tracto digestivo de los pollos (Surai *et al.*, 2018). De hecho, las partículas rosadas en la premezcla después de un almacenamiento prolongado muy a menudo representan selenio elemental producido como resultado de la reacción mencionada anteriormente.

Proporcionar carne enriquecida con selenio para el consumo humano mediante la manipulación de alimentos para animales no solo es beneficioso para la salud humana sino que además aumenta la estabilidad de la misma contra diversas condiciones de almacenamiento evitando la reducción del valor nutricional y sensorial de la carne. En esta tesis nos propusimos suplementar la alimentación de las aves con selenio, a efectos de mejorar los atributos antioxidantes de la carne de ave, propender a la conservación del hierro; un nutriente esencial para niños y mujeres embarazadas; así como a aumentar el contenido de selenio en la carne. Para ello nos planteamos los objetivos que se describen a continuación.

1.3 OBJETIVOS

Objetivo general

Estudiar el efecto de la incorporación de selenio, orgánico e inorgánico, en la dieta de las aves, sobre la capacidad antioxidante, la funcionalidad proteica, las formas químicas del hierro y el contenido de selenio en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius*.

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto del selenio dietario en el estatus oxidativo de los lípidos y las proteínas en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos a través de la determinación de TBARS y sulfhidrilos.
- Evaluar el efecto del selenio dietario en el estatus antioxidante de los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos, expresada a través de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa (GPx) y del glutatión reducido (GSH).
- Evaluar el efecto del selenio dietario en la funcionalidad de la proteína de los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos a través de la solubilidad proteica y la pérdida de agua.
- Evaluar el efecto del selenio dietario en las formas químicas del hierro a través del contenido de hierro total, hemínico y no hemínico en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos y cocidos.
- Evaluar el efecto del selenio dietario en el contenido de selenio en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos y luego de la cocción.

1.4 HIPÓTESIS

- El selenio suplementado reduciría la oxidación de lípidos y proteínas de la carne de aves.
- El selenio suplementado mejoraría la actividad antioxidante (GPx y GSH).
- El selenio suplementado mejoraría la funcionalidad de la proteína en el músculo (mayor solubilidad y menor pérdida de agua).
- El selenio suplementado contribuiría a mantener los niveles de hierro hemínico y hierro total luego de la cocción.
- La suplementación con selenio aumentaría el contenido del mismo en los músculos estudiados y podría influir en la pérdida de selenio por cocción.
- La forma de selenio suplementada y el tipo de músculo aviar podrían determinar diferentes resultados en los parámetros estudiados.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 ANIMALES, TRATAMIENTOS Y MANEJO DE MUESTRAS

Se utilizaron 200 pollos machos de la línea Ross de 1 día de edad, provenientes de planta incubadora comercial. Se criaron en la Unidad Avícola Experimental de la Facultad de Agronomía sobre piso con cama de cáscara de arroz, en sala con ambiente controlado de acuerdo a los requerimientos del animal, con fotoperiodo de 23 horas de luz. Durante este periodo se les ofreció ración de iniciación a base de maíz - soja (proteína cruda 21.9 %; energía metabolizable 2931 kcal/kg) y agua *ad libitum*. A los 35 días de edad, se seleccionaron 90 aves por homogeneidad de peso y sanidad y se distribuyeron aleatoriamente en alojamientos de madera (1 m x 1 m), sobre piso de cáscara de arroz, en grupos de 3 aves en cada una, con 10 jaulas por tratamiento. Se mantuvo la temperatura controlada y el fotoperiodo de luz de 23 horas hasta la faena. Los animales se repartieron en 3 tratamientos (10 jaulas por tratamiento, 3 aves por jaula, 30 aves en cada uno) de acuerdo a las dietas que recibieron hasta el sacrificio. La formulación de las dietas fueron las siguientes: 1) dieta base, considerada control, con harina de soja y maíz molido sin agregado de selenio, (selenio base, 0,016 ppm) cuya formulación se muestra en el Cuadro 1; 2) dieta base más suplementación con selenio inorgánico, selenito de sodio (SeNa; selenio 0,3 ppm); 3) dieta base más suplementación con selenio orgánico, selenio metionina (SeMet; selenio 0,3 ppm). Las tres raciones fueron isoproteicas (20% proteína cruda), isoenergéticas (energía metabolizable, 2931 Kcal/kg), con iguales contenidos de fibra cruda (3,7 %), calcio (1,2 %) y fósforo (0,42 %), la única diferencia fue el contenido y la forma química del selenio suplementado en los tratamientos 2 y 3.

Cuadro 1. Composición porcentual de la dieta base

Ingredientes	Porcentaje
Maíz molido	60
Harina de soja	32,5
Harina de carne y hueso	4,2
Carbonato de calcio	1,00
Fosfato bicálcico	0,8
Aceite de girasol	0,5
Cloruro de sodio	0,3
Lisina	0,25
DL-Metionina	0,1
Premix (*)	0,25

(*) Premezcla vitamínico-mineral para pollos de engorde. Aporte cada 1,5 kilogramos: 12.000.000 IU de vitamina A, 2.000.000 IU de vitamina D3, 25.000 IU de vitamina E, 7.6 g de vitamina K, 5 g de vitamina B2, 10 g de calcio D-pantotenato, 30 g de niacina, 0,5 g de ácido fólico, 13 mg de vitamina B12, 500 g de cloruro de colina, 0,5 g de vitamina B1, 1 g de vitamina B6, 90 g de Mn, 35 g de Zn, 25 g de Fe, 2 g de Cu, 2 g de I, 0,1 g de Co y 0,1 g de Se.

A los 52 días las aves se sacrificaron previo ayuno de 7 horas según las normas establecidas por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal, en planta de faena comercial (10 minutos de transporte). A las 24 horas *post mortem* a temperatura de chilling, 1-2 °C, se extrajeron los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius*, se colocaron en bolsas al vacío, utilizando equipo de vacío doméstico y se congelaron rápidamente a - 30°C hasta su análisis (excepto para la determinación de la pérdida por goteo que se realizaron a las 24 horas *post mortem*).

Las determinaciones se realizaron en el laboratorio de Calidad de Alimentos y Calidad de Productos de la Facultad de Agronomía. Para las distintas variables se realizaron 8 a 10 réplicas biológicas, excepto para: pérdida por goteo de carne congelada y GSH que se realizaron 3 réplicas biológicas.

2.2 DETERMINACIÓN DE LA OXIDACIÓN LIPÍDICA Y PROTEÍCA

2.2.1 Determinación de la oxidación lipídica por el método de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, TBARS

Se siguió el método de Lynch y Frei (1993) con modificaciones Terevinto *et al.*, (2010). Se descongelaron y homogeneizaron 5 g aproximadamente de cada muestra de músculo con 100 ml de un buffer de extracción (KCl 0.15 M, EDTA 0.02 M, BHT 0.30 M) durante 1 min a 12.000 rpm. Se extrajeron 5 ml de cada homogeneizado y se centrifugaron a 2000 g durante 10 min, se extrajo 1 ml del sobrenadante al cual se le agregó 1 ml de la mezcla TBA-TCA (TBA 35 mM, TCA 10 % en HCl 125 mM). Se preparó un blanco con el buffer de extracción y se sometió al mismo procedimiento que las muestras. Las muestras y el blanco se colocaron en ebullición durante 30 min, luego en hielo durante 5 min para frenar la reacción y a temperatura ambiente durante 45 min. Se agregaron 2 ml de n-butanol, se centrifugaron a 3000 g durante 10 min y se midió la absorbancia del sobrenadante en un espectrofotómetro (Genesys, USA) a 535 nm de longitud de onda. La concentración del MDA de las muestras se calculó utilizando su coeficiente de extinción molar ($156.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y los resultados se expresaron en mg de MDA/ kg músculo.

2.2.2 Determinación de la oxidación proteica a través de la cuantificación de sulfhidrilos o tioles totales

Se determinó por espectrofotometría, basada en la reacción de Ellman (1959) modificada por Jongberg *et al.* (2013). Se pesó un gramo de carne previamente descongelada y homogenizada con 20 mL de solución

Urea 8 M, dodecil sulfato de sodio (SDS) 3%, Solución Buffer de Fosfato (PBS) 0.1 M, a pH7.4, empleando ultra turrax (IKA T18 Basic) a velocidad 2 (8000 rpm). Se vortexó por un minuto a velocidad 10 (Vortex Genie, Model K550-GE, Scientific Industries). Se incubó en agitación durante 1 hora (Roto Mix, Thermolyne) a velocidad 5 (140 rpm). Se filtró la muestra por gravedad y/o vacío (Papel filtro: Whatman No. 1) hasta obtener 5 mL; se tomó una alícuota de 1,5 mL y se guardó en un eppendorf a - 20 °C, que luego se utilizará para la determinación proteica. Se tomaron 40µL del filtrado y se le adicionaron 1960 µL de la solución Urea-SDS-PBS y 600 µL de reactivo DTNB (10 mM en PBS 0.1 M) se incubó en oscuridad por 15 minutos a temperatura ambiente. Se midió absorbancia a 412 nm (T70 UV/Vis espectrómetro, PG Instruments Ltd). La absorbancia a 412 nm se midió antes de la adición de DTNB y después de la reacción con DTNB. Como blanco se utilizó 2 mL de solución Urea-SDS-PBS + 600 µL de DTNB, incubada 15 minutos, se leyó absorbancia a 412 nm. La absorbancia correspondiente a la concentración de tiol de la muestra se calculó de la siguiente manera:

Absorbancia corregida de la muestra = Absorbancia muestra + DTNB - Absorbancia blanco reactivo

Los contenidos de sulfhidrilo se calcularon utilizando el coeficiente de extinción molar del DTNB: $13600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Los resultados se expresaron como nmoles tioles / mg proteína.

Para la cuantificación proteica se realizó el ensayo de absorción UV según el método de Stoscheck (1990). Se tomaron 40µL de la alícuota separada anteriormente y se adicionaron 1960 µL de solución Urea-SDS-PBS (Factor de dilución: 50). Como estándar para la curva se empleó albúmina de suero bovino (BSA) a concentración final 0,5, 1,0 y 1,5 mg / mL, volumen final 2 mL. Se leyó absorbancia a 280 nm en espectrofotómetro (Genesys 6, UV-Vis). Cada punto de la curva se midió por triplicado, las medidas de absorbancia de las muestras se realizaron por duplicado y se extrapolaron sus concentraciones en base a la curva estándar. Los

resultados se expresaron en mg de proteína.

2.3 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

2.3.1 Cuantificación de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa

La actividad de la Gpx se midió siguiendo el método descrito por De Vore y Greene (1982); Günzler y Flohé (1985) con modificaciones (del Puerto *et al.*, 2014). Se pesaron 5g de muestra previamente descongelada y se homogeneizaron en Ultra Turrax (IKA T18 basic) a 18.000 rpm durante 1 minuto con solución buffer de extracción (K_2HPO_4 50 mM, EDTA 0,5 mM, pH 7). Se centrifugaron a 2000 g durante 2 minutos a 4°C y se filtraron con vacío y papel de filtro tipo Whatman N°1 a un kitasato. Se recogió el filtrado en un tubo y se colocaron en hielo hasta medir la actividad de la GPx. Se guardó una alícuota de 4ml del filtrado en freezer a – 20 °C para determinar la concentración de proteínas por el método de Stoscheck (1990) descrito anteriormente. Inmediatamente antes de medir la actividad de la GPx se preparó el medio de la reacción: KH_2PO_4 50 mM, EDTA 0,5 mM, glutatión reducido 1mM (Sigma Aldrich G4251, NADPH 0,15 mM (Sigma N1630 o Fluka 93220), H_2O_2 0,15 mM, NaN_3 1mM (Sigma S-2002) y Glutation reductasa 1.5U (Sigma G3664). Para medir el blanco se colocaron 1980 μ l de este medio a 22°C junto con 20 μ l del buffer de extracción en una cubeta de cuarzo de 3 ml y se midió la absorbancia a 340 nm de longitud de onda. Para medir la actividad de las muestras se colocaron 1890 μ l del medio de reacción a 22°C y 20 μ l de filtrado y se determinó la oxidación del NADPH midiendo el descenso de la absorbancia a 340 nm durante 3 minutos a intervalos de 30 segundos. Sabiendo que la unidad de GPx se define como la cantidad de extracto requerido para oxidar 1 mol de NADPH/minuto, se calculó la concentración de NADPH utilizando su coeficiente de extinción molar a 22 °C ($6300\text{ m}^{-1}\text{ cm}^{-1}$). Se expresó el resultado en micromoles de NADPH/minuto/mg proteína.

Para la cuantificación proteica se realizó el ensayo de absorción UV según

el método de Stoscheck (1990) descrito anteriormente.

2.3.2 Cuantificación del glutatión reducido (GSH)

Se siguió el método descrito por Rahman *et al.* (2007) adaptado por Marquez *et al.* (2018) en el laboratorio. Se procedió a liofilizar las muestras. Se homogeneizaron 300 mg de carne liofilizada y se añadieron 3 ml de solución de ácido tricloroacético (TCA) al 2,5%. Se centrifugaron a 8000 rpm durante 10 min a temperatura 4 °C. Se colectó el sobrenadante y se mantuvo en frío hasta la cuantificación de GSH. Se filtró sobrenadante y se recogieron 20 ml del filtrado en una cubeta de vidrio, se añadió a 300 ml de la mezcla de reacción. La muestra preparada se incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente y luego se midió la absorbancia a una longitud de onda de 412 nm. La lectura se realizó inmediatamente a cero, uno y dos minutos. Se realizó una curva de calibración de seis puntos para los estándares de GSH. El eje Y de la curva fué $\Delta\text{Abs}/\Delta\text{tiempo}$, es decir Abs final menos la inicial, sobre tiempo final menos inicial. La concentración de GSH total se expresó en μM /g de proteína.

2.4 DETERMINACIÓN DE LA FUNCIONALIDAD DE LA PROTEÍNA

2.4.1 Cuantificación de la solubilidad proteica

Se utilizó el método de Farouk y Swan (1998) descrito por Turgut *et al.* (2017). Se homogeneizó 2 g de muestra, previamente descongelada, a 12000 g durante 1 minuto con 20 mL de yoduro de potasio 1,1 M disuelto en Buffer fosfato salino 0,1 M (PBS, pH 7,4). Se centrifugó a 6000 × g durante 15 minutos a 4 °C (se mantuvo en frío para evitar la acción de las proteasas). Se colectó el sobrenadante y se cuantificó el contenido proteico. Para dicha cuantificación se colectaron 40µL del sobrenadante y se adicionaron 1960 µL de la solución Yoduro de potasio-PBS. Factor de dilución 50. Se midió absorbancia a 280 nm. Cada muestra se analizó por duplicado. Como estándar para la curva se empleó Albúmina de Suero Bovino (BSA) a concentración final: 0,5, 0,75, 1,0 y 1,5 mg/mL, volumen final 2 mL. Se leyó absorbancia a 280 nm. La solubilidad se calculó de la siguiente forma:

$$\text{Solubilidad proteica total (\%)} = [P_s / P_T] \times 100$$

donde; P_s (mg/ml) es la concentración proteica del sobrenadante, P_T es la concentración de proteína total de la muestra

2.4.2 Determinación de la pérdida por goteo (drip loss)

La pérdida por goteo se determinó mediante el método de suspensión Penny (1967), adaptado por del Puerto *et al.* (2016). Las determinaciones se realizaron en dos tiempos diferentes: uno a las 24 horas *post mortem*, y el otro en carne conservada en congelación durante 3 meses y posteriormente descongelada. Se cortaron cubos de aproximadamente 2cm de lado de cada uno de los músculos estudiados, procurando tomarlos del mismo sitio en todas las muestras. Se pesaron, se introdujeron en bolsas de polietileno cerradas y rotuladas y se suspendieron en una gradilla para tubos de

ensayo. Se colocaron en ambiente refrigerado a 4°C. A las 24 horas se extrajeron las muestras de carne de las bolsas y se pesaron nuevamente. La diferencia entre los pesos finales e iniciales se usó para calcular la pérdida por goteo que se expresó como un porcentaje del peso inicial.

2.5 DETERMINACIÓN DE LAS FORMAS QUÍMICAS DE HIERRO EN MÚSCULOS CRUDOS Y COCIDOS

Muestras crudas: se pesaron aproximadamente 2 g de carne previamente descongeladas, despojadas de tejido adiposo visible, y se colocaron en tubos de ensayo.

Muestras cocidas: se pesaron aproximadamente 5 g de carne previamente descongeladas y despojadas de tejido adiposo visible. Se colocaron en tubos de ensayo y posteriormente se ubicaron en un vaso de bohemia con agua. Se cocinaron en placa calefactora digital (Thermiounne Cimarec 3) durante 30 minutos a temperatura controlada a 70 °C (termómetro digital LACOR).

2.5.1 Determinación del contenido de hierro hemínico

El hierro hemínico se determinó como hemina después de la extracción con solución de acetona acidificada método Hornsey (1956), Lombardi-Boccia *et al.* (2002), adaptado y descrito por Ramos *et al.* (2009). Se preparó una solución madre 16 ml de agua destilada + 4 ml de HCl + 180 ml acetona. Luego a cada muestra (1 g) se le agregaron 9 ml de solución madre y se maceraron con varilla de vidrio hasta extraer todo el pigmento de la carne. Esto se realizó en un ambiente con poca incidencia de luz directa para minimizar la pérdida de pigmento. Se vortexó cada muestra durante 1 minuto en un Vortex GENIE MODELO K 550- GE (Scientific Industries, Inc. Shemia U.S.A). Los tubos se sellaron para evitar evaporación y se incubaron por una hora a temperatura ambiente a la oscuridad. Luego se filtró (papel de filtro MN 640 d de 90 mm de diámetro). La hemina se cuantificó en un espectrofotómetro GENESYS 10 vis (Thermo Electron Corporation) a 640

nm. El contenido de hierro hemínico se calculó usando el factor 0,0882 mg hierro/ mg hematina. El resultado se expresó en mg/ Kg de tejido húmedo tanto para carne cruda como cocida (teniendo en cuenta la pérdida de agua).

2.5.2 Determinación del contenido de hierro no hemínico

La determinación de hierro no hemínico se realizó por el método de Ferrozina, según protocolo de Ahn *et al.* (1993) descrito por Purchas *et al.* (2004). Previo a la determinación las muestras frescas y cocidas fueron liofilizadas. Se molieron en mortero aproximadamente 2 gramos de muestra y se disolvieron 0,5 gramos en 3 ml de buffer citrato-fosfato 0,1 M (pH 5,5). A esta disolución se le agregó 1 ml de ácido ascórbico 2% en 0,2 M de HCl. Se dejó reposar por 15 minutos a temperatura ambiente y a continuación se agregó 2 ml de ácido tricloroacético (TCA) 11,3 %. Luego se centrifugó a 3000 g por 10 min (5000 rpm). Se recogió 2 ml de sobrenadante y a este se le agregó 0,8 ml de acetato de amonio al 10% y 0,2 ml de reactivo de ferrozina. Para la determinación se midió la absorbancia en un espectrofotómetro GENESYS 6-UV-VIS (Thermo Corporation, USA) a una longitud de onda de 562 nm. Para la cuantificación se interpoló en curva estándar de sal de Mohr. El resultado se expresó en mg/ Kg de tejido húmedo tanto para carne cruda como cocida (teniendo en cuenta la pérdida de agua).

2.5.3 Determinación del contenido de hierro total

La determinación de hierro total se realizó mediante digestión por vía húmeda seguido por la cuantificación por espectrofotometría de absorción atómica de llama (Analyst 300, Perkin Elmer, EE. UU.) según los métodos analíticos descritos por AOAC (1990), Jorhem *et al.* (2000), modificado por Cabrera *et al.* (2010). Se pesó aproximadamente 15 gramos de carne, y se secó en estufa a 105 °C hasta pesada constante para obtener el peso seco. Luego se incineraron en mufla a 580 °C por 16 horas hasta obtener cenizas blancas. Se dejaron en desecador hasta llegar a temperatura constante y se

registró el peso. Las cenizas se solubilizaron con 5 ml de HCL 6N (Merck, Argentina) en un Erlenmeyer de 25 ml con tapa de vidrio. Se llevó a ebullición en plancha calefactora hasta reducir la solución al medio y se agregó 2 ml de HNO₃. Se continuó con la ebullición hasta reducir la solución a 2 ml. Luego la solución se filtró a través de un papel de filtro Whatman 40 sin ceniza hacia un matraz aforado de 25 ml y se llevó a volumen con agua desionizada 18,2 megaohmios. Las soluciones estándar de hierro (Perkin-Elmer, USA) fueron preparadas con agua desionizada inmediatamente antes de su uso. El material utilizado en la determinación fue previamente desmineralizado en solución HNO₃ 1% por 48 horas y luego se enjuagó en agua desionizada. Los resultados se expresaron en mg/kg de tejido húmedo, tanto para la carne cruda como para la carne cocida (teniendo en cuenta la pérdida de agua).

2.6 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE SELENIO EN LOS MÚSCULOS CRUDOS Y COCIDOS

El contenido de selenio se determinó por espectrofotometría de absorción atómica, con HG (Analyst 300, Perkin Elmer, EE.UU.), utilizando modificadores de matriz en base a paladio (Cabrera *et al.*, 2010). Muestras de carne cruda, 10 g de cada músculo, previamente descongelada, se secaron a 105 °C, luego se incineraron a 580 °C durante 48 horas, hasta obtener ceniza blanca. Una vez obtenidas y pesadas las cenizas, se disuelven en un matraz Erlenmeyer con dispositivo para evitar pérdida por vapor, sobre plancha térmica a temperatura de sub ebullición, en una solución de ácido clorhídrico 6N y posteriormente en ácido nítrico destilado 1N. El residuo se filtra y se lleva a matraz de 25 ml y se enrasa con agua desionizada (18 Ohms). El resultado se expresa tanto para la carne cruda como cocida en mg Se/kg de tejido húmedo.

2.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se expresaron como la media \pm error estándar de la media (EEM). Cada variable se analizó por ANOVA por el procedimiento GLM, considerando como efectos principales, la dieta (suplementación de selenio), el tipo de músculo y las interacciones posibles. Las medias se compararon post hoc con el Test de Tukey-Kramer, considerando $p < 0,05$. Los datos de contenido de hierro total, hierro hemínico y hierro no hemínico, así como contenido de selenio, se realizó un ANOVA con el procedimiento GLM, considerando los efectos principales de la dieta, el tipo de músculo y el proceso (crudo o cocido), y post hoc con el test de comparación múltiple de las medias, de Tukey-Kramer ($p < 0,05$). El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo a través del programa NCSS (2007).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 EFECTO DEL SELENIO DIETARIO EN LA OXIDACIÓN DE LÍPIDOS Y PROTEÍNAS

3.1.1 Oxidación de lípidos

En el Cuadro 2 se presentan los valores de oxidación lipídica determinada como TBARS (mg MDA/kg carne) en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos para el grupo control y los suplementados con selenio orgánico (SeMet; seleniometionina) y selenio inorgánico (SeNa; selenito de sodio). Se hallaron valores promedio entre 0,13 y 0,41 mg MDA/kg para el grupo control, entre 0,2 y 0,4 mg MDA/kg para SeNa y entre 0,12 y 0,28 mg MDA/kg para los suplementados con SeMet.

Cuadro 2. Efecto de la suplementación dietaria con selenio inorgánico u orgánico (0, control; 0,3 ppm SeNa; 0,3 ppm SeMet) en la oxidación de los lípidos expresados como TBARS (mg MDA/kg carne) en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos de aves.

Músculos	Dietas experimentales		
	Control	SeNa	SeMet
	mg MDA/kg carne		
<i>Pectoralis</i>	0,13 ± 0,03	0,20 ± 0,03	0,12 ± 0,03
<i>Gastrocnemius</i>	0,41 ± 0,03	0,40 ± 0,06	0,28 ± 0,06

Efectos principales

Dieta: NS

Músculo: $p < 0,006$ *Gastrocnemius* > *Pectoralis*

Dieta por músculo: NS

Los datos representan la media \pm SEM ($n=6$). El efecto dieta, tipo de músculo e interacción se analizó con ANOVA GLM y Test de Tukey-Kramer ($p < 0.05$). SeMet: seleniometionina. SeNa: selenito de sodio. NS: no significativo

En este trabajo la dieta suplementada con selenio; tanto orgánico como inorgánico; no tuvo efectos en el contenido de TBARS, en ninguno de los músculos estudiados. Similares resultados fueron reportados por del Puerto *et al.* (2014), quienes mostraron una falta de efecto de la suplementación sobre la estabilidad oxidativa de los lípidos al comparar fuentes orgánicas e inorgánicas. Contrariamente, los trabajos realizados por Ibrahim *et al.* (2019); Chen *et al.* (2013) obtuvieron una mayor resistencia a la oxidación lipídica cuando las aves eran suplementadas con selenio orgánico. En estos trabajos el efecto se lograba con la utilización de selenio orgánico en cantidades superiores a las empleadas en esta tesis (0,45 y 0,6

mg / kg), esto podría explicar las diferencias en los resultados. Otros autores Calvo *et al.* (2017); Li *et al.* (2011); Zhan *et al.* (2007), en carne de cerdo, también reportaron una menor oxidación lipídica con la suplementación con selenio orgánico.

El músculo *Gastrocnemius* presentó un valor significativamente mayor de MDA ($p < 0,006$) lo cual era esperable debido al mayor contenido de mitocondrias y mioglobina en los músculos oxidativos (músculo rojo) en relación al *Pectoralis* que es glucolítico (músculo blanco), este resultado ha sido anteriormente reportado por Ibrahim *et al.* (2019); Muhlisin *et al.* (2016); del Puerto *et al.* (2014). Por otra parte estas diferencias también podrían estar relacionadas con el contenido total de lípidos, el músculo *Gastrocnemius* posee aproximadamente el doble de lípidos que el *Pectoralis* (del Puerto *et al.*, 2017; Castroman *et al.*, 2013).

Cabe destacar que en este trabajo los valores de TBARS del músculo *Pectoralis* fueron muy bajos, y si bien los de *Gastrocnemius* fueron superiores, están dentro de rangos muy aceptables (Cifuni *et al.*, 2004). Estos resultados tienen mucha importancia desde el punto de vista nutricional y sensorial pues el deterioro oxidativo de los lípidos lleva a la formación de compuestos nocivos para la salud y se asocia con la aparición de olores y sabores anómalos en la carne.

3.1.2 Oxidación proteica

Los valores de oxidación proteica fueron determinados como tioles en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos para el grupo control y los suplementados con selenio orgánico (SeMet; seleniometionina) e inorgánico (SeNa; selenito de sodio). El contenido promedio hallado en ambos músculos crudos varió desde 84,9 a 93,4 nmoles tioles/mg proteína, para el grupo control; de 52,5 a 68,7 nmoles tioles/mg proteína, para el grupo suplementado con Se inorgánico; y desde 55,4 a 60,8 nmoles tioles/mg proteína, para el suplementado con Se orgánico (Cuadro 3).

Cuadro 3. Efecto de la suplementación de Se dietario (0: control; 0.3 ppm SeNa; 0.3 ppm SeMet) sobre el deterioro oxidativo de las proteínas medidas como tioles (nmoles tioles/mg proteína), en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos.

Músculos	Dietas experimentales		
	Control	SeNa	SeMet
	nmoles tioles/mg proteína		
<i>Pectoralis</i>	93,4 ± 2,9 a	68,7 ± 3,0 b	60,8 ± 3,0 b
<i>Gastrocnemius</i>	84,9 ± 3,8 a	52,5 ± 4,3 b	55,4 ± 1,6 b
Efectos principales			
Dieta: p<0,0001 Control >SeMet, SeNa			
Músculo: p<0.001 <i>Pectoralis</i> > <i>Gastrocnemius</i>			
Dieta por músculo: NS			

Los datos representan la media ± SEM (n=7-8). El efecto dieta, tipo de músculo e interacción se analizó con ANOVA GLM y se compararon las medias por el Test de Tukey-Kramer (p<0.05). a, b, indican diferencias significativas entre las medias según ANOVA de una vía (p<0.05). SeMet: seleniometionina. SeNa: selenito de sodio. NS: no significativo

La presencia de los grupos tioles libres en las proteínas de la carne, son los principales responsables de las propiedades gelificantes, así como de la formación del sabor durante el tratamiento térmico.

En este trabajo los contenidos de tioles proteicos presentaron un efecto significativo de la dieta, de difícil interpretación. Los grupos suplementados, tanto con selenio orgánico como con inorgánico, presentaron valores más bajos de radicales sulfhidrilos o tioles totales en

relación al control. La disminución de tioles totales en la carne de aves que recibieron la suplementación de selenio, puede deberse a la formación de disulfuros o complejos entre el selenio- tioles y especies entrecruzadas (Hawkins y Davies, 2019), no medibles en la técnica (Wu *et al.*, 2019) y no indicarían una mayor oxidación proteica. Este hallazgo concordaría con lo encontrado por Korzeniowska *et al.*, (2018), en donde la suplementación con ambas formas de selenio en la dieta de las aves, redujo significativamente los cambios oxidativos en los grupos reactivos químicos más importantes de las proteínas miofibrilares del músculo. En la misma línea estos autores Korzeniowska *et al.* (2015), anteriormente habían encontrado un resultado similar pero con la suplementación con selenio inorgánico. Por otra parte el resultado hallado en el presente trabajo de investigación difiere a lo obtenido por del Puerto *et al.* (2016) en el cual no encontraron un efecto de la suplementación con ninguna de las formas de selenio sobre el daño oxidativo de las proteínas, si bien hay que tener en cuenta que en dicho trabajo la oxidación proteica fue medida como carbonilos.

Si bien no es suficiente el resultado de los tioles totales para inferir cuál fue el efecto del selenio, hay investigaciones (Hu *et al.*, 1993) que muestran un efecto interesante del selenio en la protección de la oxidación de las proteínas, por lo que se podría suponer que la disminución de tioles totales sería el resultado de la formación de selenio trisulfuros (Björnstedt y Fernandes, 2010), que actuarían en primera línea contra las especies reactivas más que un efecto negativo sobre la oxidación proteica. Esta conclusión primaria se complementaría con el resultado encontrado en relación al aumento de la actividad de la GPx con el contenido de selenio, que se discute más adelante.

El interés de este resultado revela el probable rol del selenio en la formación de otras especies (Hawkins y Davies, 2019) y es un tema a estudiar.

En este trabajo se encontró un efecto significativo del tipo de músculo, siendo el *Pectoralis* quien presentó niveles de tioles más altos ($p < 0.05$). Este resultado se puede explicar, por trabajos de hace varios años, en el hecho de que éste músculo es el que tiene mayor contenido de aminoácidos azufrados como cistina, metionina, y por lo tanto mayor contenido de tioles (Hoffman y Hamm, 1978), lo cual valoriza mucho este músculo del punto de vista nutricional.

3.2 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON Se EN LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

3.2.1 Actividad de la enzima glutatión peroxidasa

Se evaluó el efecto de la suplementación con selenio orgánico e inorgánico sobre la actividad de la GPX, en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos para el grupo control y los suplementados con selenio orgánico (SeMet; seleniometionina) y selenio inorgánico (SeNa; selenito de sodio).

La actividad promedio varió entre 10,6 - 10,7 nmoles de NADPH/min/mg de proteína para el grupo control, entre 9,9 - 14 nmoles de NADPH/min/mg de proteína, para los suplementados con SeNa, y entre 11,1 - 16,7 nmoles de NADPH/min/mg de proteína, para los suplementados con SeMet. En el Cuadro 4 se muestran los resultados obtenidos en cada uno de los tratamientos.

Cuadro 4. Efecto de la suplementación con selenio orgánico (seleniometionina, SeMet) y selenio inorgánico (selenito de sodio, SeNa) en la dieta de aves sobre la actividad de la glutatión peroxidasa (nmolesNADPH/min/mg proteína), en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos.

Músculos	Dietas experimentales		
	Control	SeNa	SeMet
nmoles de NADPH/min/mg de proteína			
<i>Pectoralis</i>	10,7 ± 0,7 a	14,0 ± 1,0 b	11,1 ± 0,6 a
<i>Gastrocnemius</i>	10,6 ± 0,2 a	9,9 ± 0,9 a	16,7 ± 1,0 b

Efectos principales
Dieta: $p < 0,001$, SeMet > control, SeNa
Músculo: NS
Dieta por músculo: $p < 0,0001$

Los datos representan las medias \pm SEM de $n = 6-8$. Los efectos principales se analizaron por ANOVA GLM incluyendo el efecto principal de la dieta y el tipo de músculo y Test de Tukey-Kramer ($p < 0.05$). a, b, indican diferencias significativas (entre las dietas para cada músculo) por Anova de una vía y Test de Tukey-Kramer. Control 0, SeMet; 0,3 ppm, SeNa; 0,3 ppm. NS: no significativo

El resultado encontrado en este trabajo indica dos efectos de la suplementación con selenio dependiendo de la fuente. El selenio orgánico activa más la GPx en el músculo *Gastrocnemius*, que al ser más oxidativo probablemente tenga un mayor requerimiento de la enzima antioxidante. Generalmente se considera que los músculos oxidativos tienen mayores actividades de la GPx que los glucolíticos (De Vore y Greene, 1982). Este resultado fue reportado también por Castromán *et al.* (2013); Daun y Åkesson (2004). En cambio en el músculo *Pectoralis*, la fuente inorgánica fue quien tuvo un efecto positivo en la actividad de la enzima. Los efectos del selenio sobre la actividad de la GPX son complejos y diferentes según la

fuerza empleada, el tipo de enzima y la función de cada tejido en el organismo. En un meta-análisis realizado en aves por Alberro *et al.* (2014), demostraron que existe una diferencia en el efecto de la suplementación con selenio en la actividad de la GPX entre tejidos para el mismo tratamiento y que la suplementación con selenio inorgánico tenía un efecto en la GPx total solo cuando la dieta era deficitaria en selenio. Así mismo otro meta-análisis realizado por Zoidis *et al.* (2014), concluía que el papel funcional de la GPx estaba asociado con la concentración de selenio en los tejidos. Por lo que basados en ambos meta-análisis ésta podría ser una posible explicación al resultado encontrado también en el presente trabajo de investigación. Como se verá más adelante en este trabajo se encontraron diferencias significativas en el contenido de selenio en ambos músculos.

Al comparar los resultados hallados en este trabajo con otros autores en cuanto a los efectos de las diferentes fuentes de selenio sobre la actividad de la GPX han sido distintos. Ibrahim *et al.* (2019), encontraron que la suplementación con selenio orgánico mejoraba la expresión de ARNm de la GPx, contrariamente a lo reportado por Wang *et al.* (2011), donde la mayor actividad de la enzima se producía con la suplementación con selenio inorgánico. Por otra parte del Puerto *et al.* (2014); Chen *et al.* (2013), en aves, Zhan *et al.* (2007), en cerdos, no encontraron diferencias entre las fuentes suplementadas, si bien observaron que la suplementación en la dieta con selenio, tanto orgánico como inorgánico, incrementaba la actividad de la enzima.

3.2.2 Contenido de glutatión reducido

Se determinó el contenido de glutatión reducido en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos para el grupo control y los suplementados con selenio orgánico (SeMet; seleniometionina) y selenio inorgánico (SeNa; selenito de sodio). Tal como se muestra en el Cuadro 5, la concentración promedio varió entre 2,4 y 15,5 $\mu\text{M/g}$ de proteína para el

grupo control, entre 14,1 y 18,9 $\mu\text{M/g}$ de proteína para el grupo suplementados con SeNa y entre 8,1 y 14,8 $\mu\text{M/g}$ de proteína para el suplementado con SeMet.

Cuadro 5. Efecto de la suplementación con selenio orgánico (seleniometionina, SeMet) y selenio inorgánico (selenito de sodio, SeNa) en la dieta de aves sobre el contenido de glutatión reducido, GSH $\mu\text{M/g}$, en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos.

Músculos	Dietas experimentales		
	Control	SeNa	SeMet
	$\mu\text{M/g}$ de proteína		
<i>Pectoralis</i>	15,5 \pm 0,8	18,9 \pm 3,7	14,8 \pm 10,6
<i>Gastrocnemius</i>	2,4 \pm 0,9	14,1 \pm 6,3	8,1 \pm 9,1
Efectos principales			
Dieta: NS			
Músculo: $p < 0,02$ <i>Pectoralis</i> > <i>Gastrocnemius</i>			
Dieta por músculo: NS			

Los datos representan la media \pm SEM ($n=3$). El efecto dieta, tipo de músculo e interacción se analizó con ANOVA GLM y Test de Tukey-Kramer ($p<0.05$). SeMet: seleniometionina. SeNa: selenito de sodio. NS: no significativo

El glutatión se ha destacado como el antioxidante intracelular más notable (Estévez *et al.*, 2020). Su contenido puede variar entre otros factores por la alimentación. En este trabajo no se encontró un efecto de la dieta en el contenido de glutatión. Este resultado difiere de lo hallado por Wang *et al.*

(2011), quienes sí encontraron aumentos de la concentración de glutatión en la pechuga, con la suplementación con selenio orgánico. Así mismo Németh *et al.*, (2004) en pollos de engorde y Lebret *et al.*, (2018) en cerdos obtuvieron carnes con mayor contenido de glutatión con la suplementación con metionina. Cabe mencionar que no se han podido encontrar en la literatura gran cantidad de trabajos que estudien el contenido de glutatión con la suplementación con selenio orgánico e inorgánico en aves.

En este trabajo se encontró un efecto del tipo de músculo, siendo el *Pectoralis* el que presenta valores más altos de glutatión, no existiendo interacción de la dieta por músculo. Aumentar los niveles de GSH a través de la dieta depende de la presencia de precursores especialmente metionina y cisteína, la pechuga es un músculo rico en metionina (Corzo *et al.*, 2006) y esto podría ser la explicación de su mayor contenido de GSH. Rakowska *et al.* (2017), en carne de res; Huang *et al.* (2018) en novillos, también observaron concentraciones desiguales de GSH entre las diferentes ubicaciones anatómicas.

Dado que estas determinaciones sólo se pudieron realizar en pocas muestras (n=3) y con una variabilidad de datos muy grande se dificulta realizar una correcta interpretación de resultados, se requieren más estudios.

3.3 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE Se EN LA FUNCIONALIDAD PROTEICA

3.3.1 Solubilidad proteica

Se determinó la solubilidad proteica en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos para el grupo control y los suplementados con selenio orgánico (SeMet; seleniometionina) y selenio inorgánico (SeNa; selenito de sodio). En el Cuadro 6 se muestran los resultados de la solubilidad proteica

total (%).

Cuadro 6. Efecto de la suplementación con selenio orgánico (seleniometionina, SeMet) y selenio inorgánico (selenito de sodio, SeNa) en la dieta de aves sobre el la solubilidad proteica total (%), en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos.

Músculos	Dietas experimentales		
	Control	SeNa	SeMet
	Solubilidad proteica total (%)		
<i>Pectoralis</i>	43,6 ± 12,4	45,5 ± 8,9	47,3 ± 2,3
<i>Gastrocnemius</i>	39, 6 ± 9,2	47,6 ± 21,2	54, 2 ± 4,0

Efectos principales
Dieta: NS
Músculo: NS
Dieta por músculo: NS

Los datos representan las medias ± SEM de n = 8. *El efecto dieta, tipo de músculo e interacción se analizó con ANOVA GLM y Test de Tukey-Kramer (p<0.05). SeMet: seleniometionina. SeNa: selenito de sodio. NS: no significativo*

En este trabajo no se encontraron diferencias en relación a la solubilidad proteica con la suplementación con diferentes fuentes de selenio, ni entre los músculos estudiados. Según lo encontrado en la literatura como resultado de la oxidación de proteínas, ocurren algunos cambios en las estructuras de los aminoácidos que conducen a una disminución en el contenido de sulfhidrilos (Estévez, 2011) y de la solubilidad proteica (Turgut *et al.*, 2017). En este trabajo si bien se encontró una disminución en el

contenido de tioles totales con la suplementación esto no se tradujo en mayor pérdida de proteínas por solubilidad. Por lo que este hallazgo podría también reforzar la teoría de que la disminución de tioles totales pudiera deberse a la formación de complejos disulfuros, no medibles en la técnica empleada en la presente tesis y no significaría que existió mayor oxidación proteica con la suplementación.

El resultado hallado en este trabajo difiere de lo encontrado por Li *et al.* (2018) quienes obtuvieron una mayor solubilidad con la suplementación con 0,3 g / kg de SeMet en los músculos de la pechuga en comparación con la suplementación con selenio inorgánico.

3.3.2 Pérdida por goteo (drip loss)

En este trabajo la pérdida por goteo se analizó en dos momentos distintos, uno en carne fresca a las 24 horas *post mortem* y el otro, luego del almacenamiento por 3 meses en congelación. Los resultados obtenidos expresados como % del peso inicial se presentan en el Cuadro 7. La pérdida por goteo promedio para carne fresca varió entre 1,2 y 2,1 % para el control, 1,2 % para los suplementados con SeNa y 1,3 % para los suplementados con SeMet. Para la carne almacenada en congelación durante 3 meses los valores medios hallados variaron entre 4,8 y 8% para el grupo control, entre 11,2 y 6,6 % para los suplementados con SeNa y entre 5,5 y 7,7 % para los suplementados con SeMet.

Cuadro 7. Efecto de la suplementación con selenio orgánico (SeMet) e inorgánico (SeNa) en la dieta de aves sobre la pérdida por goteo (% del peso inicial) en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius*, a las 24 horas *post mortem* y luego de 3 meses de congelado-descongelado.

Músculos	Dietas experimentales		
	Control	SeNa	SeMet
	% del peso inicial		
<i>Pectoralis</i> *	1,7 ± 0,2 a	1,2 ± 0,1 b	1,3 ± 0,1 b
<i>Pectoralis</i> **	4,8 ± 1,6 a	11, 2 ± 2,8 b	5,5 ± 1,0 a
<i>Gastrocnemius</i> *	2,1 ± 0,3 a	1,2 ± 0,1 b	1,3 ± 0,2 b
<i>Gastrocnemius</i> **	8,0 ± 3,1 a	6,6 ± 2,4 a	7,7 ± 1,8 a

Efectos principales para carne fresca 24 horas *post mortem**
Dieta: p<0.01 Control >SeMet, SeNa
Músculo: NS
Dieta por Músculo: NS

Efectos principales para carne congelada y descongelada **
Dieta: NS
Músculo: NS
Dieta por Músculo: p < 0,022 SeNa > control, *Pectoralis*

Los datos representan la media ± SEM (n=8 para carne cruda y n=3 para carne congelada). El efecto dieta, tipo de músculo e interacción se analizó con ANOVA GLM y Test de Tukey-Kramer (p<0.05). a, b, indican diferencias significativas entre las medias en un mismo músculo por tratamientos según ANOVA de una vía (p<0.05). SeMet: seleniometionina. SeNa: selenito de sodio. NS: no significativo * carne de ave fresca 24 hs post mortem, ** carne de ave congelada 3 meses y descongelada.

En la carne fresca, se encontró un efecto de la suplementación con ambas fuentes de selenio, dando una menor pérdida de agua en relación al control. Iguales resultados fueron hallados por del Puerto *et al.*, (2016) en carne fresca, parte de este mismo trabajo, donde la suplementación con ambas fuentes redujo la pérdida por goteo. Esto difiere a lo encontrado por otros autores tanto en aves como en cerdo donde la pérdida por goteo fue menor con la suplementación con selenio orgánico (Ibrahim *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2011; Zhan *et al.*, 2007 Deniz, Gezen, y Turkmen, 2005).

Este resultado tiene implicancias tanto desde el punto de vista sensorial; ya que la disminución de la capacidad de retener agua de las carnes es una de las características que más generan rechazo por parte del consumidor; como también nutricional, pues junto con las pérdidas de agua se pierden nutrientes hidrosolubles.

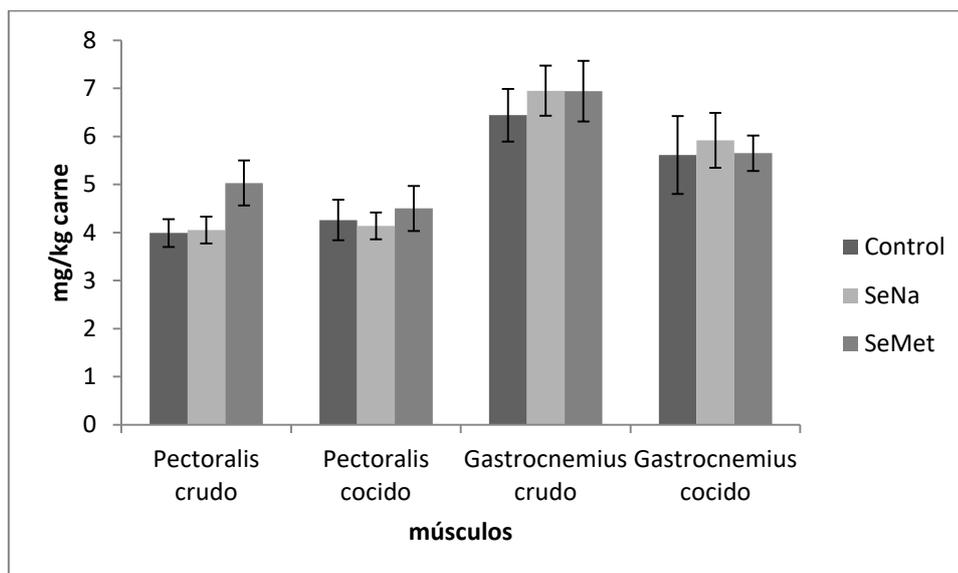
En la carne almacenada en congelación en cambio, no se observa una disminución de las pérdidas por goteo con la suplementación, en este caso, las pérdidas son similares en los tres tratamientos y además son mayores en relación a la carne fresca. Sin embargo al estudiar el efecto de la dieta en cada uno de los músculos se encontró una mayor pérdida por goteo, en el músculo *Pectoralis* cuando se suplementó con selenio inorgánico. Algunos autores han propuesto que la proteólisis e incluso la oxidación de proteínas son clave para influir en la capacidad de retención de agua de la carne (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005). Probablemente en este trabajo, el selenio suplementado no haya sido suficiente para disminuir la proteólisis en la carne mantenida en congelación. No se han encontrado en la literatura trabajos similares para poder comparar resultados. Se requieren más análisis para poder concluir en relación a los efectos de la suplementación sobre la pérdida por goteo en carne almacenada en congelación.

3.4 MODIFICACIÓN DE LAS FORMAS DE HIERRO EN LA CARNE DE AVE.

Efecto de la dieta, del tipo de músculo y la cocción

3.4.1 Contenido de hierro total en los músculos crudos y cocidos

Se determinó el contenido de hierro total en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos y cocidos para el grupo control y los suplementados con selenio orgánico (SeMet) y selenio inorgánico (SeNa), los resultados se muestran en la Figura 5. Los valores medios hallados de hierro total en este trabajo varían para el músculo *Gastrocnemius* entre 6,4 - 6,9 mg / Kg para la carne cruda, entre 5,6 - 5,9 mg / Kg para la carne cocida, y en el músculo *Pectoralis* entre 4 - 5 mg / Kg para la carne cruda, entre 4,1 - 4,5 mg / Kg para la carne cocida.



Efectos principales: Dieta NS
Músculo: $p < 0.0001$
Cocción: NS
Interacción: NS

Figura 5. Efecto de la suplementación de Se dietario (0: control; 0.3 ppm SeNa; 0.3 ppm SeMet) sobre el contenido de hierro total, mg/kg carne, en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos y cocidos. Los datos representan la media \pm SEM (n = 9). Los datos se analizaron por ANOVA GLM, con efecto principal la dieta, el tipo de músculo y el proceso (crudo o cocido), y Test de Tukey ($p < 0.05$). SeMet: seleniometionina. SeNa: selenito de sodio. NS: no significativo.

No se encontraron diferencias significativas en el contenido de hierro total en los diferentes tratamientos. No se encontraron trabajos para comparar donde analizaran hierro total y suplementación con selenio en aves. Tampoco se produjeron diferencias significativas con la cocción. Este resultado concuerda con lo reportado por Purchas *et al.* (2004), quienes no encontraron pérdidas significativas durante la cocción de carne de res, en ese trabajo los autores evaluaron las pérdidas por cocción a temperaturas internas finales de 60, 65, 70, 75, 80 y 85 °C.

Se encontró que el contenido de hierro total es mayor en el

Gastrocnemius, este resultado era de esperar ya que el contenido de hierro varía entre otras cosas en función del músculo del animal. La presencia de concentraciones más altas de mioglobina y hemoglobina en el músculo oxidativo se asocia con este hallazgo y ya había sido reportado por Lombardi-Boccia *et al.* (2002).

Como se mencionó anteriormente la deficiencia de hierro afecta el desarrollo cognitivo, y se asocia con un mayor riesgo de enfermedades. Las carnes podrían ayudar a reducir esta importante preocupación mundial sobre la salud humana. Una porción (150g) de carne de ave contribuye con un 3,7% (*Pectoralis*) y un 5,6 % (*Gastrocnemius*) de las IDR de mujeres entre 19 a 50 años (18 mg/día, recomendación más alta que otras categorías). Si bien este porcentaje es más bajo que el aportado por carnes rojas, contribuye al aporte de hierro hemínico de la dieta. Cabe mencionar además que se ha visto que una pequeña cantidad de carne mejora la absorción de hierro no hemo de los alimentos vegetales; se entiende que este es el efecto de un componente activo identificado como L- alfa Glicerofosfocolina presente en las carnes (Armah *et al.*, 2008).

3.4.2 Contenido de hierro hemínico y no hemínico en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* y la modificación provocada por la dieta y la cocción.

Se determinó el contenido de hierro hemínico y no hemínico en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos y cocidos para el grupo control y los suplementados con selenio orgánico (SeMet) y selenio inorgánico (SeNa), los resultados se muestran en la Figura 6. Los valores medios hallados de hierro hemínico para carne cruda variaron para el músculo *Gastrocnemius* entre 4,9 y 6 mg / Kg y para *Pectoralis* entre 3,4 y 3,9 mg / Kg. Para la carne cocida variaron para el músculo *Gastrocnemius*, entre 3,3 y 4,6 mg / Kg y para *Pectoralis* entre 2,5 y 2,8 mg / Kg. Para el hierro no hemínico en carne cruda los valores encontrados oscilaron entre 8,5 y 14 mg / Kg para el músculo *Gastrocnemius*, y entre 3,9 y 5,5 mg / Kg para

Pectoralis. Para la carne cocida los valores encontrados oscilaron entre 1,4 y 1,6 mg / Kg para el músculo *Gastrocnemius*, y entre 0,95 y 1,2 mg / Kg para *Pectoralis*.

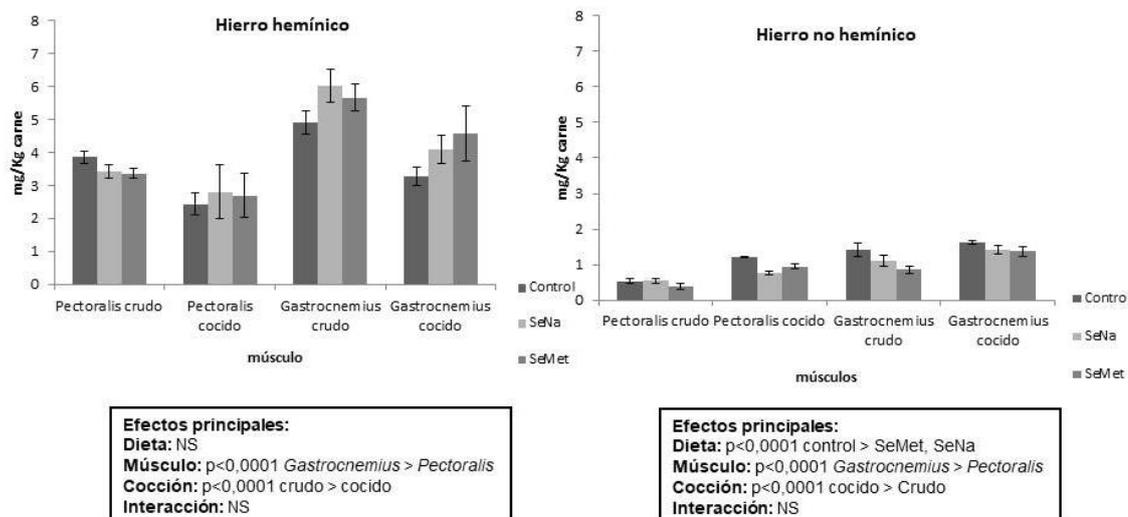


Figura 6. Variación en el contenido de hierro hemínico y no hemínico en mg/kg de carne, en la carne cruda y cocida de los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* de aves suplementadas con Se dietario (0: Control; 0,30ppm SeNa; 0,30 ppm SeMet). Los valores representan la media \pm SEM de $n = 9$. Los datos se analizaron por ANOVA GLM, con efecto principal la dieta, el tipo de músculo y el proceso (crudo ó cocido), y Test de Tukey ($p < 0,05$). SeMet: seleniometionina. SeNa: selenito de sodio. NS: no significativo

La forma química del hierro consumido es de gran importancia para lograr su absorción e incorporación al organismo, siendo el hierro hemo, la forma más biodisponible.

No se encontró un efecto de la dieta en el contenido de hierro hemínico. Esto difiere a lo reportado por Castromán *et al.*, 2013, quienes encontraron un mayor contenido de hierro hemínico en las carnes de ave orgánica en relación a la convencional.

Se halló una diferencia significativa entre los músculos, siendo el *Gastrocnemius* quien posee un mayor contenido. Este resultado concuerda con lo hallado por Muhlisin *et al.* (2016); Lombardi-Boccia *et al.* (2002); Castromán *et al.* (2013), quienes informaron que el contenido de hierro hemínico difería notablemente entre los cortes de carne siendo los músculos de las patas quienes presentan un contenido mayor. Al igual que para el contenido de hierro total, el mayor contenido de hierro hemínico en el músculo *Gastrocnemius*, se asocia a su carácter más oxidativo.

Al estudiar el efecto de la cocción se encontró una disminución del hierro hemínico en ambos músculos estudiados. La disminución del contenido de hierro hemo en la carne por tratamiento térmico se atribuyó a la escisión oxidativa del anillo de porfirina que permite la liberación de hierro del complejo hem (Schricker y Miller, 1983) y afecta la proporción de cada una de las formas. El tipo de cocción, la temperatura y el tiempo de los métodos de cocción influyen fuertemente en el grado de degradación y nitrosilación del hemo en la carne (de La Pomélie *et al.*, 2019; Purchas *et al.*, 2004; Lombardi-Boccia *et al.*, 2002) y son factores importantes a tener en cuenta en futuras investigaciones.

En este trabajo se pudo ver un efecto interesante de la dieta en el contenido de hierro no hemínico. El grupo control tiene cantidades más elevadas en relación a las suplementadas con ambas fuentes, esto es muy importante pues el hierro no hemínico es prooxidante y estaría favoreciendo los procesos oxidativos. Estos resultados podrían estar relacionados con menor oxidación proteica en los grupos suplementados pudiendo indicar un elemento de protección de las moléculas que contiene a los hierros. Se han encontrado correlaciones positivas entre el deterioro oxidativo de proteínas y contenido de hierro no hem (Estévez, 2011).

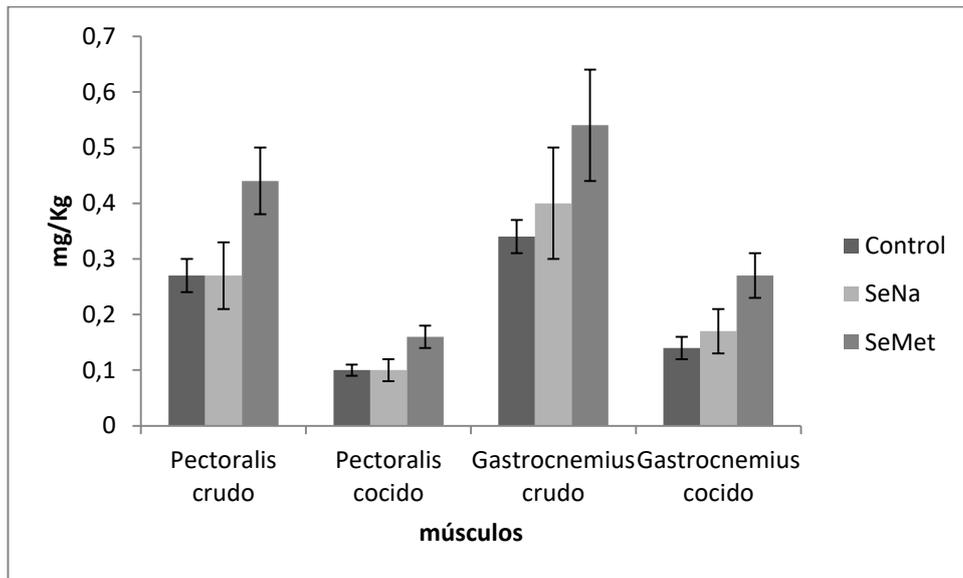
Se halló una diferencia significativa en el contenido de hierro no hemínico entre los músculos, siendo el *Gastrocnemius* quien posee un

mayor contenido. Al igual que para hierro total y hierro hemínico el mayor contenido de este músculo se asocia a su carácter más oxidativo.

Al estudiar el efecto de la cocción se encontró un efecto significativo siendo mayor el contenido de hierro no hemínico en la carne cocida. Este resultado era esperable dado que la cocción, como se mencionó anteriormente, modifica la proporción de cada una de las formas del hierro. Se pudo comprobar que las disminuciones en el contenido de hierro hemínico se correspondieron con aumentos del contenido de hierro no hemínico.

3.5 CONTENIDO DE SELENIO EN LA CARNE SUPLEMENTADA Y PÉRDIDA POR COCCIÓN

Se determinó el contenido de selenio en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* crudos y cocidos para el grupo control y los suplementados con selenio orgánico (SeMet) y selenio inorgánico (SeNa), los resultados se muestran en la Figura 7. Los valores medios hallados en carne cruda varían entre 0,27 y 0,34 mg/Kg, para el control entre 0,27 y 0,4 mg/Kg para los suplementados con SeNa, y entre 0,4 y 0,54 mg/Kg para los suplementados con SeMet. Los valores medios hallados en carne cocida oscilaron entre 0,1 y 0,14 mg/Kg, para el control entre 0,1 y 0,17 mg/Kg para los suplementados con SeNa, y entre 0,16 y 0,27 mg/Kg para los suplementados con SeMet.



Efectos principales:
Dieta: $p < 0,002$, SeMet >Control, SeNa
Músculo: $< 0,02$, Gastrocnemius >Pectoralis
Cocción: $p < 0,0001$, Crudo > Cocido
Interacciones: NS

Figura 7. Variación en el contenido de selenio, en mg/kg de carne, en la carne cruda y cocida de los músculos Pectoralis y Gastrocnemius de aves suplementadas con Se dietario (0: Control; 0.30ppm SeNa; 0.30 ppm SeMet). Los datos representan la media \pm SEM de $n = 9$. Los datos se analizaron por ANOVA GLM, con efecto principal la dieta, el tipo de músculo y el proceso (crudo o cocido), y Test de Tukey ($p < 0.05$). SeMet: seleniometionina. SeNa: selenito de sodio. NS: no significativo.

Como se muestra en la Figura 7, la suplementación con SeMet favoreció significativamente el depósito del mineral en ambos músculos; no siendo así con el tratamiento con SeNa. La suplementación con selenio orgánico aumentó el contenido de selenio hasta una vez y media en la pechuga y hasta el doble en el muslo en relación a la carne sin suplementar. Esto se explica por la similitud que tiene la SeMet con la metionina que al momento de la síntesis proteica ocupa su lugar favoreciendo el depósito del mineral en el músculo (Sunde, 1997). Similares resultados encontraron del Puerto *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2014; Briens *et al.*, 2013, en carne de ave, Zhang *et*

al., 2010; 2007, en corderos, donde el contenido de selenio aumentó con la suplementación con selenio orgánico.

En este trabajo se observa también claramente un efecto del músculo siendo superior en el músculo *Gastrocnemius* respecto al *Pectoralis*. Esto ha sido también reportado en un meta-análisis realizado por Zoidis *et al.* (2014) donde se encontraron contenidos más altos de selenio en el músculo de la pata. Este resultado se podría vincular con un mayor requerimiento del mineral con la actividad de la enzima GPx.

Al estudiar el efecto con el tratamiento térmico se encontró una disminución significativa del contenido de selenio con la cocción en ambos músculos estudiados y en todos los tratamientos. Este resultado difiere al encontrado por Oliveira *et al.* 2014, quienes encontraron una menor pérdida por cocción con la suplementación con selenio orgánico.

El contenido de selenio en los alimentos como se mencionó anteriormente es variable. En un estudio donde se recopiló y evaluó la prevalencia de ingestas de micronutrientes de diferentes países europeos, se identificaron algunos países como Francia y Alemania con ingestas bajas de selenio (Mensink *et al.*, 2013). En la región no se dispone de mucha información relacionada al contenido de selenio en los alimentos. En nuestro país investigaciones realizadas demuestran que la carne de res contiene importantes cantidades de selenio (Cabrera *et al.*, 2010; Cabrera, Ramos y Saadoun, 2013; Ramos *et al.*, 2012) y que además es altamente biodisponible (Ramos *et al.*, 2012). Según los datos obtenidos en la presente investigación la carne de ave es una fuente valiosa de selenio, ya que puede contribuir a una gran proporción de la dosis diaria recomendada. Una porción de 150 g de carne de ave contribuye aproximadamente con un 74 % (*Pectoralis*) y un 93 % (*Gastrocnemius*) de las IDR de mujeres entre 19 a 50 años (0,055 mg/día).

4. CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta el conjunto de los resultados obtenidos en la investigación se puede concluir que:

La suplementación con ambas fuentes ofrecería ventajas nutricionales y sensoriales respecto a la no suplementada en relación a mayor actividad de la enzima antioxidante, GPx, y menor pérdida por goteo en la carne fresca. Así mismo permitiría obtener valores más bajos de hierro no hemínico lo cual es muy importante por su papel como factor pro-oxidante de proteínas y lípidos.

No es suficiente el resultado de los tioles totales para inferir cuál fue el efecto del selenio en la oxidación proteica, pero en base a lo reportado por otras investigaciones en donde se muestra un efecto del selenio en la protección de la oxidación proteica se podría interpretar que el menor contenido en la carne de aves suplementada sería el resultado de la formación de otros compuestos entre el selenio y los tioles. Se requiere mayor investigación sobre este tema.

La suplementación con selenio orgánico favoreció significativamente el depósito del mineral en ambos músculos.

No se encontraron efectos de la suplementación, con ambas fuentes, sobre la oxidación lipídica, la solubilidad proteica y el contenido de GSH.

No se pueden extraer conclusiones concretas en cuanto a la suplementación con selenio, en la pérdida por goteo en carne almacenada en congelación.

Ambos músculos estudiados presentan nutrientes de interés para la nutrición humana destacándose el *Gastrocnemius* por su mayor contenido en selenio, hierro total y hemínico y el *Pectoralis* por su mayor contenido en

tioles y glutatión reducido.

La cocción disminuyó el contenido de selenio y hierro hemínico. Las disminuciones de este último se correspondieron con aumentos en el contenido de hierro no hemínico.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahn, D. U., Wolfe, F. H., Sim, J. S. (1993). Three Methods for Determining Nonheme Iron in Turkey Meat. *Journal of Food Science*, 58(2), 288–291. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb04257.x>
- Alberro, M. L., Cabrera, M. C., & Saadoun, A. (2014). Meta-analysis of the effect of dietary selenium supplementation on glutathione peroxidase activity in poultry. *60th International Congress of Meat Science and Technology - ICoMST, August*.
- AOAC (Association of Official Agricultural. (1990). *Official Methods of Analysis (16th ed.)*. Washington, DC: Association of Analytical Chemists. 1990.
- Armah, C. N., Sharp, P., Mellon, F. A., Pariagh, S., Lund, E. K., Dainty, J. R., Teucher, B., & Fairweather-Tait, S. J. (2008). L- α -Glycerophosphocholine Contributes to Meat's Enhancement of Nonheme Iron Absorption. *The Journal of Nutrition*, 138(5), 873–877. <https://doi.org/10.1093/jn/138.5.873>
- Bekhit, A. E. D. A., Hopkins, D. L., Fahri, F. T., & Ponnampalam, E. N. (2013). Oxidative processes in muscle systems and fresh meat: Sources, markers, and remedies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(5), 565–597. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12027>
- Björnstedt, M., & Fernandes, A. P. (2010). Selenium in the prevention of human cancers. European Association for predictive, preventive and personalized medicine (EPMA) *Journal*, 1(3), 389–395. <https://doi.org/10.1007/s13167-010-0033-2>
- Black, M. M. (2003). Micronutrient Deficiencies and Cognitive Functioning. *Animal Source Foods to Improve Micronutrient Nutrition and Human*

Function in Developing Countries, 3927–3931.

- Briens, M., Mercier, Y., Rouffineau, F., Vacchina, V., & Geraert, P. A. (2013). Comparative study of a new organic selenium source v. seleno-yeast and mineral selenium sources on muscle selenium enrichment and selenium digestibility in broiler chickens. *British Journal of Nutrition*, 110(4), 617–624. <https://doi.org/10.1017/S0007114512005545>
- Bukowska, B. (2004). Glutation: Biosynteza, czynniki indukujace oraz stężenie w wybranych jednostkach chorobowych. *Medycyna Pracy*, 55(6), 501–509.
- Cabrera MC, del Puerto M, Terevinto A, Palleiro V, Gigante S, Felice A, S. A. (2018). Micronutrients promoting health in beef, lamb, pork and poultry meat. *VI Congreso Aupa - Asociación Uruguaya De Producción Animal Campus Interinstitucional Tacuarembó, Uruguay*.
- Cabrera, M. C., del Puerto, M., Terevinto, A., Saadoun, A. (2014). Compuestos bioactivos de la carne. *Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal*, 14–18.
- Cabrera, M. C., Ramos, A., Saadoun, A., & Brito, G. (2010). Selenium, copper, zinc, iron and manganese content of seven meat cuts from Hereford and Braford steers fed pasture in Uruguay. *Meat Science*, 84(3), 518–528. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.10.007>
- Cabrera, M. C., Saadoun, A., Grompone, A., Pagano, T., Salhi, M., Olivero, R., & del Puerto, M. (2006). Enriching the egg yolk in n - 3 fatty acids by feeding hens with diets containing horse fat produced in Uruguay. *Food Chemistry*, 98(4), 767–773. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.013>
- Cáffaro-Tommasiello, E. M., Latorre, M. E., Cepeda, R. E., Garitta, L., Sosa, M., & Purslow, P. P. (2018). Valoración de aspectos vinculados al

consumo, calidad y seguridad de la carne, en consumidores argentinos de carne. *Idesia (Arica), ahead*, 0–0. <https://doi.org/10.4067/s0718-34292018005001003>

Calvo, L., Toldrá, F., Rodríguez, A. I., López-Bote, C., & Rey, A. I. (2017). Effect of dietary selenium source (organic vs. mineral) and muscle pH on meat quality characteristics of pigs. *Food Science and Nutrition*, 5(1), 94–102. <https://doi.org/10.1002/fsn3.368>

Castromán, G., Puerto, M., Ramos, A., Cabrera, M. C., & Saadoun, A. (2013). *Organic and Conventional Chicken Meat Produced In Uruguay: Colour , Ph , Fatty Acids Composition and Oxidative Status*. 1(2), 12–21. <https://doi.org/10.12691/ajfn-1-2-2>

Cecarini, V., Gee, J., Fioretti, E., Amici, M., Angeletti, M., Eleuteri, A. M., & Keller, J. N. (2007). Protein oxidation and cellular homeostasis: Emphasis on metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1773(2), 93–104. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.08.039>

Chen, G., Wu, J., & Li, C. (2013). The effect of different selenium levels on production performance and biochemical parameters of broilers. *Italian Journal of Animal Science*, 12(4), 486–491. <https://doi.org/10.4081/ijas.2013.e79>

Cifuni, G. F., Napolitano, F., Riviezzi, A. M., Braghieri, A., & Girolami, A. (2004). Fatty acid profile, cholesterol content and tenderness of meat from Podolian young bulls. *Meat Science*, 67(2), 289–297. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2003.10.017>

Corzo, A., Kidd, M. T., Dozier, W. A., Shack, L. A., & Burgess, S. C. (2006). Protein expression of pectoralis major muscle in chickens in response to dietary methionine status . *British Journal of Nutrition*, 95(4), 703–708.

<https://doi.org/10.1079/bjn20051716>

Council, N. R. (1994). *Nutrient Requirements of Poultry: Ninth Revised Edition, 1994*. The National Academies Press.

<https://doi.org/10.17226/2114>

Daniels, L. A. (1996). *Selenium Metabolism and bioavailability*. 54 (1), 185–199.

Daun, C., & Åkesson, B. (2004). Comparison of glutathione peroxidase activity, and of total and soluble selenium content in two muscles from chicken, turkey, duck, ostrich and lamb. *Food Chemistry*, 85(2), 295–303. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.009>

de La Pomélie, D., Santé-Lhoutellier, V., Sayd, T., Théron, L., & Gatellier, P. (2019). Using a dynamic artificial digestive system to investigate heme iron nitrosylation during gastro-intestinal transit. *Food Chemistry*, 281(January), 231–235. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.094>

del Puerto, M., Cabrera, M., y Saadoun Bachotet, A. (2017). A note on fatty acids profile of meat from broiler chickens supplemented with inorganic or organic selenium. EN: *International Journal of Food Science*, 2017, art. no. 7613069. <https://doi.org/10.1155/2017/7613069>

del Puerto, M., Olivero, R., Terevinto, A., Saadoun, A., & Cabrera, M. C. (2016). Dietary Organic and Inorganic Selenium on Liver Glycogen and Lactate, pHu, Color and Drip Loss of Chicken *Pectoralis* and *Gastrocnemius* Muscles. *Open Journal of Animal Sciences*, 06(01), 59–67. <https://doi.org/10.4236/ojas.2016.61008>

del Puerto, M., Terevinto, A., Cabrera, M.C., Saadoun, A. (2014). Organic and inorganic selenium in poultry diets: effect on lipid and protein oxidation, drip loss and GPx activity in fresh and aged meat. *60th International Congress of Meat Science and Technology. Archivos*

Latinoamericanos de Produccion Animal, 1–4.

- Deniz, G., Gezen, S., & Turkmen, I. (2005). Effects of two supplemental dietary selenium sources (mineral and organic) on broiler performance and drip-loss. *REVUE DE MEDECINE VETERINAIRE*, 156, 423–426.
- Descalzo, A. M., & Sancho, A. M. (2008). A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79(3), 423–436.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.12.006>
- De Vore, V. R., & Greene, B. E. (1982). Glutathione Peroxidase in Post-Rigor Bovine Semitendinosus Muscle. *Journal of Food Science*, 47(5), 1406–1409. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1982.tb04949.x>
- dos Reis, J. H., Gebert, R. R., Fortuoso, B. F., dos Santos, D. S., Souza, C. F., Baldissera, M. D., Tavernari, F. de C., Boiago, M. M., Paiano, D., & Da Silva, A. S. (2019). Selenomethionine as a dietary supplement for laying hens: Impacts on lipid peroxidation and antioxidant capacity in fresh and stored eggs. *Journal of Food Biochemistry*, 43(8), 1–10.
<https://doi.org/10.1111/jfbc.12957>
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82(1), 70–77. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
- Estévez, Mario, Geraert, P. A., Liu, R., Delgado, J., Mercier, Y., & Zhang, W. (2020). Sulphur amino acids, muscle redox status and meat quality: More than building blocks – Invited review. *Meat Science*, 163(February), 108087. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108087>
- Estévez, M. (2017). What 's New in Meat Oxidation ? In *New Aspects of Meat Quality*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100593-4/00006-0>

- Estévez, M. (2015). *Oxidative damage to poultry : from farm to fork*. *Poultry Science* 94:1368–1378. <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pev094>
- Estévez, M. (2011). Protein carbonyls in meat systems : A review. *Meat Science*, 89(3), 259–279. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.025>
- Food and Agriculture Organization Of The United Nations (2013). Dietary protein quality evaluation in human nutrition. Report of an FAO Expert Consultation. Rome. In *FAO food and nutrition paper* (Vol. 92).
- Farouk, M. M., & Swan, J. E. (1998). Effect of Rigor temperature and frozen storage on functional properties of hot-boned manufacturing beef. *Meat Science*, 49(2), 233–247. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(97\)00134-4](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(97)00134-4)
- Gómez, C., Bermejo, L. M., Loria, V. (2011). Importancia del equilibrio del índice omega-6/omega-3 en el mantenimiento de un buen estado de salud. Recomendaciones nutricionales. *Nutricion Hospitalaria*, 26(2), 323–329. <https://doi.org/10.3305/nh.2011.26.2.5117>
- Grashorn, M. A. (2007). Functionality of poultry meat. *Journal of Applied Poultry Research*, 16(1), 99–106. <https://doi.org/10.1093/japr/16.1.99>
- Gromadzińska, J., Reszka, E., Bruzelius, K., Wąsowicz, W., & Åkesson, B. (2008). Selenium and cancer: Biomarkers of selenium status and molecular action of selenium supplements. *European Journal of Nutrition*, 47(SUPPL. 2), 29–50. <https://doi.org/10.1007/s00394-008-2005-z>
- Günzler, A.; Flohé, L. (1985). Glutathione peroxidase. In R. A. Greenwald (Ed), *CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research.*, 1, 285–290.
- Hawkins, C. L., & Davies, M. J. (2019). Detection, identification, and

quantification of oxidative protein modifications. *Journal of Biological Chemistry*, 294(51), 19683–19708.

<https://doi.org/10.1074/jbc.REV119.006217>

Hornsey, H. C. (1956). The colour of cooked cured pork. II.—estimation of the stability to light. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 8(9), 547–552. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740080910>

Hu, M. L., Louie, S., Cross, C. E., Motchnik, P., & Halliwell, B. (1993). Antioxidant protection against hypochlorous acid in human plasma. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 121(2), 257–262.

Huang, J., Jia, Y., Li, Q., Son, K., Hamilton, C., Burris, W. R., Bridges, P. J., Stromberg, A. J., & Matthews, J. C. (2018). *Glutathione content and expression of proteins involved with glutathione metabolism differs in longissimus dorsi , subcutaneous adipose , and liver tissues of finished vs . growing beef steers 1*. 103436, 5152–5165.

<https://doi.org/10.1093/jas/sky362>

Huff-Lonergan, E., & Lonergan, S. M. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, 71(1), 194–204.

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.04.022>

Ibrahim, D., Kishawy, A. T. Y., Khater, S. I., Hamed Arisha, A., Mohammed, H. A., Abdelaziz, A. S., Abd El-Rahman, G. I., & Elabbasy, M. T. (2019). Effect of Dietary Modulation of Selenium Form and Level on Performance, Tissue Retention, Quality of Frozen Stored Meat and Gene Expression of Antioxidant Status in Ross Broiler Chickens.

Animals, 9(6), 342. <https://doi.org/10.3390/ani9060342>

Insani, E. M., Eyherabide, A., Grigioni, G., Sancho, A. M., Pensel, N. A., & Descalzo, A. M. (2008). Oxidative stability and its relationship with

natural antioxidants during refrigerated retail display of beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79(3), 444–452.

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.10.017>

Jacob, C., Giles, G. I., Giles, N. M., & Sies, H. (2003). Sulfur and Selenium: The Role of Oxidation State in Protein Structure and Function.

Angewandte Chemie - International Edition, 42(39), 4742–4758.

<https://doi.org/10.1002/anie.200300573>

Jongberg, S., Ann, M., Gunvig, A., Skibsted, L. H., & Lund, M. N. (2013).

Effect of green tea or rosemary extract on protein oxidation in Bologna type sausages prepared from oxidatively stressed pork. *MESCI*, 93(3),

538–546. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.11.005>

Jorhem, L., Afthan, G., Cumont, G., Dypdahl, H. P., Gadd, K., Havre, G. N.,

Julshamn, K., Lind, B., Loimaranta, J., Merseburg, M., Olsson, A.,

Piepponen, S., Uppstad, B. J., Waaler, T., & Winnerstam, L. (2000).

Spectrometry after Dry Ashing : NMKL Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 83(5), 1204–1211.

Korzeniowska, M., Króliczewska, B., & Kopeć, W. (2018). Effect of Dietary Selenium on Protein and Lipid Oxidation and the Antioxidative Potential of Selected Chicken Culinary Parts during Frozen Storage. *Journal of Chemistry*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/3492456>

Korzeniowska, M., Króliczewska, B., & Kopeć, W. (2015). Carbonyl and sulfhydryl groups of chicken meat proteins after dietary modulation with selenium. *Open Chemistry*, 13(1), 1293–1302.

<https://doi.org/10.1515/chem-2015-0147>

Kulczyński, B., Sidor, A., & Gramza-Michałowska, A. (2019). Characteristics of selected antioxidative and bioactive compounds in meat and animal origin products. In *Antioxidants* (Vol. 8, Issue 9).

<https://doi.org/10.3390/antiox8090335>

Latrónico, P., Cabrera, M.C., Ramos, A., Saadoun, A. (2013). Contenido y bioaccesibilidad de selenio en la carne, fresca y madurada durante 28 y 60 días, de novillos Aberdeen Angus producidos en confinamiento (feed-lot) en Uruguay. *ALPA Cuba*, 2013.

Lawrie, R. (1979). *Meat Science*. 3rd ed. Pergamon press, International Library, Oxford, UK.

Lebret, B., Batonon-Alavo, D. I., Perruchot, M. H., Mercier, Y., & Gondret, F. (2018). Improving pork quality traits by a short-term dietary hydroxy methionine supplementation at levels above growth requirements in finisher pigs. *Meat Science*, 145(May), 230–237.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.040>

Li, J.; Zhang, L.; Yang, Z.; Zhang, Z.; Jiang, Y.; Gao, F.; Zhou, G. (2018). Effects of different selenium sources on growth performance, antioxidant capacity and meat quality of local Chinese Subei chickens. *Biol. Trace Elem. Res.* 2018, 181, 340–346.

Li, J., Zhou, J., Zhao, H., Lei, X., Xia, X., Gao, G., & Wang, K. (2011). Enhanced water-holding capacity of meat was associated with increased *Sepw1* gene expression in pigs fed selenium-enriched yeast. *MESC*, 87(2), 95–100. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.019>

Lombardi-Boccia, G., Martínez-Domínguez, B., Aguzzi, A., & Rincón-León, F. (2002). Optimization of heme iron analysis in raw and cooked red meat. *Food Chemistry*, 78(4), 505–510. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00211-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00211-X)

Londoño, J. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. *Desarrollo y Transversalidad Serie Lasallista Investigación y Ciencia.*, 1129–1162.

- Lynch, S. M., & Frei, B. (1993). Mechanisms of copper- and iron-dependent oxidative modification of human low density lipoprotein. *Journal of Lipid Research*, 34(10), 1745–1753. [https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)35737-0](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)35737-0)
- Márquez J., Terevinto A., del Puerto M., Saadoun A., Cabrera M.C. (2018). Selenio en la dieta de terminación de pollos e influencia en la defensa antioxidante de los músculos Pectoralis y Gastrocnemius. VI Congreso Aupa - Asociación Uruguaya De Producción Animal. Tacuarembó, Uruguay.
- Martínez, M.; Barrado, D.; Zubillaga, M.; Hager, A.; De Paoli, T.; Boccio, J. (2006). Conceptos actuales del metabolismo del glutatión Utilización de los isótopos estables. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 40, 45–54. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53540108>
- Mernies, B.; Terevinto, A.; Saadoun, A. (2014). Color, pH, drip loss, oxidative parameters and mineral content in Uruguayan Criollo lamb meat. 60th International Congress of Meat Science and Thecnology. August, 17th - 22nd, 2014. Punta del Este, Uruguay.
- Mensink, G. B.M., Fletcher, R., Gurinovic, M., Huybrechts, I., Lafay, L., Serra-Majem, L., Szponar, L., Tetens, I., Verkaik-Kloosterman, J., Baka, A., & Stephen, A.M. (2013). Mapping low intake of micronutrients across Europe. *British Journal of Nutrition*, 110, 755–773.
- Minich, D. M., & Brown, B. I. (2019). A review of dietary (Phyto)nutrients for glutathione support. *Nutrients*, 11(9), 1–20. <https://doi.org/10.3390/nu11092073>
- Morrissey, P. A., Sheehy, P. J. A., Galvin, K., Kerry, J. P., & Buckley, D. J. (1998). Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science*, 49(SUPPL. 1), S73–S86. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(98\)90039-4](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)90039-4)

- Muhlisin, Utama, D. T., Lee, J. H., Choi, J. H., & Lee, S. K. (2016). Antioxidant enzyme activity, iron content and lipid oxidation of raw and cooked meat of Korean native chickens and other poultry. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(5), 695–701. <https://doi.org/10.5713/ajas.15.0256>
- Németh, K., Mézes, M., Gaál, T., Bartos, Á., Balogh, K., & Husvéth, F. (2004). Effect of supplementation with methionine and different fat sources on the glutathione redox system of growing chickens. *Acta Veterinaria Hungarica*, 52(3), 369–378. <https://doi.org/10.1556/AVet.52.2004.3.12>
- O'Brien, K. O., Zavaleta, N., Abrams, S. A., & Caulfield, L. E. (2003). Maternal iron status influences iron transfer to the fetus during the third trimester of pregnancy. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77(4), 924–930. <https://doi.org/10.1093/ajcn/77.4.924>
- OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2019-2028, OECD Publishing, París/Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), Roma <https://doi.org/10.1787/7b2e8ba3-es>.
- Oliveira, T. F. B., Rivera, D. F. R., Mesquita, F. R., Braga, H., Ramos, E. M., & Bertechini, A. G. (2014). Effect of different sources and levels of selenium on performance, meat quality, and tissue characteristics of broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 23(1), 15–22. <https://doi.org/10.3382/japr.2013-00761>
- Penny, I. F. (1967). The influence of pH and temperature on the properties of myosin. *The Biochemical Journal*, 104(2), 609–615. <https://doi.org/10.1042/bj1040609>
- Pittaluga Rossi AM. (2018). Minerales en Campo Natural: Variación Estacional y por Sitio Geográfico del Contenido de Fósforo, Cobre,

Manganeso, Zinc, Hierro y Selenio. Tesis de Maestría. Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

Purchas, R. W., Rutherford, S. M., Pearce, P. D., Vather, R., & Wilkinson, B. H. P. (2004). Cooking temperature effects on the forms of iron and levels of several other compounds in beef semitendinosus muscle. *Meat Science*, 68(2), 201–207. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.02.018>

Rahman, I., Kode, A., & Biswas, S. K. (2007). Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. *Nature Protocols*, 1(6), 3159–3165. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.378>

Rakowska, R., Sadowska, A., & Waszkiewicz-Robak, B. (2017). Influence of pre- and post-slaughter factors on the reduced glutathione content of beef muscles. *Meat Science*, 124, 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.10.010>

Ramos, A., Cabrera, M.C., Saadoun, A. (2013). Contenido de microminerales, hierro hemínico y no hemínico del corte bife de vacío de novillos Hereford y Aberdeen Angus producidos con pasturas en Uruguay. ALPA Cuba, 2013.

Ramos, A., Cabrera, M. C., & Saadoun, A. (2012). Bioaccessibility of Se , Cu , Zn , Mn and Fe , and heme iron content in unaged and aged meat of Hereford and Braford steers fed pasture. *Meat Science*, 91(2), 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.001>

Ramos, A., Cabrera, M. C., del Puerto, M., & Saadoun, A. (2009). Minerals, haem and non-haem iron contents of rhea meat. *Meat Science*, 81(1), 116–119. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.07.005>

Rhee, K. S., Anderson, L. M. y Sams, A. R. (1996). Lipid oxidation potential of beef, chicken, and pork. *J. Food Sci.* 61(1), 8-12.

- Richie, J. P., Nichenametla, S., Neidig, W., Calcagnotto, A., Haley, J. S., Schell, T. D., & Muscat, J. E. (2015). Randomized controlled trial of oral glutathione supplementation on body stores of glutathione. *European Journal of Nutrition*, *54*(2), 251–263. <https://doi.org/10.1007/s00394-014-0706-z>
- Rotruck, J. T.; Pope, A. L.; Gauther, A. L.; Swanson, A. B.; Haferman D. G.; Hoekstra, W. G. (1973). Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase *Meat Sc* 179: 588-590
- RUANDI, UNICEF, MSP, & MIDES. (2011). *Encuesta nacional sobre estado nutricional, prácticas de alimentación y anemia*.
- Saadoun, A., & Cabrera, M. C. (2014). *V Congreso Uruguayo de Producción Animal Herramientas nutricionales para la obtención de productos aviares funcionales V Congreso Uruguayo de Producción Animal*. 47–49.
- Saadoun, A., Ramos, A, Palma, R & Cabrera, M.C. (2011). Hierro, Zinc, Cobre, Selenio y Manganeso en el músculo de novillos Aberdeen Angus terminados a pasturas, pasturas con suplementación ó feedlot. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*. 19, 483.
- Schrauzer, G. N., & Surai, P. F. (2009). Selenium in human and animal nutrition: Resolved and unresolved issues. A partly historical treatise in commemoration of the fiftieth anniversary of the discovery of the biological essentiality of selenium, dedicated to the memory of Klaus Schwarz (1914-19). *Critical Reviews in Biotechnology*, *29*(1), 2–9. <https://doi.org/10.1080/07388550902728261>
- Schricker, B. R., & Miller, D. D. (1983). Effects of Cooking and Chemical Treatment on Heme and Nonheme Iron in Meat. *Journal of Food Science*, *48*(4), 1340–1343. <https://doi.org/10.1111/j.1365->

2621.1983.tb09225.x

Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017). Oxidative Stress. *Annual Review of Biochemistry*, 86(1), 715–748. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045037>

Silva, V. A., Clemente, A. H. S., Nogueira, B. R. F., De Carvalho, A. C., De Freitas, L. F. V. B., Ramos, A. D. L. S., & Bertechini, A. G. (2019). Supplementation of selenomethionine at different ages and levels on meat quality, tissue deposition, and selenium retention in broiler chickens. *Poultry Science*, 98(5), 2150–2159. <https://doi.org/10.3382/ps/pey569>

Soyer, A., Özalp, B., Dalmiş, Ü., & Bilgin, V. (2010). Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. *Food Chemistry*, 120(4), 1025–1030. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.042>

Stoscheck, C. M. (1990). Quantitation of protein. *Methods in Enzymology*, 182(C), 50–68. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)82008-P](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)82008-P)

Surai, P., Kochish, I., Fisinin, V., & Velichko, O. (2018). Selenium in poultry nutrition: From sodium selenite to organic selenium sources. *Journal of Poultry Science*, 55(2), 79–93. <https://doi.org/10.2141/jpsa.0170132>

Surai, P. F., & Fisinin, V. I. (2014). Selenium in poultry breeder nutrition : An update. *Animal Feed Science and Technology*, 191, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.02.005>

Sunde, R. A. (1997). Selenium in; Handbook of nutritional esencial trace mineral elements, O´Dell, B.L. and R. A. Sunde (Eds) Marcel Dekker Inc., New York, pp493-556

Terevinto, Alejandra, Cabrera, M. C., & Saadoun, A. (2019). Oxidative

stability, fatty acid composition and health lipid indices of longissimus dorsi muscle from Aberdeen angus steers produced in different feeding systems. *Ciencia Rural*, 49(12), 1–11. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190537>

Terevinto, A., Ramos, A., Castroman, G., Cabrera, M. C., & Saadoun, A. (2010). Oxidative status, in vitro iron-induced lipid oxidation and superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in rhea meat. *Meat Science*, 84(4), 706–710. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.11.007>

Turgut, S. S., Işıklı, F., & Soyer, A. (2017). Antioxidant activity of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during frozen storage. *Meat Science*, 129, 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.02.019>

U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. FoodData Central. (2019). <https://fdc.nal.usda.gov/>

Utrera, M., & Estévez, M. (2013). Oxidative Damage to Poultry, Pork, and Beef during Frozen Storage through the Analysis of Novel Protein Oxidation Markers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(33), 7987–7993. <https://doi.org/10.1021/jf402220q>

Valencia, E., Marin, A., & Hardy, G. (2001). Glutathione-Nutritional and Pharmacologic Viewpoints: Part IV. *Nutrition*, 17, 783–784.

Wang, Yanbo, & Fu, L. (2012). Forms of Selenium Affect its Transport , Uptake and Glutathione Peroxidase Activity in the Caco-2 Cell Model. *Biol Trace Elem Res* (2012), 149, 110–116. <https://doi.org/10.1007/s12011-012-9395-8>

Wang, Yongxia, Zhan, X., Zhang, X., Wu, R., & Yuan, D. (2011). Comparison of different forms of dietary selenium supplementation on growth

performance, meat quality, selenium deposition, and antioxidant property in broilers. *Biological Trace Element Research*, 143(1), 261–273.

<https://doi.org/10.1007/s12011-010-8839-2>

Wang, R. R., Pan, X. J., & Peng, Z. Q. (2009). Effects of heat exposure on muscle oxidation and protein functionalities of pectoralis majors in broilers. *Poultry Science*, 88(5), 1078–1084.

<https://doi.org/10.3382/ps.2008-00094>

West, A. R., & Oates, P. S. (2008). Mechanisms of heme iron absorption: Current questions and controversies. *World Journal of Gastroenterology*, 14(26), 4101–4110. <https://doi.org/10.3748/wjg.14.4101>

WHO. (2011). The global prevalence of anaemia in 2011. In *Geneva: World Health Organization; 2015*.

Wu, M., Cao, Y., Lei, S., Liu, Y., Wang, J., Hu, J., Li, Z., Liu, R., Ge, Q., & Yu, H. (2019). Protein structure and sulfhydryl group changes affected by protein gel properties: process of thermal-induced gel formation of myofibrillar protein. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 1834–1847. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1656231>

Xiong, Y. L. (2000). Protein oxidation and implications for muscle food quality. *Antioxidants in Muscle Foods: Nutritional Strategies to Improve Quality*, 85–111.

Zhan, X. A., Wang, M., Zhao, R. Q., Li, W. F., & Xu, Z. R. (2007). Effects of different selenium source on selenium distribution, loin quality and antioxidant status in finishing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 132(3–4), 202–211.

<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.03.020>

Zhang, W., Xiao, S., Samaraweera, H., Lee, E. J., & Ahn, D. U. (2010). Improving functional value of meat products. *Meat Science*, 86(1), 15–

31. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.018>

Zoidis, E., Demiris, N., Kominakis, A., & Pappas, A. C. (2014). Meta-analysis of selenium accumulation and expression of antioxidant enzymes in chicken tissues. *Animal*, 8(4), 542–554.
<https://doi.org/10.1017/S1751731113002395>