

UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA

FACULTAD DE AGRONOMIA

SELENIO DIETARIO Y CALIDAD DE CARNE DE
AVE: Metabolismo del glucógeno, estatus oxidativo y
antioxidante y perfil de ácidos grasos en m. *Pectoralis* y
Gastrocnemius

por

Ing. Agr. Mag. Marta del Puerto

TESIS presentada como uno de los requisitos
para obtener el título de *Doctora en Ciencias*
Agrarias

Montevideo

Uruguay

2017

Tesis aprobada por el tribunal integrado por el Dr. Pedro Alves de Souza, Dra. Claudia Gallinger y Dra. Maria Salhi, 6 diciembre 2017.
Autor: Marta del Puerto. Directora Dra. M. C. Cabrera, co-director Dr. A. Saadoun.

Agradecimientos:

A los profesores Dra M. Cristina Cabrera y Dr Ali Saadoun por su dedicación como orientadores de este trabajo y muy especialmente por su constante apoyo, confianza y cariño.

A mis compañeros del grupo Lic. Alejandra Terevinto, Ing. Agr. Roberto Olivero, por su colaboración en el mantenimiento de los animales y en las determinaciones de laboratorio.

A la ANII por la beca otorgada para la realización de este protocolo.

A mi compañera Sra Carmen Figarolla por su colaboración en el mantenimiento de los animales y la toma de registros.

Al Sr Pablo Flaksbard por su trabajo y responsabilidad en el mantenimiento de los locales y manejo de los animales.

A mi padre y mis hijos por su apoyo, paciencia y contención permanente.

A todos ellos mi mas sincero reconocimiento por hacer posible este nuevo capitulo....

TABLA DE CONTENIDO

PAGINA DE APROBACION.....	IV
AGRADECIMIENTOS.....	V
RESUMEN.....	XII
SUMMARY.....	XIII
1. CAPITULO 1.	1
1.1. INTRODUCCION.....	1
1.2. ANTECEDENTES.....	4
1. 2.1. <u>Selenio y su rol como mineral esencial</u>	4
1.2.1.1 Características químicas del selenio.....	4
1.2.1.2. Formas químicas del selenio.....	5
1.2.1.3. Absorción y metabolismo del selenio.....	8
1.2.1.4. Distribución del selenio en los tejidos.....	10
1.2.2. <u>Selenio y performance animal</u>	10
1.2.3. <u>Selenio y parámetros de la calidad de carne</u>	11
1.2.3.1. pH.....	11
1.2.3.2. Color.....	13
1.2.3.3. Capacidad de retención de agua.....	15
1.2.3.4. Glucógeno y lactato.....	17
1.2.3.5. Oxidación de lípidos y proteínas y calidad de carne de ave.....	18
1.2.4. <u>Selenio dietario y perfil de acidos grasos en la carne de ave</u>	24
1.3. OBJETIVOS.....	27
1.4. HIPOTESIS.....	28
1.5.ETAPAS DEL ESTUDIO	29
2. CAPITULO 2.....	30
Parte 1. Selenio dietario y performance animal. Efecto de la suplementación con selenio organico e inorgánico en la dieta de terminación de pollos para carne sobre la performance productiva animal y valores finales de pH, color y perdida de agua en la carne fresca	30

2.1 <u>Introducción</u>	30
2.2. <u>Materiales y métodos</u>	31
2.2.1. Animales.....	31
2.2.2. Dietas experimentales.....	31
2.2.3. Determinación de los parámetros de respuesta animal.....	32
2.2.3.1. Consumo de alimento.....	32
2.2.3.2. Peso vivo.....	33
2.2.3.3. Eficiencia de conversión.....	33
2.2.4. Determinaciones postmortem.....	33
2.2.4.1. Peso de hígado.....	33
2.2.4.2. Peso de grasa abdominal.....	33
2.2.4.3. Rendimiento de carcasa.....	33
2.2.4.4. pH último (24 horas).....	33
2.2.4.5. Color (24 horas).....	33
2.2.4.6. Pérdida de agua (24 horas).....	34
2.2.4.7. Análisis estadístico.....	34
2.3. <u>Resultados y discusión</u>	34
2.3.1. Suplementación con selenio y performance productiva	34
2.3.2. Suplementación con selenio y calidad de la carne.....	37
2.4. <u>Conclusiones</u>	44
3. CAPÍTULO 3.....	45
<u>Parte 2:</u> <i>Selenio dietario y metabolismo del glucógeno y lactato asociados a la calidad de la carne. Efecto de la suplementación con selenio organico e inorgánico en la dieta de terminación del pollo parrillero sobre la cinetica post mortem del pH, el color y la modulación del metabolismo del glucógeno y lactato.</i>	45
3.1 <u>Introducción</u>	45
3.2. <u>Materiales y métodos</u>	45
3.2.1. Animales.....	45
3.2.2. Dietas experimentales.....	46
3.2.3. Obtención de las muestras de hígado y músculos.....	46

3.2.4.Determinación del contenido de glucógeno y lactato en el hígado y músculos.....	46
3.2.5. Análisis estadístico.....	47
3.3. <u>Resultados y discusión</u>	48
3.3.1. Selenio dietario y cinética <i>post mortem</i> del pH.....	48
3.3.2.Selenio dietario y contenido de glucógeno y lactato en el hígado.....	50
3.3.3.Selenio dietario y cinética del glucógeno y lactato en los Músculos.....	51
3.3.4. Selenio dietario y evolución del color <i>post mortem</i>	54
3.4. <u>Conclusiones</u>	59
4. CAPITULO 4.....	60
<u>Parte 3.</u> <i>Selenio dietario, actividad de la GPx y su relación con la lipoperoxidación. Efecto de la fuente de selenio, organica e inorgánica, sobre la oxidación de lípidos y proteínas, actividad de la GPx y el contenido de selenio de la carne fresca y conservada.</i>	60
4.1. <u>Introducción</u>	61
4.2 <u>Materiales y métodos</u>	61
4.2.1. Animales.....	61
4.2.2. Dietas.....	61
4.2.3. Preparación y conservación de las muestras de carne.....	62
4.2.4. Determinación de la oxidación de lípidos.....	62
4.2.5. Determinación de la oxidación de proteínas.....	62
4.2.6. Determinación de la concentración de proteínas.....	63
4.2.7. Actividad de la glutathion peroxidasa, GPx.....	63
4.2.8.Contenido de selenio	64
4.2.9. Análisis estadísticos.....	64
4.3. <u>Resultados y discusión</u>	64
4.3.1.Estado oxidativo de los lípidos y proteínas en la carne fresca y conservada	64
4.3.2. Actividad de la GPx en la carne fresca y conservada.....	68

4.3.3. Contenido de selenio en los músculos <i>Pectoralis</i> y <i>Gastrocnemius</i> frescos.....	72
4.4. <u>Conclusiones</u>	74
5. CAPITULO 5.....	75
Parte 4. <i>Selenio dietario y perfil de acidos grasos de la carne. Efecto de la fuente de selenio, organico e inorgánico, en el perfil de acidos grasos de los músculos frescos, Pectoralis y Gastrocnemius.</i>	75
5.1. <u>Introducción</u>	75
5.2. <u>Materiales y métodos</u>	76
5.2.1. Animales.....	76
5.2.2. Dietas.....	76
5.2.3. Extracción de lípidos de la carne de ave.....	76
5.2.4. Metilación de acidos grasos y cromatografía de gases.....	77
5.2.5. Cálculo de los índices.....	77
5.2.5.1. Índice de aterogenicidad.....	77
5.2.5.2. Índice de trombogénesis.....	77
5.2.6. Relación hipocolesterolemico/hipercolesterolemico.....	78
5.2.7. Índice de actividad enzimática.....	78
5.2.8. <u>Análisis estadístico</u>	78
5.3. <u>Resultados y discusión</u>	78
4.3.1. Selenio dietario y perfil de acidos grasos.....	78
5.4. <u>Conclusiones</u>	84
6. CAPITULO 6.....	86
Parte 5. <i>Selenio dietario y aceptación del consumidor. Evaluación sensorial de la carne, pechuga y pata, de aves suplementadas con selenio organico e inorgánico.</i>	86
5.1. <u>Introducción</u>	86
5.2 <u>Metodología de la evaluación sensorial</u>	86
5.3. <u>Resultados y discusión</u>	86
5.4. <u>Conclusiones</u>	90
7. CONCLUSIONES GENERALES.....	91

8. BIBLIOGRAFIA.....	93
9. ANEXOS.....	118
9.1. <u>Trabajos publicados</u>	118
9.1.1. A note on Fatty Acids Profile of Meat from Broiler Chickens Supplemented with Inorganic and Organic Selenium.....	118
9.1.2. Dietary Organic and Inorganic Selenium on Liver Glycogen and Lactate, pH, Color and Drip Loss of Chicken Pectoralis and Gastrocnemius Muscles.....	126
9.2. <u>Trabajos presentados en congreso 60TH ICOMST</u>	135
9.2.1. Organic and inorganic selenium in poultry diets effect on lipid and protein oxidation, drip loss and GPx activity in fresh and aged meat	135
9.2.2. Selenium in Poultry diets: effect on pH, color, glycogen and lactate kinetic on fresh and aged Pectoralis and Gastrocnemius Muscles.....	136

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Cuadro 1. Composición porcentual de las dietas.	32
Cuadro 2. Efecto de la suplementación con selenio sobre la performance productiva.	35
Figura 1. Efecto de la suplementación con selenio sobre el pHu en los músculos <i>Pectoralis</i> (PM) and <i>Gastrocnemius</i> (GM) a las 24 horas <i>post mortem</i> .	38
Cuadro 3. Efecto de la suplementación con selenio sobre la pérdida de agua a las 24 horas <i>post mortem</i> en el músculo <i>Pectoralis</i> (PM) y el músculo <i>Gastrocnemius</i> (GM).	40
Cuadro 4. Efecto de la suplementación con selenio sobre el color medido como L*, a*, b*, sobre el tono de color (ángulo hue; H°) y sobre la saturación (Croma; C*) en los músculos <i>Pectoralis</i> (MP) y <i>Gastrocnemius</i> (MG) a las 24 horas <i>post mortem</i> .	42
Figura 2. Efecto del Se dietario sobre la cinética del pH a 10, 45, 90 min y 24 horas <i>post mortem</i> en los músculos <i>Pectoralis</i> y <i>Gastrocnemius</i> .	48
Cuadro 5. Efecto de la suplementación con selenio sobre el contenido de glucógeno (g glucosa/kg tejido) y lactato (g lactato /kg tejido) en el hígado a los 3 min <i>post mortem</i> .	51
Cuadro 6. Efecto de la suplementación con selenio sobre la cinética del glucógeno (g/100 kg carne) a los 10, 45, 90 min y 24 horas <i>post mortem</i> en los músculos <i>Pectoralis</i> (MP) and <i>Gastrocnemius</i> (MG).	52
Cuadro 7. Efecto de la suplementación con selenio sobre la cinética del lactato (g/100 g carne) a los 10, 45, 90 min and 24 horas <i>post mortem</i> en los músculos <i>Pectoralis</i> (MP) y <i>Gastrocnemius</i> (MG).	53
Cuadro 8. Efecto de la suplementación con selenio sobre la cinética del color medida como L*, a*, b* (método CIELAB) en el músculo <i>Gastrocnemius</i> en cuatro tiempos <i>post mortem</i> , 10,45 90 min y 24 horas.	56
Cuadro 9. Efecto de la suplementación con selenio sobre la cinética del color medida como L*, a*, b* (método CIELAB) en el músculo <i>Pectoralis</i> en cuatro tiempos <i>post mortem</i> , 10,45 90 min y 24 horas.	58
Cuadro 10. Efecto de la suplementación con selenio sobre la oxidación lipídica determinada como TBARS (mg MDA/kg carne) en la carne fresca y conservada al vacío (2° C; 0, 3 y 7 días p.m.; <i>post mortem</i>) en los músculos <i>Pectoralis</i> (MP) y <i>Gastrocnemius</i> (MG).	66
Cuadro 11. Efecto de la suplementación con selenio sobre el deterioro oxidativo de las proteínas, medidos como carbonilos (nmoles NADPH/min/mg prot) en los músculos <i>Pectoralis</i> (MP) y <i>Gastrocnemius</i> (MG) frescos y conservados al vacío (2° C; 0, 3 y 7 días p.m.; <i>post mortem</i>).	67
Cuadro 12. Efecto de la suplementación con selenio orgánico e inorgánico sobre la actividad de la glutatión peroxidasa (GPx), determinada como nmolesNADPH/min/mg proteína, en los músculos <i>Pectoralis</i> y <i>Gastrocnemius</i> frescos (0 día) y conservados al vacío (2 °C, 7 días p.m.; <i>post mortem</i>).	69
Cuadro 13. Efecto de la suplementación con selenio en el contenido de selenio medido como mg Se/kg de carne (base seca), en los músculos <i>Pectoralis</i> (MP) y <i>Gastrocnemius</i> (MG).	73
Cuadro 14. Composición en ácidos grasos (g/100 g de ácidos grasos totales) de los músculos <i>Pectoralis</i> y <i>Gastrocnemius</i> de pollos suplementados con selenio.	80
Cuadro 15. Índices de salud para los músculos <i>Pectoralis</i> y <i>Gastrocnemius</i> en pollos suplementados con selenio.	84
Cuadro 16. Efecto de la suplementación y de la fuente de selenio sobre las características sensoriales del músculo <i>Pectoralis</i> cocido.	88
Cuadro 17. Efecto de la suplementación de selenio sobre las características sensoriales del músculo <i>Gastrocnemius</i> cocido.	89

RESUMEN

Se estudio el efecto de la suplementacion dietaria con selenio organico e inorgánico en la fase de terminación (35 a 56 dias), de pollos parrilleros, sobre la performance productiva y la calidad de la carne fresca y conservada de los musculos Pectoralis y Gastrocnemius.

Se utilizaron 90 pollos de la línea Ross, de 35 dias alojados en jaulas de madera con piso de cascara de arroz que se distribuyeron en 3 tratamientos (30 aves/trat) dieta base maíz soja, considerada control, dieta base suplementada con 0,3ppm de selenio como selenito de sodio y dieta control suplementada con 0,3 ppm de selenio como seleiomethionina. Las dietas se formularon isoproteicas (20%PC) e isocalóricas (2931kcal/kg EM) y se suministraron ad libitum. A los 56 dias todos los animales se sacrificaron según las normas de la CHEA.

De acuerdo a los resultados obtenidos la suplementacion con seleniomethionina disminuyo el consumo de las aves sin alterar la ganancia de peso ni la eficiencia de conversión. Ambas fuentes provocaron mayor pH a los 10 min efecto que desaparecio a los 45 min. La suplementacion con selenio organico favoreció la aparición de carnes mas rojas y menos luminosas mientras que el selenito de sodio disminuyo la coloracion amarilla, efecto que se mantuvo hasta las 24 horas postmortem. La perdida de agua fue significativamente reducida en las dietas suplementadas. Por otra parte la suplementacion favoreció un mayor contenido de glucosa en ambos musculos a los 10 min.

La fuente organica aumento la actividad de la GPx an ambos musculos frescos y en el Pectoralis conservado. Por otra parte la suplementacion con selenio organico aumento la cantidad de acidos grasos insaturados, en especial el C18;3 n-3 mientras que el selenito de sodio redujo los acidos grasos aterogénicos C14;0 y C16;0. Ambas fuentes determinaron mayor concentración del mineral en los musculos sin alterar la textura ni el sabor de la carne.

De acuerdo con este estudio la suplementacion con selenio permite mejorar la aptitud tecnológica y vida útil de la carne de ave; a la vez que obtener una carne con mejor perfil de acidos grasos, mayor estabilidad oxidativa y enriquecida en selenio, todo estos aspectos de alto impacto en la salud humana

Palabras claves: selenio, calidad de carne, oxidación, GPx, acidos grasos

SUMMARY

SELENIUM AND DIETARY QUALITY OF AVE: Metabolism of Glycogen, Oxidative and Antioxidant Status and Fatty Acid Profile in Pectoralis and Gastrocnemius Muscles.

We study the effect of dietary supplementation with organic and inorganic selenium in the finishing phase (35 to 56 days), of broiler chickens, on the productive performance and quality of fresh and aged meat of the Pectoralis and Gastrocnemius muscles. The study was carry out with 90 Ross line chickens, at 35 days old, housed in wooden cages with rice husk floor, distributed in 3 treatments (30 birds/trat), a basal corn – soybean diet considered control, the basal diet supplemented with 0,3 ppm selenium as sodium selenite and the basal diet supplemented with 0,3 ppm selenium as Seleiomethionina. The diets were formulated isoprotein (20% PC) and isocaloric (2931kcal/kg EM) and were supplied ad libitum. At 56 days all animals were sacrificed according to CHEA atandars.

According to the data obtained, supplementation with selenomethionine decreased the consumption without altering the weight gain or the conversion efficiency. Both sources detrmined a greater inicial pH at 10 min effect that disappeared at 45 min. The supplementation with organic selenium favored the appearance of more red and less light meat while the sodium selenite diminished the yellowish colorations, effect that remained until 24 hours postmortem. Water loss was significantly reduced in supplemented diets. On the other hand the supplementation favored higher glycogene content in both muscles at 10 min. The organic source increases the activity of the GPx ofn both fresh muscles and the aged Pectoralis. On the other hand, the supplementation with organic selenium increases the amount of unsaturated fatty acids, especially C18; 3 n-3 whereas sodium selenium reduced the atherogenic fatty acids C14; 0 and C16; 0. Both sources determined greater concentration of the mineral in muscles without altering the texture or taste of the meat.

According to this study, selenium supplementation allows to improve the technological aptitude and useful life of poultry meat; while obtaining a meat with better profile of fatty acids, greater oxidative stability and selenium enriched, all these aspects of high impact on human health

Keywords selenium, meat quality, oxidation, GPx, fatty acids

1. CAPITULO 1

1.1. INTRODUCCIÓN

La producción mundial de carne de ave alcanzó la cifra récord de 89.3 millones de toneladas, siendo la segunda proteína animal más consumida en el mundo (USDA, 2015). En el Uruguay, se produjeron durante el año 2015, 86.200 toneladas de carne de pollo, de las cuales se destinaron al consumo interno aproximadamente 80.500 ton (93%) y se exportaron 5.700 ton (7%). Se consumen aproximadamente 24.4 kg de carne de pollo por hab/año mostrando que la carne de ave ya es parte de la dieta en un país donde el consumidor era principalmente de carne roja (Anuario OPYPA, MGAP, 2015). La demanda de carne de ave en el mundo y en nuestro país impacta en los aspectos productivos que afectan la calidad, y se evidencia una mayor exigencia en cuanto a la calidad del producto y al bienestar animal (USDA, 2006). Un estudio micro econométrico del año 1994, ya mostraba la preferencia de la carne de ave respecto de la roja, asociando factores como salud y conveniencia (Gao *et al*, 1994). Un mejor conocimiento de los factores que afectan la calidad, tengan o no relación con el bienestar, siguiendo las principales tendencias y actitudes del consumidor, se revelan necesarios y la alimentación de las aves es uno de los principales factores sobre el cual se investiga (Valceschini, 2006), lo cual además tiene repercusión a nivel de los costos de producción (Uruguay Siglo XXI).

La demanda de la carne de ave relacionada a la salud del consumidor está fundamentada en que a través de la alimentación del ave, pueden mejorarse con mayor facilidad que en los rumiantes, la composición en ácidos grasos, haciéndola más insaturada y más rica, por ejemplo, en ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (Castromán *et al.*, 2013). Estas características la hacen, sin embargo, más frágil a los procesos oxidativos (Gao *et al*, 1994) a pesar de las mejoras introducidas en las cadenas de frío *post* sacrificio e industrialización (Purnell *et al.* 2004). En este sentido, la posibilidad de modificar el perfil de ácidos grasos de la carne favoreciendo un incremento de los ácidos grasos insaturados mediante la inclusión de

diferentes materias primas en la dieta de los animales es una alternativa nada despreciable. Pero incrementando el contenido de grasas polinsaturadas en la carne, aumenta la posibilidad de oxidaciones, procesos que disminuyen la calidad sensorial, tecnológica, nutritiva y la vida útil de la misma (Gray, *et al*, 1996; Rhee *et al.*, 2005; Morrissey *et al*, 1998; Daun y Åkesson, 2004; Descalzo *et al.*, 2005; Petron *et al*, 2007; Insani *et al.* 2008). El proceso de oxidación lipídica está correlacionado positivamente con la oxidación de pigmentos y provoca cambios adversos en el color de la carne. También se ven cambios adversos en el flavor y en la textura de la carne, y la autooxidación del colesterol y de los PUFAs resulta en la generación de compuestos potencialmente tóxicos para el consumidor (Gray *et al.*, 1996; Morrissey *et al.*, 1998). Estrategias de tipo dietario, a través de la inclusión de antioxidantes en la dieta de las aves, es un camino que permitiría fortalecer los sistemas de defensa antioxidantes como forma de mejorar y prolongar la vida útil de la carne (Grashorn, 2007; Fernández-Lopez *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2011). Un mejor estatus antioxidante en el animal y una posterior estabilidad oxidativa aumentada en la carne es considerado beneficioso para el consumidor y la industria procesadora (King *et al.*, 1995; Maraschiello *et al.*, 1999; Ruiz *et al.*, 1999).

La suplementación con selenio (Se) (Grashorn, 2007), que es un mineral esencial para las aves, podría tener actividad antioxidante por medio de la acción de la enzima antioxidante glutatión peroxidasa (GPx), como veremos mas adelante, que contiene un residuo de Se-cisteína, esencial para su actividad. Debido a esto, la enzima presenta una alta dependencia del selenio dietario y aumenta su actividad conforme aumenta la disponibilidad de selenio en la dieta (Rotruck *et al.*, 1973; Mahima *et al.*, 2012). La disponibilidad del selenio dietario depende en gran medida de la fuente utilizada, sea ésta orgánica (seleniometionina y seleniocisteína) o inorgánica (selenito de sodio), así lo demuestran los resultados obtenidos por diferentes autores en varias especies (Beilstein y Whanger, 2011, en ratas; Juniper *et al.*, 2008, en ganado de carne y Sevcikova *et al.*, 2006, en pollos).

El impacto de los efectos del selenio dietario serían a nivel del consumidor, porque el producto carne de ave tendría menor pérdida de agua (Forrest, 1979), mejor valor nutritivo, ya que si pierde menos agua, pierde menos nutrientes, especialmente hierro hemínico y otros minerales de alto interés. También a nivel del comerciante, ya que la pérdida de agua constituye una disminución del peso final y la carne se comercializa por peso. Todo esto provoca que la industria cárnica tenga mucho interés en mejorar estos parámetros y que sean fundamentales al momento de determinar el efecto de una estrategia dietaria en la calidad de la carne (Cheng y Wen Sun, 2008).

Otro valor agregado del producto carne como resultado de una suplementación con selenio se basa en su capacidad de acumularse en el músculo, por lo cual la suplementación con este mineral en la dieta permitiría la obtención de productos de origen animal enriquecidos en Se, aspecto de mucho interés en la nutrición humana (Pedrero *et al.*, 2009), ya que se ha demostrado que posee propiedades antioxidantes y efectos protectores en modelos animales para enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas en humanos (Battin *et al.*, 2009).

1.2. ANTECEDENTES

1.2.1. SELENIO Y SU ROL COMO MINERAL ESENCIAL

1.2.1.1. *Características químicas del selenio*

El selenio fue descubierto por Berzelius en 1818 quien lo determinó como un elemento estrechamente ligado al sulfuro y al telurio. Adquirió importancia cuando fue asociado a la enfermedad de alcalosis o selenosis en el ganado por Franke y Potter (1935); más tarde Schwartz y Foltz (1957) lo definen como nutriente dietario esencial para la prevención de necrosis hepática en ratas y en el mismo año Patterson *et al.* (1957) lo identificaron en la prevención de la diátesis exudativa en pollos (edemas subcutáneos gelatinosos; Upton *et al.*, 2008). Desde el punto de vista químico, el selenio posee el número atómico 34, es miembro del grupo VI junto con el oxígeno, telurio y polonio (Sunde, 1997) y es clasificado como un metaloide lo que indica que tiene propiedades de metal y de no metal. El peso atómico es de 78.96, tiene 4 estados oxidativos; Selenide (-2), Se (0), selenita o ácido selenioso (+4), y selenato o ácido selénico (+6) (Payne y Southern, 2005). Si bien tiene 6 isótopos estables los más comunes son el 78 y el 80 que ocurren el 73% del total de isótopos del Se. Por su posición en la tabla periódica, el selenio y el azufre (número atómico 16) tienen propiedades químicas similares como enlaces atómicos y covalentes y cargas electronegativas, por lo cual se hace difícil identificarlos en compuestos químicos. Estos compuestos pueden además ser fácilmente distinguibles fisiológicamente, porque el H₂S es un ácido más fuerte que el H₂Se y al pH fisiológico la selenocisteína está predominantemente deprotonada mientras que la cisteína es mayormente protonada. Los ácidos selénicos y seleniosos tienen potenciales de reducción mayores que los sulfúricos o sulfurosos. Estas diferencias tienen grandes implicancias en la química fisiológica del selenio (Upton *et al.*, 2008). Este elemento traza es esencial para las funciones reproductivas, desarrollo de inmunocompetencia y envejecimiento (Rayman, 2000, 2004). Como constituyente de las selenoproteínas tiene roles estructurales y enzimáticos como antioxidante, y

catalizador de la forma activa de la hormona tiroidea, a través de la enzima iodotironina deiodinasa (ID), la cual regula la conversión de tiroxina (T4) a forma biológica activa de la hormona 3,3',5 tri-iodotiroxina (T3) (Pavlata *et al.*, 2001). Es componente de la enzima glutatión peroxidasa (Mills, 1957) y junto con la vitamina E tiene acción como protector del daño oxidativo contra la producción de peróxidos en la célula y como consecuencia, previene el envejecimiento prematuro de las mismas (Schwaz y Foltz, 1957; Pavlata *et al.*, 2001). Este efecto fue corroborado en diferentes especies, ratas, pollos, ovinos, bovinos, equinos cerdos y peces (Brigelius – Flohé, 1999). Edens (1996) determinó una relación de dependencia entre el Se orgánico y la vit E en pollos en crecimiento. Tiene efecto anti-cancerígeno (Schrauzer, 2001, 2003) e influencia la actividad inmunitaria como componente de las selenoproteínas y enzimas. Actúa además en la producción de espermatozoides, fertilidad y reproducción, actúa a nivel de la glándula tiroidea y la actividad cerebral (Rayman *et al.*, 2008).

1.2.1.2. Formas químicas del selenio dietario.

La fuente natural es la corteza terrestre que contiene entre 0,05 y 0,09 mg/kg (Ortman, 1999). El selenio como elemento químico es una fuente muy estable, y biológicamente poco reactiva, por lo cual es pobremente absorbida (Suchy *et al.*, 2014). Las formas inorgánicas como el selenito de sodio, se caracterizan por ser poco activas biológicamente, por lo que su excreción es mayor respecto a las formas orgánicas. Las formas orgánicas, por estar unidas a aminoácidos, son clave en los procesos metabólicos del animal, formando parte de proteínas en las formas seleno-metionina y seleno-cisteína principalmente.

Las levaduras y algas enriquecidas en selenio han sido estudiadas para su utilización en dietas para animales, en el caso particular de los pollos se vio una mejora en la calidad de la carne así como una reducción en la oxidación de los lípidos y pérdida de agua por cocción aunque no se observó efecto sobre la actividad de la enzima GPx. (De-Almeida *et al.*, 2012). En los últimos años se han utilizado suplementos creados por nanotecnología, los que presentan mayor reactividad química. Estos

suplementos si bien han mejorado la calidad de la carne, incrementaron los niveles séricos de selenio en sangre y la actividad de la GPx, han por otro lado, aumentado también los riesgos por toxicidad en este elemento. (Zhang *et al.*, 2001)

Si bien existen diversas fuentes en la dieta de los animales, el selenio es provisto mayormente como aminoácidos: selenometionina, selenocisteína y selenocistina en los alimentos basados en vegetales (Burk, 1976) y carnes (Levander, 1986; Cai *et al.*, 1995). Los seleno-aminoácidos se encuentran en las proteínas principalmente como selenometionina y selenocistina y pueden constituir hasta el 80% del selenio total en plantas, granos y levaduras orgánicas (Buttler y Peterson, 1967; Kelly y Power, 1995).

El ciclo del selenio comienza en la tierra, la principal fuente de este mineral para las plantas. Los contenidos de selenio en el suelo son variables y su accesibilidad es dependiente del pH, potencial de oxido-reducción, estructura del suelo, fertilizaciones, precipitaciones entre otras (Surai, 2006). Esto incide fuertemente en el selenio contenido en los alimentos. En algunas partes del mundo la presencia de selenio en los suelos es baja contribuyendo a la producción de alimentos pobres en el mineral (Pavlata *et al.*, 2000) y a ingestas menores a las recomendadas de 55-70 microgramos/día para individuos adultos que consumen estos alimentos (Sevcikova *et al.*, 2006). La fertilización de estos suelos con selenio ha permitido incrementar los niveles de selenometionina en las plantas el cual ha alcanzado niveles mayores al 50% (Gou y Wu, 1998) y para el caso del maíz, trigo y soja-selenífera se alcanzaron niveles de 81 a 82 % (Schrauzer, 1998).

Las plantas pueden dividirse en dos grupos según su habilidad para acumular el selenio, las especies como el *Astragalus* y *Neptunia* que presentan niveles superiores a 1,000 ppm (Levander, 1986), pero que no forman parte de la dieta de los animales. Y las plantas no acumuladoras de selenio como maíz, trigo o avena, más típicas de la dieta animal, muchas veces presentan deficiencias, excepto algunas variedades de trigos donde los niveles llegan a 0,32 ppm o de avenas con niveles de

0,20 ppm. Las pastura y forrajes cultivadas en áreas no deficientes suelen tener niveles de 0,10 ppm de Se o aun de 0,05 ppm. El selenio contenido en los vegetales está principalmente bajo forma de seleniometionina (Beilstein y Whanger, 1986), pero también aparece bajo forma de selenocisteína, y metil-seleniometionina (Peterson y Butler, 1962; Olson *et al.*, 1970). Los productos de origen animal están representados en general por la harina de pescado, donde el selenio se acumula principalmente bajo forma de selenocisteína (Hawkes *et al.*, 1985; Payne y Southern, 2005) y levaduras enriquecidas son las que presentan mayor biodisponibilidad (Mahan *et al.*, 1999; Mahmoud y Edens, 2003) y menos problemas de toxicidad y daño ambiental (Kim y Mahan, 2001; Kuricová *et al.*, 2003). Está contenido en alta proporción en la levadura de cerveza, germen de trigo, así como en el hígado, peces, manteca y cordero. Otras fuentes de selenio son - nueces, granos enteros, arroz marrón, y los mariscos (Nyam News, 2005; Heindl *et al.*, 2010). Por otra parte, el 50% del selenio presente en hojas de remolacha, ajo y col fue identificado como selenato por lo cual es de pensar que debe existir un mecanismo de transformación del selenio de las formas inorgánicas a las orgánicas en el organismo animal.

Tradicionalmente las fuentes de selenio más usadas en raciones para animales fueron las fuentes inorgánicas, como los selenatos y selenitos de sodio especialmente. En general estas fuentes inorgánicas son mal absorbidas por el organismo y la mayor parte son excretadas en las heces en los rumiantes o en la orina en no rumiantes (Wolfram *et al.*, 1989). Cantor *et al.* (1982) observaron que las fuentes orgánicas presentaban mayor biodisponibilidad por lo cual hay interés en desarrollar productos de base proteica. En este sentido, las fuentes mas usadas son las levaduras enriquecidas en Se, y el B-Traxim Se, donde el selenio es ligado a péptidos de soja por hidrólisis enzimática, resultando en un selenio proteinato (Machat *et al.*, 2005; Leeson *et al.*, 2008). En el año 2000 la FDA (Food and Drug Administration) aprobó al Sel-Pex como fuente orgánica de selenio para ser usada en dietas para pollos. Esta es una mezcla de compuestos del selenio (primariamente bajo forma de seleniometionina) en una matriz proteica, cuya forma es muy disponible y

rápidamente absorbida en el intestino vía aminoácido neutro sodio dependiente, mientras que la forma selenito es absorbida en forma pasiva (Schrauzer, 2000). Entre las fuentes inorgánicas de selenio, la más usada es el selenito de sodio, Na_2SeO_3 (Wolfram *et al.*, 1989).

De acuerdo con el NRC (1994) los requerimientos de Se en pollos son 0,15 mg/kg como mínimo, cifra que es alcanzada por el aporte de los alimentos suministrados en una dieta convencional, sin embargo, dada la variación de este elemento en los alimentos, y la presencia de condiciones tendientes a la oxidación de lípidos se promueve la suplementación con Se en las raciones para aves (Payne y Southern, 2005). El máximo permitido es de 0,30 ppm según algunas reglamentaciones (AAFCO, 2003). La deficiencia del selenio se manifiesta de diferentes formas tanto como enfermedades, así como disfunciones orgánicas, incluyendo necrosis hepática, distrofia muscular, microangiopatías, diátesis exudativa, fibrosis pancreática, emplume deficitario, deficiencias inmunitarias y reducción de la incubabilidad (Edens, 1996). En pollos, estos signos parecen estar asociados al rol de protección antioxidante de la enzima glutatión peroxidasa (GPx) (Upton *et al.*, 2008).

1.2.1.3. Absorción y metabolismo del selenio

Por su característica de ser bioquímicamente similar al sulfuro, el selenio reemplaza a esta molécula en el metabolismo y es absorbida en forma activa a través del intestino mediante el mismo aminoácido portador, por lo que durante mucho tiempo se creyó que el selenio tomaba los mismos caminos metabólicos que el sulfuro (Kim y Mahan, 2003; Upton *et al.*, 2008). Entre los factores que afectan la disponibilidad y absorción del selenio dietario se encuentran la metionina, grupos tioles, metales pesados, y vitamina C, mientras que la retención, reabsorción y metabolismo en el organismo dependen de la cantidad suministrada en la dieta y su forma química (Suchy *et al.*, 2014). Burnell y Watley (1977) establecieron que las plantas y bacterias metabolizaban el Se en sus formas orgánicas selenometionina y selenocisteína. La primera es usada como sustrato para las enzimas que usan metionina siendo esta forma aún más disponible que la metionina pura (Markham *et al.*, 1980). La mayor cantidad se absorbe a nivel del duodeno, seguido del yeyuno y

el íleon (Wright y Bell, 1996; Whanger *et al.*, 1976). Las fuentes inorgánicas como los selenitos y selenatos se absorben por difusión simple (Wolfram *et al.*, 1989), mientras que las orgánicas, selenometionina y selenovealdura, son absorbidas vía mecanismos de transportadores específicos de aminoácidos (Combs y Combs, 1986). En el caso del selenio orgánico, en un primer paso es incorporado a las proteínas y luego metabolizado a selenio-adenosil-metionina y luego a selenio-adenosil-homocisteína. Luego, por procesos enzimáticos, es transformado a selenocisteína la cual puede ser incorporada a proteínas o degradada liberándose el Se. Otra forma es que la seleniometionina sea transaminada formándose el metilselenol y este a selenidos, los que son metabolizados. Durante el proceso de digestión gastrointestinal el selenio inorgánico es liberado y puede ser recombinado con otros compuestos o formar complejos insolubles y ser excretado. El selenio orgánico es absorbido casi en su totalidad en el intestino delgado asociado a péptidos y ácidos aminados. En estos complejos el selenio es relativamente inerte debido a los enlaces covalentes e iónicos que lo unen, más estable y menos propenso a interacciones y protegido de factores fisicoquímicos como los fitatos. La biodisponibilidad será afectada entonces por factores como la especie, sexo, estado fisiológico, estatus nutricional y secreciones gastrointestinales. Inmediatamente después de la absorción, aproximadamente el 76% del Se inorgánico pasa rápidamente al plasma (3 horas) en un turnover de aproximadamente 20 min, mientras que el restante tiene pasaje lento (10 horas) con un turnover de 3 horas. De este selenio el hígado toma el 90% (similar a un aminoácido). Desde aquí parte del Se retorna al tracto gastrointestinal, vía bilis, y el resto es devuelto a la sangre en un turnover de aproximadamente 12 horas. Desde el pool plasmático prácticamente todo el Se inorgánico es removido hacia los tejidos donde es reciclado (70%) en un turnover rápido. Luego del hígado el Se pasa a un tercer plasma pool donde la mitad es transportado a los tejidos de rápido turnover y la otra mitad a los de turnover lento como el músculo. Luego la casi totalidad del Se pasa a un cuarto pool donde es reciclado al hígado (Patterson *et al.*, 1989, Swanson *et al.*, 1991, Patterson y Zench, 1992). Las formas inorgánicas se absorben desde el traco gastrointestinal a una velocidad menor que las orgánicas, resultando en una mayor excreción de estas formas inorgánicas en heces. Las

cantidades excretadas dependen de las cantidades ingeridas, la fuente de selenio, la composición general de la dieta y de la especie en cuestión.

1.2.1.4. Distribución del selenio en los tejidos

Bien que las formas inorgánicas y orgánicas pueden ser utilizadas como suplemento, la forma orgánica se deposita en forma más eficiente en el músculo de la pechuga que las formas inorgánicas (Choct *et al.*, 2004). Si bien el selenio está presente en todos los tejidos y células del organismo, su concentración y distribución dependerán de la forma química y la cantidad en que es suministrado en la dieta (Behme y Wolters, 1983). La distribución del Se en el cuerpo es mayormente en el músculo, seguido por hígado, plasma, eritrocitos y riñón (Schroeder *et al.*, 1970, Sunde, 1997). En un metanálisis en aves, se encontró que el selenio acumula mayormente en los músculos de la pata y mucho menos en el plasma (Zoidis *et al.*, 2014).

El aminoácido selénico predominante en sangre es la Se-Cis, en el riñón y músculo es la Se-Met y en el corazón e hígado Se-Cis. Al aumentar la ingesta de seleniometionina en la dieta se observó un aumento en el músculo de la forma seleniometionina. El aumento de Se total en el tejido asociado al aumento de la inclusión de Se como levadura enriquecida se debe al aumento de la Se-Met, por lo que se puede suponer que la suplementación de dietas animales con levaduras enriquecidas en Se lleva a una bioacumulación de Se como Se-Met, la cual puede ser utilizada con ventajas en animales que requieren dietas altas en selenio. La seleniometionina incorporada en proteínas regenerativas puede ser removida durante la degradación y re-síntesis proteica y transformada en seleniuro para su utilización o excreción (Schrauzer, 2003)

1.2.2. SELENIO Y PERFORMANCE ANIMAL

En las aves, una dieta deficiente de selenio y con bajos niveles de suplementación de vitamina E, produce encefalomalacia y atrofia pancreática nutricional (Bunk y

Combs, 1980; Whitacre *et al.*, 1987). Estas últimas presentan el signo de deficiencia específico manifestado en dietas con adecuados contenidos de todos los nutrientes, incluso vitamina E. El principal factor, relacionado con el desarrollo de la enfermedad, es la oxidación lipídica (Surai, 2002). La deficiencia de selenio se asocia también con la disminución de la respuesta inmune, reducción en la producción de huevos y un incremento en la mortalidad embrionaria. (Combs y Combs, 1986).

A nivel productivo, los efectos del selenio sobre la performance animal son claros y fueron descriptos por varios autores (Echevarria *et al.*, 1988; Todorovič *et al.*, 1999; Dows *et al.*, 2000; Payne y Southern, 2005). En este sentido la suplementación con selenio orgánico en la dieta de pollos mejoró el consumo de alimento (Choct *et al.*, 2004) y aumentó la ganancia de peso de los animales logrando mejores índices de conversión (Swain *et al.*, 2000). En gallinas en postura, el selenio dietario se relacionó al aumento del peso del huevo, el peso de la yema y el índice de Haugh (Arpasová *et al.*, 2005). Otro efecto demostrado con la suplementación es el aumento en la velocidad de emplume (Edens *et al.*, 2000), lo que estaría permitiendo una mejora en la conversión alimenticia al aumentar el uso eficiente de la energía dietaria y disminuir las necesidades para mantener el calor corporal.

1.2.3. SELENIO Y PARAMETROS DE CALIDAD DE LA CARNE AVIAR

Los parámetros de calidad de carne aplicados a la carne de ave que trataremos en esta tesis, incluye pH, color, pérdida de agua, glucógeno y lactato, oxidación de lípidos y proteínas, actividad antioxidante de la GPx

1.2.3.1. pH

Es una característica importante de la calidad de la carne ya que afecta directamente las propiedades y estabilidad de las proteínas. De su valor a 24 horas *post mortem* o pH último (pHu) dependerán los atributos de capacidad de retención de agua, textura y color. El estrés del transporte y manejo previo al sacrificio producen una

concentración plasmática de adrenalina y excesivo gasto energético que agota las reservas de glucógeno estimulando el metabolismo anaeróbico del músculo. Esto produce la acumulación de ácido láctico en el músculo previo al desangrado, dando origen a dos posibles cambios: a) la aparición de pH elevados a las 24 horas *post mortem* y b) la disminución rápida del pH en el período de transformación de músculo a carne. Los primeros dan origen a carnes oscuras, más firmes y secas (carne DFD) debido a que el animal agota sus reservas de glucógeno muscular previo al sacrificio, lo que hace que la producción de ácido láctico sea pobre en el período *post mortem*. Esto tiene como consecuencia la presencia de pH últimos de 5.9 a 6.0 con características de mayor retención de agua (Fischer *et al.*, 1979; Ylä-Ajos, 2006) y una vida media más corta a causa de la proliferación bacteriana (Tarrant, 1989). Varios factores han sido identificados como causantes de la detención de la bajada del pH: la concentración inicial de metabolitos, ATP, y lactato y fosfocreatina (Pearson y Young, 1989; Rhoades *et al.*, 2005). La glicólisis *post mortem* puede ser detenida por una deficiencia de ADP o glucosa (Scopes, 1974; Van Laak *et al.*, 2000) o a una inhibición de las enzimas glicolíticas por disminución del pH (Pearson y Young, 1989).

Los segundos dan origen a carnes claras, blandas y exudativas (carne PSE) en este caso la disminución rápida del pH al inicio del período *post mortem* se produce con temperaturas del músculo altas 35 a 37°C, lo cual causa la desnaturalización de las proteínas sarcoplasmáticas y miofibrilares (Greaser, 1986; Ylä-Ajos, 2006). Tanto la velocidad como el valor del pH último alcanzado, determinan la palatabilidad de la carne afectando propiedades que incluyen pérdida de agua por goteo (drip loss), color, seguridad microbiológica, (Bendall ,1973; Fernández y Tornberg ,1991; Warner *et al.*, 1997; Ylä-ajos, 2006). El pH último bajo o decreciendo muy rápido tampoco es deseable tecnológicamente dado por la desnaturalización de las proteínas causando un impacto negativo sobre la calidad tecnológica y la palatabilidad de la carne (Monin, 2004).

En lo que concierne la relación entre el selenio y el pH en carne aviar, existe poca documentación al respecto y las condiciones experimentales de los pocos estudios

disponibles son muy diferentes lo que dificulta una comparación directa. Por ejemplo en el trabajo de Göçmen *et al.* (2016), donde se comparo selenio organico (Selplex) y inorgánico (selenito de sodio), no se observo diferencia en el valor del pH con un agregado de selenio de entre 0,15 ppm y 0,60 ppm. En otro trabajo por Boiago *et al.* (2014) los autores tampoco encuentran un efecto del selenio agregado, inorgánico (selenito de sodio) y organico (selenometionina), con dosis de 0,30 ppm y 0,50 ppm, independientemente de la fuente, inorgánico o organica, sobre el pH de la carne de pechuga. Pero cuando los autores comparan globalmente las dos fuentes de selenio, concluyen que el pH es más elevado con el selenio inorgánico que con el organico. Esta misma comparación realizada en el trabajo anterior de Göçmen *et al.* (2016), no arrojo el mismo resultado. Por lo que no esta claro si hay un efecto directo sobre el pH de la carne aviar, y si existe un efecto diferencial entre el tipo de selenio usado con suplemento.

1.2.3.2. Color

El color de la carne es la primera característica que percibe el consumidor, aporta su primer juicio sobre la calidad del producto y es determinante en la decisión de compra. El color está determinado principalmente por el contenido total de pigmentos hemo del músculo (mayoritariamente mioglobina) y por el estado de oxidación de los grupos hemo claramente afectados por la evolución del pH y el valor final alcanzado (pH último). Los pigmentos están constituidos principalmente por la mioglobina constituido por el grupo prostético (formado por un átomo de hierro y un anillo profirínico) y por una proteína, la globina, los otros pigmentos presentes son hemo-citocromos, flavinas y vit B12. Mas importante que la cantidad de pigmentos presentes es su distribución en el músculo y su estado redox; si el átomo de hierro del grupo hemo está en su forma reducida (Fe^{+2} ion ferroso), en la mioglobina y oximioglobina da origen a una coloración rojo-púrpura o brillante respectivamente. Mientras que si está en el estado oxidado (Fe^{+3} o ion férrico) en la metamioglobina, origina coloraciones amarronadas (Livingston y Brown, 1981). También tiene influencia la estructura muscular (relación tejido conectivo-grasa), la rugosidad superficial y la humedad como factores que afectan las propiedades

ópticas de la luz (absorción, refractancia y dispersión) (Renner, 1982). En el músculo del animal vivo, existe un equilibrio entre la forma reducida de la mioglobina y la forma oxidada de la oximioglobina. En la carne vacuna recién faenada presenta color rojo púrpura dado por la mioglobina que al entrar en contacto con el aire se oxida y pasa rápidamente a oximioglobina, dando coloraciones rojo brillante (carne fresca). Este cambio de color es más notorio en carne vacuna que en cerdo o en pollo a causa del mayor contenido de pigmentos que presenta (Miller *et al.*, 2000). El mantenimiento de la oximioglobina depende de la actividad de los mecanismos reductores consumidores de oxígeno. A medida que transcurre el tiempo *post* faena estos mecanismos se saturan de manera que las oximioglobinas se oxidan pasando a metamioglobina (Fe⁺³) y cuando el porcentaje de ésta supera el 60% aparecen coloraciones amarronadas mas en carne de rumiantes que en el pollo (Lawrie, 1998).

Cuando se considera la relación entre el selenio y el color de la carne aviar, en el trabajo de Göçmen *et al.* (2016) se observa que la suplementación hasta 0,60 ppm de selenio, independientemente del tipo, orgánico o inorgánico, no modifica ninguno de los parámetros del color de la carne, o sea L*, a* y b*. Pero cuando se comparan los dos tipos de selenio, se observa que el selenio inorgánico aumenta el amarillamiento de la carne (b*). Este trabajo comparó también pechuga y pata, pero este efecto del selenio solo se observó en la pechuga. Sin embargo en un segundo trabajo donde se estudió solo la pechuga, no se pudo observar el mismo resultado (Boiago *et al.*, 2014). En un tercer trabajo por Miezeliene *et al.* (2011) los tres parámetros L*, a* y b* cambiaron cuando se comparó un aumento del aporte en selenio orgánico de entre 0,15 ppm a 0,50 ppm. El L* bajó mientras el a* y el b* bajaron. Sin embargo, teniendo en cuenta que en este trabajo se utilizó una combinación de selenio y vitamina E, resulta muy difícil concluir sobre el efecto del selenio sobre el color de la carne estudiada. Se necesitan más estudios para poder concluir sobre un eventual efecto del selenio sobre el color de la carne aviar.

1.2.3.3. Capacidad de retención de agua

Según Graw y Hams (1956), la habilidad de la carne de retener el agua que posee y la que se agrega en el proceso de faena se denomina capacidad de retención de agua (CRA). Otros autores la definen como la capacidad para retener la humedad del propio alimento cuando se somete a factores externos tales como el corte, la presión, y la temperatura. Cuando se aplica cualquiera de estos factores la carne sufre pérdida de humedad debido principalmente a la pérdida del agua libre de su estructura. El agua retenida en el músculo es uno de los parámetros esenciales para determinar la calidad y su relación con el producto final (Rosenvolt y Andersen, 2003; Cheng y Wen Sun, 2008). El agua contenida en la carne es vehículo del sabor y contribuye en forma importante a su mejor deglución ya que afecta la jugosidad, textura y terniza y afecta la aceptabilidad por parte del consumidor por lo que la industria tiene mucho interés en mejorar la capacidad de retención del producto (Maribo *et al.*, 1999). Por otra parte, la pérdida de agua constituye una disminución del peso final lo que implica una pérdida económica. El músculo magro contiene aproximadamente 75% de agua, 20% proteína, 2% de grasa y 3% de componentes menores (Cheng y Wen Sun, 2008). El agua es contenida en su mayor parte (85%) en los espacios entre los filamentos finos y gruesos y entre los grupos de fibras y una pequeña porción es retenida por fuerzas electrostáticas entre las proteínas (Cheng y Wen Sun, 2008). El agua por ser una molécula bipolar es atraída por moléculas cargadas como las proteínas (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005). Después del sacrificio la retención de agua es afectada por los siguientes factores: a) caída de la temperatura inmediatamente después del sacrificio, b) cambios a nivel molecular como el acortamiento de las miofibrillas provocada por la caída del pH y la aparición de los puentes de actinmiosina, acortamiento miofibrilar, contracción, y desnaturalización de la miosina, c) cambios estructurales de las fibras y grupos de fibras que incrementan el espacio extracelular, d) cambios en la permeabilidad del agua en la célula y membrana basal (Cheng y Wen Sun, 2008). En general se acepta que el factor clave para producir estos cambios es el pH (Bendall y Swatland, 1998). Ha sido reconocido que el pH en la primera hora *post mortem* es de gran incidencia en la

retención de agua por alteración en la desnaturalización proteica (Bertram *et al.*, 2002), por tanto cualquier proceso que reduzca el estrés pre-faena reduce la caída del pH lo cual mejora la retención de agua del producto. En el período *post mortem*, las membranas celulares pierden la capacidad de retención osmótica al cesar el aporte de energía y el agua pasa a los espacios extracelulares, este fenómeno es a su vez favorecido porque al bajar pH las proteínas pierden sus cargas eléctricas moleculares responsables de mantener la atracción molecular del agua. El agua establecida en los espacios extracelulares pueden perderse con facilidad por goteo o evaporación (Tornberg, 2005). Por ello las propiedades físicas más importantes, color, textura, jugosidad y firmeza, están estrechamente relacionadas con la capacidad de retención de agua. Tejidos con poca capacidad de retener agua durante el almacenamiento pueden tener pérdidas por goteo grande y al mismo tiempo pérdida de proteínas solubles vitaminas y minerales. Este parámetro está regulado por muchos factores tanto intrínsecos como extrínsecos. Entre los primeros está el genotipo y la alimentación que afectan directamente las características del músculo. Los factores extrínsecos corresponden a los tratamientos pre-faena (ayuno, estrés, etc.) que favorecen la disminución de las reservas de glucógeno y por tanto originan carnes con pHu elevados y con baja retención de agua. Tratamientos *post mortem* como el chilling y la maduración han demostrado afectar en mayor o menor medida la capacidad de retención de agua. Este atributo sufre cambios antes, durante y después de la cocción. Durante la cocción se produce una contracción de las proteínas del tejido conectivo y de la fibra muscular con fuerte salida de agua, esto afecta la carne modificando su textura. (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005; Tornberg, 2005). Dada la importancia tecnológica y nutritiva de este parámetro se han desarrollado diferentes métodos de medición de la retención o pérdida de agua de la carne. Los métodos de medida de la retención de agua se basan en la pérdida de peso de la muestra de carne luego de ser aplicada una fuerza de presión o de succión que provoca la expulsión del agua débilmente retenida por el tejido.

Los estudios en aves, con suplementación de selenio, sobre la capacidad de retención de agua muestran que no parece existir una directa influencia sobre este parámetro independientemente del tipo de selenio usado, orgánico o inorgánico. Esto se ha

demostrado en carne de pechuga (Boiago *et al.*, 2014). Pero en otro estudio (Göçmen *et al.* 2016) se observó al contrario que hay una mayor retención de agua por la carne tanto de pechuga como de muslo cuando se suplementa la dieta de los animales con selenio, tanto orgánico como inorgánico a dosis de 0,30 y 0,60 ppm. Sin embargo cuando se compararon las dos fuentes de selenio, inorgánica y orgánica, se confirmó que el selenio orgánico favoreció una mayor retención de agua, pero solo en la carne de pechuga. Hay limitada información en este tema, aun siendo un parámetro de interés para el manejo de la carne de ave tanto para el consumidor como para el industrial.

1.2.3.4. Glucógeno y lactato

La bajada del pH producido por el uso de la vía anaeróbica para la obtención de energía depende de los depósitos de glucógeno en el músculo (potencial glicolítico) y de la velocidad de la glicólisis. En el pollo el pH a los 15 minutos *post mortem* se sitúa entre los 6.2 y 6.5 mientras que el pH final (pHu) se sitúa próximo a 5.8 (Duclos *et al.*, 2007). —En el animal vivo, el pH se mantiene en valores próximos a 7.0 – 7.3 (Tarrant, 1989; Bendall, 1973; Kylä -Puhju *et al.*, 2005). Sin embargo, en el músculo glicolítico con cero lactato, el pH aparece en rangos superiores que en el músculo oxidativo (Kylä -Puhju *et al.*, 2005). El pH es un factor muy importante para determinar el funcionamiento de las enzimas, por lo tanto su homeostasis es fuertemente mantenida por las estructuras buffer tanto metabólicas como estructurales (Bendall, 1973; Rao y Gault, 1989). También es controlado por la extracción de protones junto al lactato desde la fibra por transportadores monocarboxilatos y por el intercambio Na^+/H^+ (Sepponen *et al.*, 2003; Ylä-Ajos, 2006). Varios sistemas buffer previenen la caída rápida del pH en el músculo en actividad, donde la energía se produce por glicólisis anaeróbica, sin embargo en el músculo fatigado o estresado puede caer a valores de 6,5 a 6,3 tal cual sucede en el estrés previo al sacrificio (Henckel *et al.*, 2002). La velocidad y duración de la caída del pH del músculo en el período *post mortem* depende principalmente de los depósitos energéticos disponibles al sacrificio (Bendall, 1973) y de la capacidad buffer del músculo (Kylä -Puhju *et al.*, 2005). La capacidad buffer es, a su vez,

dependiente de la especie y el tipo de músculo y varía entre 40 y 60 mmol LA eq/kg. La disminución del pH es menor en pollos donde el pH último es > 5.7 si se lo compara con otras especies como el cerdo y el vacuno donde los valores normales son de 5.4 a 5.6 (Monin, 2004). La cantidad de glucógeno determina la extensión de la caída pero solo si el contenido de glucógeno está por debajo de un nivel crítico por el cual ni el nivel de glucógeno ni el potencial glicolítico son factores determinantes del pH último. La variación del potencial influye hasta en 50 % en el pH en cerdos (Maribo *et al.*, 1999; Warris *et al.*, 1990). El pH sigue una dependencia negativa con el potencial glicolítico, hasta que éste alcanza un valor crítico, una vez alcanzado este valor, la reserva de glucógeno no afecta el pH último (Bendall, 1973; Henckel *et al.*, 2002). Si el glucógeno es mayor, la glicólisis cesa cuando el pH cae a valores de 5.3 a 6.3 (Rao y Gault 1989; Fernández y Tornberg, 1991). El pH último generalmente es mayor en músculos oxidativos que en glicolíticos (Bendall, 1973). Concerniente a la implicancia del selenio en el metabolismo del glucógeno en la carne de pollo, no hemos encontrado trabajos que focalizaron el estudio en dicho tema.

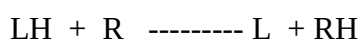
1.2.3.5. Oxidación de lípidos y proteínas y calidad de carne de ave

La oxidación lipídica es considerada uno de los factores responsables del deterioro de la carne que resulta en pérdidas en la calidad de la misma y en el rechazo por parte del consumidor– (Gray *et al.*, 1996; Morrissey *et al.*, 1998). El proceso de oxidación lipídica está correlacionado positivamente con la oxidación de pigmentos y provoca cambios adversos, por ejemplo en el color de la carne.

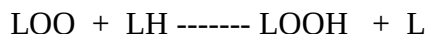
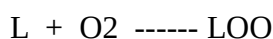
El proceso oxidativo es mediado por radicales libres que afectan los ácidos grasos insaturados, en particular los PUFA dentro de los lípidos, los grupos hemo de los pigmentos, los aminoácidos de las proteínas y los doble enlaces conjugados de las vitaminas. Este proceso genera una reacción en cadena que es favorecida por el calor, la luz y el oxígeno.

Los radicales libres incluyen especies reactivas derivadas del oxígeno, especies con uno o más electrones desapareados capaces de existir independientemente como el radical OH, superóxido O₂⁻, radicales de compuestos orgánicos que contienen oxígeno peróxilos ROO⁻, o alcoxilos RO⁻. Otras especies reactivas como el peróxido de oxígeno ó ácido hipocloroso no son radicales pero contienen grupos funcionales con oxígeno. En el proceso de oxidación de los lípidos distinguimos las siguientes tres etapas;

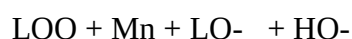
Iniciación: para la formación de los primeros peróxidos es necesaria la participación de un radical fuertemente reactivo (R⁻) capaz de sustraer el H del grupo metileno del ácido graso (Abuja y Albertini, 2001). La reducción por adición de un electrón al oxígeno molecular genera el radical superóxido O₂⁻. En el tejido este radical puede provenir de dos sistemas de transferencia de electrones de la membrana, de la auto oxidación de la oximioglobina a metamioglobina de la activación de leucocitos de la oxidación de compuestos reductores El radical O₂⁻ no tiene potencial redox pero puede ser transformado a otras especies (reacción de Fenton).

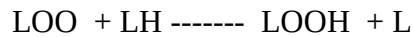
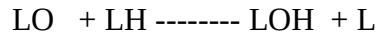
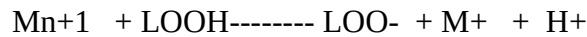


Propagación: El radical L reacciona con el oxígeno generando el radical piróxilo LOO Este radical puede oxidar otros ácidos grasos (LH) dando lugar a hidroperóxidos (LOOH) y propagando la cadena.

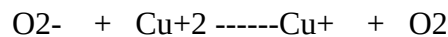
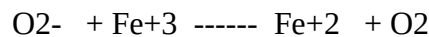


Cuando el número de hidroxiperóxidos es alto éstos pueden asociarse. Los hidroperóxidos pueden reaccionar con Fe⁺² y Cu⁺ y formar radicales piróxilo LOO y alcoxilo LO que son capaces de iniciar nuevas reacciones en una cadena de reacción. (Morris., 1998).

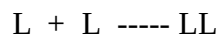
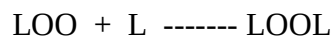
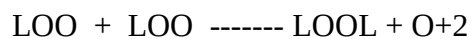




Paralelamente el Fe^{+3} y Cu^{+2} pueden ser reducidos por el radical superóxido (O_2^-) permitiendo el ciclo redox y recuperar el mineral.



Terminación: se da por reacción de los radicales peróxido LOO entre sí dando origen a compuestos radicalarios.



La oxidación proteica es importante para la homeostasis celular ya que las proteínas tienen un rol vital regulando la estructura celular, en la señalización celular y en los variados procesos enzimáticos (por ejemplo, metabolismo), que tienen lugar en la célula (Cecarini *et al.*, 2007). En el caso de las proteínas el daño es menos acusado que en los lípidos. Por darse reacciones más lentas, puede provocar alteraciones en aminoácidos específicos, fragmentación en cadenas pépticas (agregaciones o entrecruzamientos), alteraciones en la carga eléctrica o incrementos en la proteólisis y cambios irreversibles en la acción enzimática (Shacter, 2000). El término oxidación proteica hace referencia a la modificación de una proteína inducida por especies reactivas derivadas del oxígeno o por productos secundarios del estrés oxidativo. Algunos agentes responsables de la oxidación pueden ser peróxido de oxígeno, ácido hipocloroso, xenobióticos, metales de transición, Fe^{+2} , Cu^+ , luz, rayos UV, enzimas oxidoreductasas o productos de la oxidación lipídica (Shacter, 2000). Las principales

consecuencias de la oxidación proteica sobre la calidad de la carne y productos cárnicos se aprecian sobre todo a nivel del color de la carne. La química del color se debe sobre todo al estado de la proteína mioglobina y por tanto a mayor contenido de este pigmento en el músculo, mayores son las consecuencias de la oxidación proteica. La mioglobina es la responsable del color rojo del músculo, y su función es el suministro de oxígeno para el metabolismo aeróbico. Es una proteína conjugada constituida por una parte proteica (globina) y un grupo prostético (no péptico) grupo hemo. En el músculo, la oxidación proteica puede vincularse a cualquier factor pro-oxidativo involucrado en la formación de ROS. Este proceso tiene las mismas etapas que se mencionaron para la oxidación lipídica: iniciación, propagación y terminación. (Ventanas *et al.*, 2006). El producto mayoritario de la oxidación proteica son los carbonilos proteicos. (Cecarini *et al.*, 2007)

Las defensas antioxidativas. En el animal vivo existen mecanismos para limitar la exposición a los ROS que incluyen:

a. enzimas (superóxido dismutasa, catalasa y glutathion peroxidasa), que convierten el radical O_2^- en agua a través del peróxido de hidrógeno y así minimizar la producción de HO. Las enzimas antioxidativas representan la primera y principal línea de defensa contra la oxidación de la carne. El efecto del selenio en las defensas antioxidativas se visualiza a través de su participación como cofactor de una de estas enzimas, o sea la glutathion peroxidasa o GPx (Delles *et al.*, 2014). Esta enzima se presentará más adelante en el texto así como su relación con el selenio.

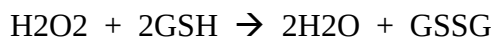
b. proteínas de transporte y almacenamiento (transferina, lactoferrina, haptoglobina, ceruloplasmina, metaloplasmina, carnosita) que secuestran metales de conversión de forma de limitar la catalización de la conversión de O_2^- y H_2O_2 a formas más dañinas. (Halliwell *et al.*, 1995; Morrissey *et al.*, 1998).

c. otro mecanismo muy activo es el llevado a cabo por compuestos antioxidantes (vit E, C, β -caroteno) que actúan rompiendo las cadenas de autooxidación transformando los radicales ROO $\cdot$ a ROOH.

Estos mecanismos son considerados muy activos en el animal vivo, sin embargo, luego del sacrificio pierden actividad en la medida que el músculo modifica su metabolismo a anaeróbico y se producen los cambios químicos antes mencionados (Morrisey *et al.*, 1998). En el período peri-sacrificio de los animales, los cambios químicos que transforman el músculo en carne originan condiciones propensas para la oxidación de los fosfolípidos de la membrana subcelular y por lo tanto alteran el balance entre los factores pro-oxidativos y anti-oxidativos a favor de los primeros. Otros factores que contribuyen a la extensión de la oxidación son: velocidad de caída del pH, temperatura de la carcasa, técnicas de tiernizado, los que contribuyen de alguna forma a destruir la compartimentalización celular y liberar iones metabólicos catalíticos (Morrisey *et al.*, 1998). Durante el procesamiento, manipulación y almacenamiento de la carne el daño oxidativo continúa y es tal vez la etapa más crítica. Durante estos procesos el hierro contenido en las proteínas es liberado y pasa a formar compuestos con aminoácidos nucleótidos y fosfatos con los que forma quelatos responsables de la catálisis de la oxidación lipídica en tejidos biológicos aunque no se conocen pruebas definitivas (Decker *et al.*, 1993; Morrissey *et al.*, 1998). El potencial oxidativo se ve muy afectado por el contenido de grupos hemo así la carne de ternera tiene mayor capacidad oxidativa que la de cerdo y ésta que las del pollo o el pavo. En el caso de la carne cocida, la de pollo es la que presenta mayor potencial oxidativo y esto se explica por el mayor contenido de ácidos grasos polinsaturados (con dietas estándares con maíz y soja) ya que durante la cocción se desnaturalizan las hemoproteínas y se liberan los ácidos grasos polinsaturados de la membrana. El monitoreo y control del deterioro oxidativo de lípidos durante el procesamiento de la carne y el almacenamiento de productos terminados ha tomado gran interés en los últimos tiempos debido a la mayor demanda por productos precocidos, restaurantes de comidas rápidas y el desarrollo de comedores institucionales (Wang *et al.*, 1997).

Como línea de protección antioxidativas, la mayoría de los sistemas biológicos cuentan además de la catalasa y de la superoxide dismutasa, con la glutatión peroxidasa (GPx) para controlar los peróxidos. La catalasa y la GPx comparten

mecanismos de acción similares en su acción contra la oxidación. Pero la GPx difiere de la catalasa en que puede reaccionar con el peróxido de hidrógeno y con peróxidos lipídicos. (Decker y Mei, 1996; Matés *et al.*, 1999). La GPx tiene un peso molecular de 80 kDa y contiene un único residuo de Se-cisteína en cada una de sus cuatro subunidades idénticas que es esencial para la actividad enzimática. Esta enzima cataliza la reducción de hidroperóxidos usando como sustrato el glutatión en estado reducido (GSH). Su acción puede esquematizarse en la siguiente reacción donde GSH representa al glutatión reducido y GSSG al glutatión oxidado en el cual dos moléculas están unidas por enlaces sulfidrilo, LOOH simboliza a los peróxidos lipídicos y LOH al alcohol del ácido graso (Decker y Mei, 1996; Matés *et al.*, 1999).



En los organismos – hay sustancias capaces de oxidarse. En la fase de iniciación el carbono central de una molécula precursora genera radicales libres los cuales reaccionan con el oxígeno generando radicales piróxilos, los que comienzan la propagación. A este punto se generan radicales piróxilos altamente reactivos dando origen a una cadena en reacción de varios ciclos potenciales de peroxidación. Los PUFA son especialmente promotores de estas reacciones. Los antioxidantes son sustancias capaces de limitar este proceso. Estos pueden actuar a tres niveles 1) prevención de la formación de radicales libres, catalasa, SOD y GPx; 2) prevención y restricción de formación y propagación de la cadena (vit A, E, C, y carotenos) y 3) escisión y reparación del daño en la molécula (lipasas, peptidasas y enzimas DNA). El Se es reconocido como un elemento traza que juega un rol importante en el sistema antioxidante como componente de la Se-dependiente GPx (Yoon *et al.*, 2007; Yu, 1994). Esta enzima junto con la SOD y la catalasa protegen la célula contra el daño provocado por los radicales libres y los lipoperóxidos. Además el Se fortalece la acción de la Vit E al reducir los radicales peróxidos. En pollos la absorción de vit E es afectada cuando hay una severa deficiencia de selenio. Por su parte el selenio alivia dicha deficiencia permitiendo elevar la absorción de la vit E.

Los efectos del selenio sobre la actividad de la GPX son complejos y diferentes según tipo de enzima y tejidos. Varios autores han encontrado un aumento en la GPx en respuesta al selenio dietario en roedores y en la expresión de las selenoproteínas, incluyendo la actividad de la GPX, en diferentes tejidos es afectada por la disponibilidad de selenio. Se ha investigado el efecto de las formas de selenio en la actividad de la GPx, y el efecto de la suplementación de selenio sobre la actividad de la GPx en diferentes tejidos, pero ningún estudio ha descrito cuantificando la naturaleza de la relación entre suplementación de selenio y la actividad de diferentes GPx o la actividad de toda la GPx (encompassing GPx1–4) (Bermingham *et al.*, 2014). En aves, Alberro *et al.* (2013), en nuestro laboratorio demostró que la suplementación con selenio tenía un efecto en la GPx total en aves, solo cuando la dieta era deficitaria en selenio.

1.2.4. SELENIO DIETARIO Y PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA CARNE DE AVE

La carne de pollo se caracteriza por un alto contenido de proteína de alto valor biológico y fácilmente asimilable, vitaminas y minerales y un bajo aporte energético, y puede contener (según la dieta de las aves) un alto contenido de ácidos grasos insaturados, y bajo contenido de grasas saturadas. En este sentido el consumidor asocia la carne de pollo a un alimento más saludable. El contenido total de lípidos de la carne de pollo varía según el tejido en estudio, así considerando los cortes principales, la mayor proporción de grasas se localiza en la piel, seguido del muslo y la pechuga (30,3 g/100g de piel, 2,2 g/100g de muslo y 0,95 g/100g de pechuga, respectivamente). En general podemos establecer que en pollos alimentados con dietas estándar (base maíz y soja) los ácidos grasos mayoritarios son el oleico, palmítico y linoleico. (Ratnayake *et al.*, 1989).

La aceptabilidad y creciente demanda de la carne de pollo por parte de los consumidores, ha favorecido el desarrollo de líneas de investigación tendientes a modificar y mejorar el perfil de la grasa, poniendo especial énfasis en aumentar los

ácidos grasos mono y polinsaturadas. (López- Ferrer *et al.*, 1999; Surai *et al.*, 2000; Crespo y Esteves Garcia, 2001).

Pero un mayor contenido de grasas insaturadas favorece la oxidación lipídica y la aparición de olores y sabores desagradables debido a la destrucción de ácidos grasos poliinsaturados por procesos de oxidación. Estos procesos afectan la calidad organoléptica y sensorial de la carne (Lopez – Ferrer *et al.*, 1999; Bou *et al.*, 2004). La suplementación con selenio en la dieta ha demostrado un efecto sobre la composición grasa, disminuyendo aparentemente en forma lineal el contenido total de grasa abdominal de la carcasa (De Almeida *et al.*, 2012), y modificando el perfil de los ácidos grasos de la carne (Pappas *et al.*, 2006). Estudios realizados demuestran que la suplementación con selenio incrementa los niveles de los ácidos grasos poliinsaturados en la carne principalmente los C20:3n-6, C20:4n-6 C20:5n-3 C22:5n-3 C22:6n-3 Pappas *et al.* (2006) y por Zduńczyk *et al.* (2011) quien determino un aumento de 4.84 a 5.25% de PUFA n-3 en un ensayo con animales alimentados con harina de pescado. Por su parte Kralik *et al.*, (2013) encontraron mayor proporción de PUFAS n-3 asociado a una reducción de MUFA en el músculo de animales suplementados con selenio orgánico.

En esta tesis de Doctorado abordaremos el efecto de la incorporación de selenio en la dieta de terminación de las aves de carne, a través de un enfoque que abarque: 1) el estudio de varios parámetros de calidad de la carne aviar como el pH, el color, la pérdida de agua y la composición en ácidos grasos, 2) el estudio del metabolismo del glucógeno y del lactato, 3) el estudio de la oxidación de lípidos y proteínas, el estatus antioxidante, el enriquecimiento de la carne en selenio y la evaluación sensorial de la carne obtenida.

El estudio incluirá dos fuentes de selenio (inorgánico y orgánico), dos músculos (*Pectoralis* y *Gastrocnemius*, en estado fresco y conservado) y cinéticas *post mortem*.

Los resultados esperados de esta tesis doctoral, tendrían impacto en la generación de conocimiento de los efectos del selenio, tanto organico como inorgánico, en el metabolismo y su impacto luego en la calidad de carne, y sentaría las bases para un manejo nutricional preciso de la suplementación con selenio. Por otro lado, la producción de carne de pollo enriquecida en selenio, asociado a una mayor vida útil en góndolas refrigeradas, sería de gran interés para los consumidores, productores y comerciantes. Además, permitiría la obtención de un producto de alto impacto social, enriquecido en selenio, de interés para la franja de la sociedad de mayor edad, niños y embarazadas.

1.3. OBJETIVOS

Nos proponemos estudiar la relación entre el Selenio dietario, las respuestas de performance animal y las respuestas de calidad de la carne de ave a través del metabolismo del glucógeno, estatus oxidativo, asociadas a procesos tecnológicos manejando la suplementación de una dieta de terminación con diferentes formas de selenio.

Los objetivos específicos del presente estudio son los siguientes:

- a. Estudiar el efecto de la suplementación con selenio orgánico y selenio inorgánico, en la dieta de terminación de pollos para carne sobre la performance productiva y los parámetros de calidad de la carne fresca y conservada.
- b. Estudiar el efecto de la incorporación de Se dietario sobre el metabolismo del glucógeno, el deterioro oxidativo de los lípidos y las proteínas, la actividad de la enzima antioxidante, GPx, e incorporación de selenio, en el músculo aviar, asociadas a procesos tecnológicos.
- c. Determinar si la suplementación de Se modifica el perfil de ácidos grasos en la carne fresca.
- d. Determinar la aceptabilidad por parte de los consumidores de la carne proveniente de aves suplementadas con selenio.

1.4. HIPOTESIS

- a. Las fuentes de selenio orgánico e inorgánico tendrían diferente efecto sobre la performance productiva de los animales, expresados a través de la ganancia de peso, el consumo de alimento y la eficiencia de conversión, en un sistema de cría convencional
- b. La suplementación de Se en la dieta permitiría minimizar los procesos oxidativos y modular el metabolismo del glucógeno. Lo cual tendría incidencia en los parámetros de calidad de la carne de ave mejorando su aptitud para la conservación y procesamiento.
- c. Las características antioxidantes del selenio permitirían modificar el perfil de ácidos grasos en la carne fresca.
- d. Por su capacidad de acumularse en el músculo, esta suplementación, permitiría la obtención de productos de origen animal enriquecidos en selenio.
- e. La carne aviar proveniente de aves suplementadas con selenio puede tener diferentes aceptación a nivel sensorial.

1.5. ETAPAS DEL ESTUDIO

PARTE 1: SELENIO DIETARIO Y PERFORMANCE ANIMAL. Efecto de la suplementación con selenio orgánico e inorgánico en la dieta de terminación de pollos para carne sobre la performance productiva y valores finales de pH, color, y pérdida de agua en la carne fresca.

PARTE 2: SELENIO DIETARIO Y METABOLISMO DE GLUCOGENO Y LACTATO ASOCIADOS A LA CALIDAD DE CARNE. Efecto de la suplementación con selenio orgánico e inorgánico en la dieta de terminación del pollo parrillero sobre la cinética *post mortem* del pH, el color y la modulación del metabolismo del glucógeno y lactato.

PARTE 3: SELENIO DIETARIO, ACTIVIDAD DE LA GPx Y SU RELACIÓN CON LA LIPOPEROXIDACIÓN: Efecto de la fuente de selenio, orgánica e inorgánica, sobre la oxidación de lípidos y proteínas, la actividad de la GPx y el contenido de selenio de la carne fresca y conservada.

PARTE 4: SELENIO DIETARIO Y PERFIL DE ACIDOS GRASOS DE LA CARNE. Efecto de la fuente de selenio, orgánica e inorgánica en el perfil de ácidos grasos de los músculos frescos, *Pectoralis* y *Gastrocnemius*.

PARTE 5: SELENIO DIETARIO Y ACEPTACIÓN DEL CONSUMIDOR. Evaluación sensorial de la carne de ave, pechuga y pata, de aves suplementadas con selenio orgánico e inorgánico.

2. CAPITULO 2

PARTE 1. Selenio dietario y performance animal. Efecto de la suplementación con selenio orgánico e inorgánico en la dieta de terminación de pollos para carne sobre la performance productiva y valores finales de pH, color, y pérdida de agua en la carne fresca.

2.1. INTRODUCCIÓN

La carne de pollo, un alimento de alto valor nutritivo y relativo bajo costo, ha visto incrementado su consumo en los últimos años tanto en la región como en el mundo. Las mayores exigencias de la industria procesadora de productos cárnicos de origen aviar y la mayor demanda del mercado consumidor por alimentos más sanos y con valor nutricional agregado ha llevado a la necesidad de obtener aves mejor terminadas y con una carne apta para los procesos tecnológicos aplicados y para satisfacer las expectativas del consumidor en cuanto a la salud. Las modificaciones que ocurren en el metabolismo del músculo en el periodo *post mortem* y en especial la caída del pH que determinan características en la carne como son el color, flavor, textura, la pérdida de agua, etc, afectan grandemente la posterior calidad de la carne. Esta caída está determinada principalmente por los depósitos de glucógeno muscular y la oxidación de los lípidos y proteínas musculares. Ambos parámetros pueden ser modificados mediante la alimentación. En este sentido la incorporación de selenio ha demostrado tener un efecto no solo como factor antioxidante, incrementando la actividad de la enzima GPx sino que también por su efecto similar a la insulina que actúa modificando el depósito de glucógeno hepático y la glicolisis tal cual fue estudiado en ratas por Stapleton (2000). Es por ello que en esta primera parte del trabajo nos planteamos estudiar el efecto de la suplementación de la dieta terminación de pollos (35 a 56 días) con selenio orgánico e inorgánico sobre la performance productiva y sobre los parámetros de calidad de la carne, pH, color, y capacidad de retención de agua, a las 24 horas *post mortem* en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius*.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1. Animales. Se utilizaron 200 pollos machos de la línea Ross de 1 día de edad, provenientes de planta de incubadora comercial. Se criaron sobre piso con cama de viruta de madera, en sala calefaccionada, con fotoperiodo de 23 horas de luz, 1 de oscuridad. Durante este periodo se les ofreció ración de iniciación a base de maíz - soja (PC, 21.9 %; EM, 2931 kcal/kg) y agua *ad libitum*. A los 35 días se seleccionaron 90 por homogeneidad de peso y sanidad y se alojaron de a 3 aves por jaula (10 jaulas por tratamiento) de 90 cm de largo por 90 cm de ancho, sobre piso de viruta de madera. Se mantuvo la temperatura controlada y el fotoperiodo de 23 horas de luz hasta la faena. Los animales se repartieron en 3 tratamientos de acuerdo a las dietas que recibieron hasta el sacrificio, a los 52 días; dieta base control (30 aves), dieta base suplementada con selenito de sodio (30 aves) y dieta base suplementada con seleniometionina (30 aves). A los 56 días las aves se sacrificaron previo ayuno de 7 horas según las normas establecidas por la CHEA, realizando el sacrificio por corte de la vena yugular hasta el desangrado total (3 min) de forma de causar el menor estrés posible al animal.

2.2.2. Dietas experimentales. Se formularon 3 dietas; a) Dieta base (maíz/soja), considerada dieta control; b) dieta base suplementada con selenio inorgánico, selenito de sodio 0,3 ppm; c) dieta base suplementada con selenio orgánico, seleniometionina, 0,3 ppm. Las dietas se formularon isoproteicas e isoenergéticas calculados a partir de los datos de tablas de composición de alimentos del INRA (1989). La composición porcentual de las dietas se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Composición porcentual de las dietas

Items (%)	Dietas experimentales		
	Control	SeMet (0,3 ppm Se)	SeNa (0,3 ppm Se)
Maíz molido	60	60	60
Harina de soja	32,5	32,5	32,5
Harina de carne y hueso	4,2	4,2	4,2
Carbonato de calcio	1,00	1,00	1,00
Fosfato bicálcico	0,8	0,8	0,8
Aceite de girasol	0,5	0,5	0,5
Sal	0,3	0,3	0,3
Lisina	0,25	0,25	0,25
Dl-Metionina	0,1	0,1	0,1
Premix (*)	0,25	0,25	0,25
Composición química			
Proteína cruda, (%) (**)	20,0	20,0	20,0
Energía metabolizable, Kcal/kg)	2931	2931	2931
Fibra cruda, (%) (**)	3,7	3,7	3,7
Ca, (%) (**)	1,2	1,2	1,2
P, (%) (**)	0,42	0,42	0,42
Se, (ppm) (**)	0,01	0,29	0,30

(*) Premezcla vitamínico-mineral para broilers. Aporte: (cada 1,5 kilogramos de la dieta): 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 and 0,1 g de Se. (**) Valores analíticos.

2.2.3. Determinación de los parámetros de respuesta animal

2.2.3.1. Consumo de alimento: se determinó el consumo de alimento individual diariamente por diferencia entre la cantidad agregada y la cantidad sin consumir cada 24 horas.

2.2.3.2. Peso vivo: se determinó el peso individual al inicio (35 días) y al finalizar el protocolo (52 días). El peso vivo previo a la faena se determinó luego de un ayuno de 7 horas. La ganancia de peso se calculó por diferencia de ambas medidas

2.2.3.3. Eficiencia de conversión: se determinó como el cociente entre el alimento consumido y la variación de peso vivo en forma individual, en el periodo del experimento (kg de alimento consumido /kg de ganancia de peso)

2.2.4. Determinaciones post mortem

2.2.4.1. Peso de hígado. Inmediatamente al sacrificio (3 min), se extrajo el hígado al cual se le retiró la vesícula biliar y se tomó el peso fresco de hígado y se relacionó al peso vivo de cada ave.

2.2.4.2. Peso de la grasa abdominal. Las carcasas se dejaron 24 horas a 4° C, para retirar la grasa abdominal y determinar el peso (Ricard *et al.*1983).

2.2.4.3. Rendimiento de carcasa. A las 24 horas *post mortem* se pesaron las carcasas, mantenidas a 4 °C, y se relacionó al peso vivo del animal según:

$$\% \text{ Rendimiento de carcasas} = \text{peso de carcasa, kg} * 100 / \text{peso vivo, kg}$$

2.2.4.4. pH último (24 horas). Se determinó sobre los músculos *Gastrocnemius* y *Pectoralis* derecho e izquierdo. Las determinaciones se realizaron con phmetro de penetración LT Lutron pH-201.

2.2.4.5. Color (24 horas). El color de la carne de los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* derecho e izquierdo se determinó de acuerdo al método de CIELAB (1976) con colorímetro Minolta Lab CR-10, con iluminante estándar D65, ángulo xxx, a las 24 horas *post mortem* sobre ambos músculos estudiados. De acuerdo a este método la variable L* se define en una escala de 0, (cero) correspondiente a ausencia de luz a 100 (cien) correspondiente a luz blanca. La variable a* se determina en base a una escala donde los valores negativos corresponden al color verde y los valores positivos indican coloración rojo. En la escala correspondiente a b* los valores negativos corresponden al color azul y los valores positivos corresponden a la coloración amarillo. A partir de estos parámetros se determinó la saturación en color o pureza, croma C*, que estima la concentración de color en una

escala de 0 coloración menos intensa a 60 coloración más intensa; y el *hue* (H°) o ángulo de viraje del color, definido técnicamente como el grado en el cual un estímulo puede ser descrito como similar o diferente de los estímulos como rojo, amarillo y azul. a través de una escala angular que comienza en el 0° como el color rojo hasta los 90° en el color amarillo (Ponsano *et al.*, 2004).

2.2.4.6. Pérdida de agua (*drip loss*, 24 horas). A las 24 horas *post mortem* se tomaron muestras de 2.5 gramos del músculo *Pectoralis* y *Gastrocnemius* derechos e izquierdos, se pesaron y se suspendieron en bolsas de polietileno cerradas, en ambiente refrigerado a 4°C . A las 24 horas se pesaron nuevamente. Se determinó la capacidad de retención de agua como la pérdida de agua por diferencia de peso en ambos tiempos (Penny, 1967).

2.2.2.7. Análisis estadístico. El análisis estadístico de los datos se realizó por el programa NSCC 2004. Los datos de performance y calidad de carne se analizaron por ANOVA de una vía seguida de Test de Tukey & Kramer, para evaluar el efecto de la fuente de selenio en los parámetros productivos, grasa abdominal, rendimiento de faena y peso de hígado y en los parámetros de calidad, pH, color y pérdida de agua.

2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.3.1. Suplementación con selenio y performance productiva. En esta etapa del trabajo se determinaron los parámetros de crecimiento, peso vivo, ganancia de peso, consumo acumulado en el periodo de experimentación (35 a 52 días) y peso de faena. Se calculó además la eficiencia de conversión alimenticia la que se expresó en g de ganancia de peso/g de consumo de alimento. Se avaluó además el rendimiento de carcasa como el cociente entre el peso eviscerado de la carcasa y el peso vivo; se determinó el peso de hígado (al que se le extirpó la vesícula biliar) y el peso de grasa abdominal. Los datos encontrados se observan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Efecto de la suplementación con selenio (0,3 ppm) como selenio metionina (SeMet) o selenito de sodio (Se-Na) en una dieta de terminación de pollos parrilleros (35-52 días) sobre los parámetros de performance animal: peso vivo final (g a los 52 días); consumo de alimento (g/d), ganancia de peso diaria promedio (g/d), eficiencia de conversión (g ganancia / g alimento) durante el periodo 35-56 días; and peso de hígado y grasa abdominal (g) y como porcentaje del peso vivo a los 52 días.

Dietas experimentales				
Items	Control	SeMet	SeNa	P
Peso vivo final, g	3770±106	3837±95	3792±103	0,89
Consumo diario promedio, g/d	148,0±1,4 a	140,5±1,6 b	150,5±1,8 a	0,001
Ganancia diaria promedio, g/d	74,8±2,7	77,4±2,6	75,7±2,9	0,80
Eficiencia de conversión, g/g	0,50±0,02	0,55±0,02	0,50±0,02	0,08
Peso de hígado, g	56,5±1,9	57,4±3,1	54,4±1,3	0,62
Peso de hígado, % peso vivo	1,58±0,04	1,59±0,08	1,65±0,03	0,62
Grasa abdominal, g	52,0 ±4,9	41,8 ±5,4	47,5±2,9	0,28
Grasa abdominal, % peso vivo	1,46±0,14	1,17±0,15	1,44±0,07	0,20
Rendimiento de carcasa, % ^a	74,3±3,1	77,9±1,0	77,6±1,0	0,36

*Los datos representan la media± SEM de n = 10 (3 aves por jaula). Las diferencia entre las dietas fueron analizadas por ANOVA de una vía seguida de Test de Tukey &Kramer (p<0,05). Datos seguidos de letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre las dietas. ^a rendimiento de carcasa calculado como el peso eviscerado *100 dividido por el peso vivo.*

La suplementación con selenio no afectó el peso vivo, la ganancia de peso ni la eficiencia de conversión, mientras que la suplementación con selenio orgánico (seleniometionina) permitió disminuir el consumo diario de los animales, sin afectar el peso vivo ni la eficiencia de conversión. Resultados similares fueron encontrados por Yong-Xia *et al.* (2011) y por Tavarez (2014), quienes no reportaron diferencias

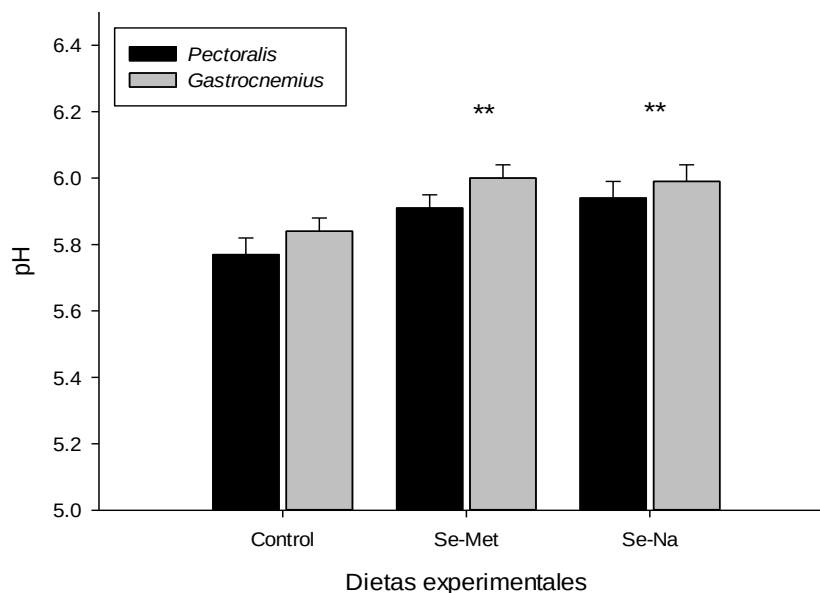
en ganancia diaria, eficiencia de conversión ni consumo al comparar performances en pollos parrilleros consumiendo dietas control carente en selenio, con las suplementadas con 0,15 ppm de selenio como SeMet o fuentes inorgánicas. Resultados estos que coinciden con los reportados por Choct *et al.* (2004), Payne y Southern (2005), Edens *et al.* (2001) y Zhou X; Wang Y. 2011. Por el contrario Rutz *et al.* (2003), en acuerdo con los resultados reportados por Choct *et al.* (2004), establecen que el uso de selenito de sodio mejora la eficiencia en pollos Ross pero que la suplementación con fuentes orgánicas mejoraba en 27 puntos dicha eficiencia (2,29 a 2,02). Esto podría explicarse en parte, por una mayor necesidad de selenio en las líneas de pollos mas recientes, cuyo rápido crecimiento dependería del selenio dietario. Por otro lado, Zhan *et al.* (2011), encontraron que la suplementación con selenio permite una mejora en el peso vivo final, la ganancia diaria y la eficiencia de conversión a los 38 días de vida. Este resultado podría explicarse por el efecto del selenio sobre la glándula tiroides incrementando la eficiencia de conversión (Arthur, 1992), asociado a un mejor emplume de las aves que les permite reducir el gasto energético para mantener el calor corporal. Por el contrario, incorporando dosis de suplementación superiores a 8 ppm como Na₂SeO₃ (Moksens y Norheim, 1982 y Echevarria *et al.*, 1988) tuvieron un efecto negativo sobre el consumo y la ganancia de peso, lo que estaría indicando un efecto tóxico del selenio (Ryu *et al.*, 2005). En lo que respecta a peso de hígado y peso de grasa abdominal no se encontró efecto de la suplementación de la dieta ni de la fuente utilizada, resultados que concuerdan con los reportados por Swain *et al.* (2000) y con los de Rajashree *et al.* (2014), quienes no reportaron diferencias significativas en peso vivo, peso de hígado o grasa abdominal.

La información sobre el efecto en rendimiento de carcasa y suplementación con selenio es limitada y contradictoria. Payne y Southern (2005) no reportaron diferencias debido a la suplementación ó a la dosis de selenio, mientras que Upton *et al.* (2008) encontraron que la suplementación podría reducir el rendimiento de carcasa. De acuerdo a los datos encontrados en nuestro trabajo tampoco se pudo constatar un efecto de la suplementación o la fuente utilizada sobre el rendimiento de

carcasa eviscerada, resultados que coinciden con los encontrados por Downs *et al.* (2000), Payne y Southern (2005), Dhumal *et al.* (2013) quienes no obtuvieron efecto de la dosis ni de la fuente. Choct *et al.* (2004) determinaron que la suplementación con 0,1ppm de selenio y vitamina E no tuvo efectos sobre el rendimiento de carcasa, en contraste a un trabajo previo presentado por Choct *et al.* (2004) donde la suplementación con selenio orgánico mejoró el rendimiento de carcasa. En otro trabajo, Naylor *et al.* (2000) y Krstic *et al.* (2011) encontraron que los animales suplementados mostraron mayor peso eviscerados que el control, pero sin afectar el peso de pechuga, muslo, alas y drumets. Este resultado podría estar relacionado al efecto del selenio sobre la función de las hormonas tiroideas (Choct *et al.* 2004), incrementando la eficiencia de utilización de los nutrientes (Arthur *et al.* 1992) y a la mejora del emplume debido a la acción de la selenocisteína sobre la formación de la pluma (Edens 1996).

Mahan *et al.* (1995) atribuyó este aumento del peso eviscerado a la habilidad del músculo de atraer y retener mayor cantidad de agua dada la mejor integridad del tejido muscular por la acción antioxidante GPx favorecida por un aumento de selenio en la dieta.

Suplementación con selenio y calidad de carne. La calidad de la carne se define básicamente en función de los siguientes factores pH, color, y capacidad de retención de agua. Estas determinaciones se realizaron a las 24 horas *post* sacrificio en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius*. Los resultados de la determinación del pH de los músculos *Pectoralis* derecho e izquierdo en la zona media del músculo y del *Gastrocnemius* derecho se muestran en la Figura 1.



Efectos principales

Dietas $p < 0,001$ SeMet, SeNa > Control

Músculos $p < 0,02$ GM > PM

Figura 1. Efecto de la suplementación con selenio (0,3 ppm) como selenio metionina (SeMet) o selenito de sodio (SeNa) en una dieta terminación de pollos parrilleros (35-52 días de edad) sobre el pHu en los músculos *Pectoralis* (PM) and *Gastrocnemius* (GM) a las 24 horas *post mortem*.

Los datos representan las medias $\pm$ SEM para $n=18$. Las determinaciones de pH en cada animal se realizaron en ambos lados en cada músculo. Los efectos principales para las dietas y músculos fueron analizados por ANOVA y posterior GLM con test de Tukey-Kramer test para la comparación ($p < 0,05$).

Las barras con diferentes signos (**) indican diferencias significativas según ANOVA de una vía seguido de test de Tukey-Kramer test ($p > 0,05$).

La suplementación con selenio modificó significativamente el pHu, en los dos músculos estudiados, produciendo valores cercanos a 5.9 en las dietas suplementadas y 5.7 en la dieta control para el músculo *Pectoralis* y de 6.0 en las suplementadas y 5,7 en la control para el músculo *Gastrocnemius* respectivamente. Existe disparidad entre los autores en lo que refiere a la incidencia de la suplementación con selenio y el efecto que las fuentes producen sobre el ph de la

carne. Tavaréz (2014) no encontró efecto sobre el pH salvo el día del sacrificio donde las fuentes orgánicas mostraron mayor pH (6.08) que las inorgánicas (6.18). Sin embargo asume que esta diferencia de pH en la pechuga el día del sacrificio es debido a errores de medida ya que esta diferencia no se mantuvo en días siguientes. Peric *et al.* (2009), al igual que Oliveira *et al.* (2014) comparó la suplementación con fuentes orgánicas e inorgánicas y concluyó que los tratamientos no causaron diferencias significativas del pH.

Según los trabajos de Dhumal *et al.* (2013) los niveles dietarios de selenio orgánico e inorgánico no afectaron el pH de la pechuga en ningún momento de la cría. Sin embargo el tratamiento no suplementado presentó un pH un poquito más alto sin llegar a niveles inaceptables ni alteraciones en el color de la carne. Por el contrario Li *et al.* (2011) determinaron que en el grupo suplementado con selenio el pH inicial y final (24 h) fue mayor en el grupo selenio deficiente. De acuerdo con los datos aportados por Rajashree *et al.* (2014), la suplementación disminuyó el pH de la carne (5,2 -5,5 contra 5.8 control) lo que permite pensar en una mejor conservación de la carne y mayor vida útil. (Dou *et al.* (2009). Los valores de pH final encontrados en nuestro trabajo estarían indicando una glicólisis normal ya que fueron superiores a 6,00, valor indicado por Totosa *et al.* (2007) y muy similares a los encontrados por Duclos *et al.* (2007) donde los pH últimos variaron entre 5,9 y 6,0. Estos valores son consistentes con los valores reportados por Li *et al.* (2011) y Oliveira *et al.* (2014).

El pH es uno de los factores de mayor influencia en la pérdida de agua. El pH bajo disminuye la habilidad de las proteínas para retener el agua y disminuye la repulsión electrostática entre las filamentos, y por lo tanto reduce los espacios donde retener el agua. (Macit *et al.* 2003). Dado que existe una correlación negativa entre la pérdida de agua y los valores de pH (Hull-Lonnergan *et al.*, 2002), en la cual pH más bajos producen un aumento en la pérdida de agua de la carne, sería de esperar efecto positivo sobre la capacidad de retención de agua. La pérdida de agua por su parte

afecta principalmente la presentación de los productos al consumidor y la capacidad para ser procesados por lo cual se ha vuelto un factor de importancia económica llegando a causar hasta el 3% de pérdida del rendimiento en las presentaciones de pollo trozado, además de una pérdida en nutrientes que son arrastrados con el agua que se desprende y compromete la vida útil del producto fresco (Tavarez, 2014). En este trabajo se evaluó la pérdida de agua en los dos músculos estudiados, *Pectoralis* y *Gastrocnemius*, a las 24 horas *post mortem* y los resultados obtenidos se presentan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Efecto de la suplementación con selenio orgánico (SeMet) e inorgánico (SeNa) en una dieta de pollos parrilleros recibida dos semanas previo al sacrificio sobre la pérdida de agua a las 24 horas *post mortem* en el músculo *Pectoralis* (PM) y el músculo *Gastrocnemius* (GM).

Músculos	Dietas experimentales			P
	Control	SeMet	SeNa	
PM	2,09± 0,25 a	1,28 ± 0,11 b	1,22 ± 0,22 b	0,05
GM	1,73± 0,20 a	1,29 ± 0,07 b	1,22 ± 0,10 b	0,05

Efectos principales				
Dietas	Control	SeMet	SeNa	0,01
Músculos	PM	GM		
				NS

Los datos representan las medias ± SEM de n=18. Las letras minúsculas indican diferencias significativas entre los tratamientos. (Control, SeMet o SeNa)

La pérdida de agua fue significativamente reducida en los tratamientos suplementados tanto con la fuente orgánica como con la inorgánica en ambos músculos a las 24 horas *post mortem*. Estos resultados están en la misma línea que los reportados por Downs *et al.* (2000), Li (2011) y Zhou y Wang (2011) quienes reportaron una menor pérdida de agua al suplementar con selenio, independientemente de la fuente o la dosis utilizada, al compararse con dietas deficientes en este mineral. Mikulsky *et al.* (2009) encontraron resultados similares

con ambas fuentes al suplementar dietas a pavos. Existe disparidad de resultados entre los diferentes autores sobre el efecto de la suplementación con selenio respecto a las fuentes y dosis utilizadas. Por su parte Yong-Xia, *et al* (2011), Peric *et al.* (2009) y Deniz *et al.* (2005) solamente encontraron reducción de la pérdida de agua en la suplementación con fuentes orgánicas. Mahan *et al.* (1999) reportó disminución de las pérdidas del 13,7% en cerdos y Downs *et al.* (2000) y Hess *et al.* (2003) reportaron una disminución del 47% de la pérdida de agua en pollos a las 24 horas *post mortem*, mientras que Naylor *et al.* (2000) encontraron que la suplementación con levaduras enriquecidas comparado con selenito de sodio provocaron una disminución del 20% al 27%. Factores como la fuente de selenio y el tiempo de conservación de la carne tuvieron claros efectos, demostrando que la pérdida de agua en el músculo fresco fue superior en el grupo control respecto a los suplementados, sin embargo no se observaron diferencias entre las dosis 0,30 y 0,50 ppm ni a la fuente utilizada, resultados que no concuerdan con los encontrados por Choct *et al.* (2004). Este desacuerdo puede estar relacionado a diferencias entre los métodos utilizados para la determinación de la pérdida de agua (Miezeliene, *et al.* 2011). Upton *et al.* (2008) determinaron una mayor pérdida de agua al suplementar las dietas con selenio inorgánico (selenito de sodio) en relación a las fuentes orgánicas y las no suplementadas a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas. Estos autores expresan que la mayor pérdida de agua puede estar asociada a un proceso de deterioro oxidativo pro-oxidante en las aves alimentadas con selenito de sodio o a un efecto del selenito que facilita el deterioro de las membranas celulares y por tanto la pérdida de agua.

Otro atributo de la calidad de la carne de ave, el color, se determinó en este trabajo en respuesta a la suplementación con selenio. El color de la carne fresca de los músculos, *Pectoralis* y *Gastrocnemius* se evaluó según los parámetros L^* , a^* y b^* , y se estimaron los valores de Croma y *hue* y los resultados se presentan en el Cuadro 5. La suplementación con la fuente orgánica provocó coloraciones menos luminosas y mayor enrojecimiento que la dieta control o la suplementada con la fuente inorgánica. Este efecto fue significativo sólo en el músculo pectoral. No se encontraron efectos para el color verde-amarillento, determinado por la variable b^* .

De la misma forma la suplementación con selenio orgánico determinó una disminución de la proporción rojo-amarillo (*hue*) solo en el músculo *Pectoralis*. La suplementación con selenio no afectó la saturación de color (Croma; C*) en ninguno de los dos músculos estudiados (Cuadro 4).

Cuadro 4. Efecto de la suplementación con selenio (0,3 ppm), orgánico (seleniometionina; SeMet) o inorgánico (selenito de sodio; SeNa), en una dieta terminación (35 a 52 días) de pollos parrilleros sobre el color medido como L*, a*, b*, sobre el tono de color (ángulo hue; H°) y sobre la saturación (Croma; C*) en los músculos *Pectoralis* (MP) y *Gastrocnemius* (MG) a las 24 horas *post mortem*.

Dietas	Músculo	L*	a*	b*	H°	C*
Control	MP	52,5 ± 1,1 a	1,28 ± 0,2 b	10,5± 0,8	1,46 ± 0,39 b	10,6± 0,8
SeMet	MP	45,7 ± 0,6 b	2,89± 0,4 a	12,5± 0,8	1,34 ± 0,02 b	12,9± 0,8
SeNa	MP	50,4 ± 1,3 a	1,73± 0,4 b	10,6± 0,9	1,41 ± 0,02 ab	10,7± 0,9
P		0,001	0,004	0,17	0,004	0,11
Control	GM	53,3 ± 1,1	3,38± 0,8	13,2± 0,9	1,33± 0,05	13,8±0,9
SeMet	GM	55,1 ± 0,9	4,73± 0,8	13,5± 1,2	1,24± 0,04	14,4±1,3
SeNa	GM	55,3 ± 0,9	5,10± 0,9	11,5± 1,0	1,17± 0,06	12,8±1,2
P		0,31	0,32	0,36	0,12	0,62

Efectos principales

Dietas		Músculos	
L	P<0,05 SeMet<control y SeNa	L	P<0,01 MG > MP
a*	P<0,01 SeMet > control	a*	P<0,01 MG > MP
b*	NS	b*	NS
H°	P<0,007 SeMet y SeNa < control	H°	P<0,001 MG < MP
C*	NS	C*	P<0,01 MG > MP

Los datos representan la media ± SEM de n = 18. Los principales efectos se analizaron mediante ANOVA con un procedimiento GLM y la prueba de Tukey-Kramer para dietas y músculos (P> 0,05). Los valores seguidos por diferentes letras minúsculas en cada columna indican diferencias significativas entre las dietas para cada parámetro de color en cada músculo por ANOVA unidireccional seguido por una prueba de Tukey-Kramer (p <0,05).

El color es un atributo importante que muchas veces determina la aceptabilidad de los consumidores quienes asumen el color como un sinónimo de frescura y validez de la carne por lo cual muchas veces están dispuestos a pagar más por cortes de carne de pollo de color mas atractivo (El Rammauz *et al.*, 2004). Existen varios factores que impactan en el color tales como el pH, concentración de mioglobina y su estatus oxidativo, nitritos entre otros (Fletcher, 1999, Downs *et al.*, 2000). En lo que respecta al atributo color de la carne existe variaciones en lo reportado por los diferentes autores. Ryu *et al.* (2005) y Jun-Gang Li (2011) no encontraron efecto de la suplementación en ninguno de los parámetros estudiados (L, a y b). Por el contrario, Fletcher (1999), Edens *et al.* (2000) y Cao *et al.* (2001), trabajando en carne de pollo encontraron que la suplementación de las dietas con selenio orgánico originaba carnes más rojas en comparación con los grupos control y las suplementadas con fuentes inorgánicas. Resultados similares fueron encontrados al suplementar dietas de terminación de cerdos. (Mahan *et al.*, 1999, Edens, 1997, Downs *et al.*, 2000). La mayor biodisponibilidad del selenio orgánico, fue probablemente la causa de la mejor coloración, ya que animales alimentados con selenio orgánico presentaban carne mas roja, (mayor a*) y que el color tiende a incrementarse con la dosis de selenio (Tavarez, 2014). Esto lleva a pensar en una menor incidencia de los deterioros por oxidación y por ende una menor degradación de la mioglobina durante el establecimiento del rigor mortis asociados a mayor frescura (Cao *et al.*, 2001) mejorando o prolongando su vida de almacenamiento. No se encontró efecto de la suplementación ni de la fuente de selenio sobre el parámetro luminosidad. Resultados que se oponen a los reportados por Miezeliene, 2011 y por Tavarez, 2014, donde la suplementación con fuentes orgánicas de selenio disminuyeron significativamente la luminosidad de la carne en fresco. Joksimović *et al.* (2012), por el contrario, determinaron un efecto significativo de los diferentes niveles de selenio (0,15 y 0,5 mg/kg) sobre la luminosidad en carne de pollo fresca y conservada. El parámetro amarillamiento b*, no fue afectado, resultado que no concuerda con los reportados por Cao *et al.* (2001), quien encontró valores mucho más bajos en b* en animales alimentados con selenio orgánico. En este trabajo el valor de b* tiende a disminuir con la dosis de selenio.

2.4 CONCLUSIONES

En el presente trabajo se estudiaron los efectos de la suplementación con selenio orgánico e inorgánico en dietas terminación para pollos sobre los parámetros de performance productiva y calidad de la carne fresca. De acuerdo a los datos encontrados podemos concluir que la suplementación con selenio orgánico (0,30 ppm como seleniometionina) disminuyó significativamente el consumo sin afectar el peso final ni la eficiencia de conversión. La suplementación permitió obtener pH 24 horas, mas alto que la dieta control, manteniéndose en el rango de valores aceptables y disminuir así la pérdida de agua, cualidad que favorece la calidad de la misma para ser conservada o procesada. Esto asociado a una mejor coloración, carnes más rojas (mayor a^*) y oscuras (menor L^*) y tono más disminuido (menor H°) en el músculo *Pectoralis* daría a esta carne de ave mejores atributos para lograr una mejor calificación y aceptación por parte del consumidor.

3. CAPITULO 3

PARTE 2. Selenio dietario y metabolismo del glucógeno y lactato asociados a la calidad de carne. Efecto de la suplementación con selenio orgánico e inorgánico en la dieta de terminación del pollo parrillero sobre la cinética post mortem del pH, el color y la modulación del metabolismo del glucógeno y lactato

3.1 INTRODUCCIÓN

La alimentación brindada a los animales en el periodo previo a la faena puede determinar variaciones importantes y a veces determinantes en algunos atributos de la calidad de la carne. Así la combinación de alimentos, sus interrelaciones y los aditivos incluidos en la dieta modifican aspectos tales como el pH, color, capacidad de retención de agua entre otros (Cañeque *et al.*, 1989, Beriain, 1998, Owens *et al.*, 2000). En este sentido, la alimentación puede afectar las reservas de glucógeno muscular y por consiguiente el pH final alcanzado y la velocidad en que este desciende en el periodo post mortem. De acuerdo con (Stapleton, 2000) el selenio cumple funciones similares a la insulina en el organismo por lo que es de esperar su influencia en la cantidad y tipo de glucógeno depositado en el músculo. Esta influencia estaría dada en función de la fuente de selenio orgánica o inorgánica y la dosis aportada. Por lo tanto es de interés para este trabajo estudiar el efecto de la suplementación de la dieta terminación con selenio orgánico o inorgánico sobre la cinética del color, pH y del metabolismo del glucógeno y lactato.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Animales Se partió de pollos Ross de un día de edad, los que se criaron sobre piso con cascara de arroz, con calefacción controlada y fotoperiodo de 23 horas luz y una de oscuridad. Se les ofreció dieta de iniciación a base maíz soja (PC, 21.9%; EM, 2931 kcal/kg) y agua ad libitum. A los 35 días se seleccionaron por homogeneidad de peso y sanidad y se alojaron en jaulas de 30cm de largo por 90 cm

de largo, en grupos de tres aves y 10 jaulas por tratamiento, en sala climatizada y fotoperiodo de 23 horas luz y 1 de oscuridad. Se distribuyeron al azar en tres tratamientos: dieta base control, dieta base suplementada con 0,30ppm de selenio como selenito de sodio y dieta base suplementada con 0,30ppm de selenio como seleniometionina. A los 56 días todas las aves se sacrificaron según las normas de la CHEA, previo ayuno de 7 horas. El sacrificio se realizó mediante corte en la vena yugular hasta el desangrado total (3 min) causando el menor estrés posible a los animales

3.2.2. Dietas experimentales: se utilizó la dieta control y las dietas suplementadas con selenio orgánico (selenio metionina) y selenio inorgánico (selenito de sodio). La formulación de las dietas es la descrita en la parte 1 de este doctorado.

3.2.3. Obtención de las muestras de hígado y de los músculos estudiados. Inmediatamente después del sacrificio, 3 minutos, se extrajo el hígado y se separó de la vesícula biliar, y se colocó en nitrógeno y luego a -30°C hasta su análisis. A los 10, 45, 90 minutos y 24 horas *post mortem*, se sacaron muestras de ambos músculos, *Pectoralis* y *Gastrocnemius* las que se colocaron en nitrógeno líquido y posteriormente a -30°C hasta su análisis. A los 10, 45, 90 minutos y 24 horas se determinó el pH de los músculos *Gastrocnemius* y *Pectoralis* derecho e izquierdo, sin removerlos de la carcasa. Las determinaciones se realizaron con pHmetro de penetración LT Lutron pH-201. A los 10, 45, 90 minutos y 24 horas *post mortem*, se determinó el color por el método CIELAB (1976), con colorímetro Minolta Lab CR-10. Las condiciones de medida fueron con iluminación de D65, y ángulo de observación de 10° y tamaño de apertura de 0,31 pulgadas en base a tres coordenadas: luminosidad (L^*), enrojecimiento (a^*) y amarillamiento (b^*).

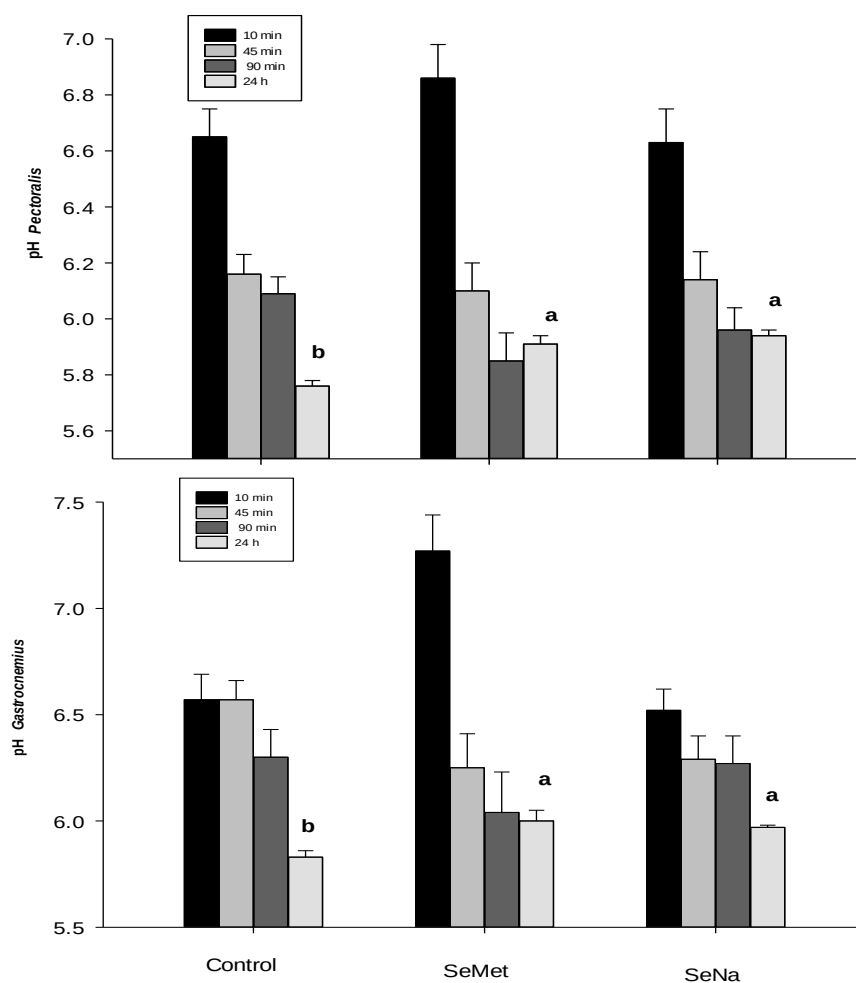
3.2.4. Determinación del contenido de glucógeno y lactato en el hígado y músculos. El glucógeno total se determinó por colorimetría según el método enzimático de la glucosa oxidasa (GOD) en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* a los 10, 45, 90 min y 24 horas *post* sacrificio y en el hígado a los 3 minutos *post* sacrificio. Se tomaron muestras de 2,0g de *Pectoralis*, 2,0g de hígado o 4,0 g de *Gastrocnemius* y se homogeneizaron en ácido clorhídrico 4N (8ml para *Pectoralis* e hígado y 7ml para *Gastrocnemius*) en tubos de vidrio con tapa

rosca. Luego se digirieron a baño maría, 100°C durante 2 horas. Una vez a temperatura ambiente se filtran con papel de filtro MN615. Del líquido filtrado se tomaron 2ml y se neutralizaron con 1.7ml de NaOH 2N. El contenido de glucógeno se determinó por espectrofotometría (como glucosa total equivalente de acuerdo al método de Bergmeyer *et al.* (1974) con kit colorimétrico (1001201 Springreact, Spain) comercial a 500 nm y se expresó como g de glucosa /kg de carne fresca. La determinación de lactato se realizó a partir de los mismos hidrolizados neutralizados descritos anteriormente, a los que se les realizó una dilución 1/2 con suero fisiológico. Se utilizó un kit colorimétrico de diagnóstico disponible comercialmente enzimático de lactato deshidrogenasa (LO-POD; 1001330; Spinreact, Spain). La concentración de lactato se determinó contra curva estándar a 505 nm, y se expresó como g de lactato/kg de carne fresca.

Análisis estadístico. Los datos se analizaron con el programa NCSS, 2007 (NCSS, 329 North 1000 East, Kaysville, UT 84037). Para evaluar el efecto de la fuente de selenio, el tipo de músculo y tiempo *post mortem* sobre la cinética de pH, del color, del glucógeno y lactato, se utilizó ANOVA de medidas repetidas seguidas del Test de Tukey & Kramer ($p < 0,05$). Para evaluar el efecto de la dieta sobre el contenido de glucógeno y de lactato en hígado se utilizó ANOVA de una vía seguida de Test de Tukey & Kramer. ($p < 0,05$).

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1. Selenio dietario y cinética *post mortem* del pH. Se determinó la caída del pH a los 10, 45, 90 minutos y 24 horas *post mortem* de dos músculos, uno mayormente glicolítico (*Pectoralis*) y uno mayormente oxidativo (*Gastrocnemius*), en respuesta a la suplementación con selenio orgánico e inorgánico en una dieta terminación recibida en el periodo de 35 a 56 días previos al sacrificio. Los resultados se presentan en la Figura 2.



Efectos principales

Dieta	Control	SeMet	SeNa		P
	6,25	6,26	6,24		0,45
Tiempo <i>p.m.</i>	10min	45min	90min	24hs	
	6,74 <i>a</i>	6,24 <i>b</i>	6,11 <i>c</i>	5,91 <i>d</i>	0,01
Músculo	<i>Gastrocnemius</i>		<i>Pectoralis</i>		
	6,33 <i>a</i>		6,17 <i>b</i>		0,01

Figura 2. Efecto del Se dietario suplementado como selenio metionina (SeMet) ó selenito de sodio (SeNa) sobre la cinética del pH a 10, 45, 90 min y 24 horas *post mortem* en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius*. Los datos representan la media $\pm$ SEM. Los efectos principales para dieta, músculo y tiempo *p.m.* fueron analizados por ANOVA para medidas repetidas. **a,b** sobre las barras, significan diferencia estadística a 24 horas por ANOVA de una vía y Test de Tukey & Kramer, para cada músculo a $p < 0,01$ y $p < 0,05$ para *Pectoralis* y *Gastrocnemius* respectivamente. **a,b**, significa diferencia estadística entre los tiempos y entre los músculos, como efecto principal.

En la Figura 2 se observa que la suplementación solo afectó el pH final (24 horas) en ambos músculos. Las aves suplementadas presentan pH mayor que las del grupo control en ambos músculos, sin que se observara diferencias entre la fuente orgánica e inorgánica, aunque siempre dentro de valores normales para la carne de pollo. Se observa un claro efecto del tiempo en la caída del pH en ambos músculos, y de los músculos entre sí.

No se encontraron diferencias en el pH de este músculo a los 10, 45 ni 90 min. El significado del pH a los 45 minutos estaría en la relación que tiene con otros parámetros de calidad como el color y la retención de agua (Totosaus *et al.*, 2007). También se ha observado que el pH último (pH 24 horas) no presenta diferencias a no ser que las carnes se encuentren en estados extremos como PSE. Woefel *et al.* (2002) realizaron un estudio donde midieron los valores de pH, color y retención de agua en carnes normales y pálidas en pollos de mataderos comercial obteniendo valores de pH 6,07, color L* 52,12 y pérdida de agua de 3,32 % en carnes normales y de pH 5,76 y L* 60,41 en color y pérdida de agua de 4,38 % para las carnes clasificadas como PSE.

El pH a 10 y 45 min serían claves por su relación con la retención de agua y el color, (Totosaus *et al.*, 2007) y dado que en este trabajo las dos fuentes tuvieron valores similares e iguales al control no es de esperar diferencias significativas en estos parámetros de calidad de la carne. La curva de declinación del pH en las aves suplementadas con selenio orgánico presentan una bajada inicial más rápida que las no suplementadas, semejante a la encontrada en aves suplementadas con glucosa lo que podría estar indicando una mayor cantidad de glucógeno hepático. Este efecto desaparece a los 90 minutos post-sacrificio y se invierte a las 24 horas, lo que nos estaría indicando una velocidad de degradación del glucógeno diferente según la suplementación o no con selenio. Según Nissen y Young (2006), la inclusión de glucosa y creatinina monohidrato en el agua de bebida durante períodos cortos previos al sacrificio permite acumular glucosa en el hígado la cual será utilizada en los períodos de estrés del animal que corresponden al ayuno y el transporte previos a la faena preservando el glucógeno muscular a niveles más altos. Este mayor

contenido de glucógeno en el músculo permitiría una degradación más rápida del mismo aumentando la concentración de ácido láctico y una menor capacidad buffer del músculo producto de la propia inclusión, provocando una caída inicial del pH más rápida que en aves no suplementadas. La curva de declinación del pH en las aves suplementadas con la fuente orgánica, presentan una rápida bajada inicial, semejante a la encontrada en aves suplementadas con glucosa lo que podría estar indicando una mayor cantidad de glucógeno hepático.

3.3.2. Selenio dietario y contenido de glucógeno y lactato en el hígado. Un incremento significativo en el contenido de glucógeno ($P < 0,05$) y lactato ($P < 0,04$) a los 3 minutos *post* sacrificio fue observado con la suplementación de selenio como SeNa (Cuadro 5). El selenio podría estar asociado a una restauración más rápida de los niveles de glucógeno en el hígado luego del ejercicio (Akil *et al.*, 2011, en ratas) pero dependiendo de las fuentes y de la dosis suplementada. Sin embargo, en oposición a lo reportado, Lizuka *et al.* (1993) observaron un efecto hipoglucémico con la suplementación de selenio, lo que podría ser debido a la aceleración del metabolismo del glucógeno y a la inhibición de la síntesis de glucosa en el hígado, sugiriendo así una disminución de la fuente precursora de la gluconeogénesis. En nuestro trabajo observamos un efecto sobre el lactato solo en el grupo suplementado con selenito de sodio. Los niveles de lactato están asociados a un incremento del ejercicio y según trabajos anteriores la suplementación permitiría incrementar la protección antioxidante en el músculo reduciendo la acumulación de lactato y de radicales libres (Akil *et al.*, 2011). La acumulación de lactato observada en nuestro trabajo puede ser explicada debido a un incremento en el ritmo de la glicólisis o a una disminución en la salida desde el hígado al torrente sanguíneo y al músculo en el momento del sacrificio.

Cuadro 5. Efecto de la suplementación con selenio (0,30 ppm) como selenio metionina (SeMet) ó selenito de sodio (SeNa) en una dieta de terminación (35 – 56 días de edad) en pollos parrilleros sobre el contenido de glucógeno (g glucosa/kg tejido) y lactato (g lactato /kg tejido) en el hígado a los 3 min *post mortem*

	Dietas experimentales			P
	Control	SeMet	SeNa	
Glucógeno, g/kg	6,20 ± 0,19 b	6,94 ± 0,16 ab	7,04 ± 0,34 a	0,05
Lactato, g/kg	1,09 ± 0,16 b	1,40 ± 0,10 ab	1,54 ± 0,07 a	0,04

Los datos representan la media ± SEM de n=18 aves. Valores seguidos por letras distintas en cada fila son diferentes significativamente por ANOVA de una vía seguido del Test de Tukey-Kramer ($P < 0,05$).

3.3.3. Selenio dietario y cinética de glucógeno y del lactato en los músculos. Se determinó el efecto de la suplementación de selenio en la degradación de glucógeno y contenido residual de lactato, en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius*, *post mortem*. Los resultados se presentan en las Cuadros 6 y 7.

Cuadro 6. Efecto de la suplementación con Selenio (0,3 ppm) como selenio metionina (SeMet) o selenito de sodio (SeNa) a una dieta terminación de pollos parrilleros sobre la cinética de del glucógeno (g/100 kg carnet) a los 10, 45, 90 min y 24 horas post mortem en los músculos *Pectoralis* (MP) and *Gastrocnemius* (MG).

Dietas experimentales				
Músculos	Tiempo p.m.	Control	SeMet	SeNa
MP	10min	9,20 ± 1,52 ab	6,65 ± 0,62 b	13,00 ± 1,21 a
	45min	7,49 ± 0,66	6,37 ± 0,68	6,45 ± 1,60
	90 min	7,58 ± 0,80	5,55 ± 1,08	6,06 ± 0,76
	24 hours	5,14 ± 1,38	5,56 ± 0,85	4,99 ± 1,62
MG	10 min	3,74 ± 0,29 b	4,26 ± 0,22 b	5,52 ± 0,40 a
	45 min	3,57 ± 0,70	4,08 ± 0,29	4,44 ± 0,75
	90 min	3,38 ± 0,31	4,37 ± 0,55	4,46 ± 0,51
	24 hours	3,25 ± 0,49	3,59 ± 0,87	3,64 ± 0,88
Efectos principales:				
Dieta: p<0,13				
Músculo: p<0,001 PM>GM				
Tiempo: p<0,001 10 min>45 min>90 min>24 horas				

Los datos representan la media ± SEM of n=8. Los efectos principales fueron analizados mediante ANOVA de medias repetidas incluyendo el efecto de la dieta y del músculo en los diferentes tiempos post mortem. Diferentes letras representan diferencias significativas a p<0,05 según ANOVA de una vía y test de Tukey-Kramer a cada tiempo *post mortem* para cada músculo.

La suplementación con selenio inorgánico, selenito de sodio, determinó el aumento significativo del glucógeno en el músculo pectoral y en el *Gastrocnemius* solo a los 10 min *post mortem*. No se observa efecto de la suplementación ni del tipo de fuente, orgánica o inorgánica, en el contenido de glucógeno en el músculo. Si se puede observar un comportamiento diferente de ambos músculos donde el músculo

Pectoralis presentó mayores concentraciones de glucógeno que el *Gastrocnemius*. Esto puede ser explicado debido a la diferente naturaleza de los músculos, glicolítico y oxidativo.

Cuadro 7. Efecto de la suplementación con selenio (0,3 ppm) como selenio metionina (SeMet) o selenito de sodio (SeNa) a una dieta para pollos parrilleros sobre la cinética del lactato (g/100 g carne) a los 10, 45, 90 min and 24 horas post mortem en los músculos *Pectoralis* (MP) y *Gastrocnemius* (MG).

Dietas experimentales				
Músculos	Tiempo p. m.	Control	SeMet	SeNa
MP	10min	0,63 ± 0,08 ^b	1,12 ± 0,17 ^{ab}	1,44 ± 0,19 ^a
	45min	1,22 ± 0,07 ^b	1,45 ± 0,10 ^b	1,77 ± 0,09 ^a
	90 min	1,87 ± 0,11	1,72 ± 0,15	2,00 ± 0,14
	24 horas	2,04 ± 0,15	1,88 ± 0,10	1,67 ± 0,10
MG	10 min	0,64 ± 0,14	0,62 ± 0,07	0,79 ± 0,07
	45 min	0,90 ± 0,17	0,84 ± 0,14	0,93 ± 0,02
	90 min	1,02 ± 0,10	1,13 ± 0,06	0,94 ± 0,06
	24 horas	1,13 ± 0,07 ^a	1,01 ± 0,04 ^a	0,96 ± 0,02 ^b

Efectos principales

Dieta: $p < 0,08$

Músculos: $p < 0,001$ PM > GM

Tiempo: $p < 0,001$ 24 horas > 90 min > 45 min > 10 min

Los datos representan la media ± SEM de $n=8$. Los efectos principales fueron analizados por ANOVA de medias repetidas, para la dieta, y el músculo en los diferentes tiempos post mortem. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas según ANOVA de una vía y test de Tukey & Kramer. ($p < 0,05$).

Se observa efecto significativo del tiempo en la degradación del glucógeno en ambos músculos ya que este se utiliza como fuente de energía en el proceso anaeróbico. Este efecto se mantiene desde los 10 min hasta las 24 horas post mortem. La concentración de lactato presento efecto significativo solo a los 10 minutos en el músculo *Pectoralis*, mientras que en el músculo *Gastrocnemius* este aumento se mantiene durante los 45 minutos *post mortem*. En lo que respecta al músculo de la pata la suplementación con selenio inorgánico solo se evidencia a las 24 horas *post mortem*, donde el contenido de lactato es significativamente mayor. La suplementación con selenio orgánico mostro un comportamiento similar al testigo en este músculo. El factor tiempo tiene clara incidencia en la producción de lactato, aumentando a medida que transcurre el tiempo *post mortem*. El depósito de glucógeno en el músculo se realiza a partir de dos formas fundamentales, el macro-glucógeno y el pro-glucógeno, que difieren en el contenido proteico, la solubilidad y el tamaño de la molécula. El pro-glucógeno contiene 10% de proteína, peso molecular de 400 kDa y es soluble en ácido, mientras que el macro-glucógeno es de mayor peso, menos de 1% de proteína y es insoluble en ácido (Lomako *et al.*, 1991). De acuerdo a los resultados encontrados por Adamo y Graham (1998), el pro-glucógeno es precursor del macro-glucógeno, según lo anterior cuando aumenta la cantidad de glucosa disponible en sangre y por tanto se activan los mecanismos de depósito de glucógeno, se estaría aumentando el contenido de macro- glucógeno en el músculo, siendo este más fácilmente disponible para la obtención de energía rápidamente. De acuerdo a lo anterior es probable que haya un efecto del selenio en la modulación de la reserva de glucógeno en el hígado durante el periodo *post mortem*.

3.3.4. Selenio dietario y evolución del color post mortem Se estudió la variación del color en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* de la carne de ave, de animales que recibieron una s. uplementación de selenio (0,30ppm) de origen orgánico e inorgánico, a los 10, 45, 90 min y 24 horas post mortem. Los resultados encontrados se detallan en los Cuadro 8 y 9. En lo que respecta al color no hubo efecto de la suplementación en ninguno de los niveles estudiado, Si se observó el efecto del

tiempo sobre la luminosidad de la carne la cual tiende a disminuir con el tiempo (Ryu *et al.*, 2005). Resultados similares fueron encontrados por Jun-Gang Li *et al.* (2011) para quien el nivel de selenio suplementado no causó efecto en el color de la carne en ninguno de los tres parámetros estudiados (L, a y b). Tanto la oxidación de lípidos como la decoloración de la carne son consideradas las causas principales de pérdida de calidad de la carne de pollo durante el almacenamiento. La coloración más roja de la carne lleva a pensar en una menor incidencia de los deterioros por oxidación y mayor frescura (Cao *et al.*, 2001) mejorando o prolongando su vida de almacenamiento. Todos aspectos económicamente relevantes (Hess *et al.*, 2003) ya que contribuyen a una mayor calidad de carcasa y conservación de la carne y por lo tanto mayor aceptabilidad por el consumidor.

Cuadro 8. Efecto de la suplementación con selenio orgánico (selenio metionina SeMet) o inorgánico (selenito de sodio SeNa) en una dieta terminal (35 a 56 días) sobre la cinética del color medida como L, a*, b* (método CIELAB) en el músculo *Gastrocnemius* en cuatro tiempos *post mortem*, 10,45 90 min y 24 horas.

Tiempo	10 min			45 min			90 min			24 horas		
	L	a*	b*	L	a*	b*	L	a*	b*	L	a*	b*
Control	55,57	4,35	7,02	54,53	5,56	9,87	52,7	7,17	8,36	53,3	3,38	13,23
	±0,86	±0,54	±1,50	±1,06	±1,0	±1,47	±1,97	±1,12	±1,18	±1,13	±0,8	±0,88
SeMet	55,78	4,28	9,55	56,13	4,9	8,73	54,26	5,04	11,36	55,11	4,73	13,46
	±0,62	±0,63	±0,62	±0,96	±0,59	±1,55	±1,25	±1,10	±1,18	±0,93	±0,81	±1,22
SeNa	54,67	3,72	8,08	54,8	5,73	7,27	52,15	5,62	11,37	55,27	5,1	11,54
	±0,63	±0,53	±1,59	±1,17	±0,88	±1,61	±1,36	±0,9	±1,07	±0,87	±0,89	±1,03
P	0,51	0,69	0,40	0,53	0,75	0,51	0,59	0,35	0,13	0,30	0,32	0,38
Dietas	L			a*			b*					
Control	54,0± 0,87			5,06± 0,49			9,73 ± 0,73					
SeMet	55,32 ±0,48			4,73 ± 0,39			10,78 ±0,64					
SeNa	54,22 ±0,54			5,03 ± 0,41			9,57 ±0,72					
P	0,21			0,79			0,36					
Tiempo	L			a*			b*					
10 min	55,33 ± 0,40			4,10± 0,32 b			8,26 ±0,75 b					
45 min	55,18 ± 0,61			5,39 ±0,46 ab			8,58 ± 0,88 b					
90 min	53,05± 0,86			5,91± 0,61 a			10,44 ± 0,69 ab					
24 horas	54,56 ± 0,57			4,40 ±0,48 ab			12,74 ±0,61 a					
P	0,06			0,03			0,0001					

Los datos representan la media ± SEM de n=8 animales. Los efectos principales fueron analizados por ANOVA de medias repetidas por el método de GLM y test de Tukey-Kramer par alas Fuentes de selenio, tiempo post mortem y la interacción de fuente de selenio y tiempo. Medidas seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas ($P > 0,05$) entre las fuentes de selenio en un mismo tiempo e entre los tiempos según el test de Tukey-Kramer test. Las diferencias entre las fuentes en un mismo tiempo fueron analizadas por ANOVA de una vía y seguido de test de Tukey-Kramer. Letras diferentes implican diferencias significativas entre las fuentes ($p < 0,05$).

Tavarez (2014) reportó un efecto de la suplementación de selenio al determinar el color en etapas más avanzadas del almacenamiento de la carne de pollo, donde la fuente orgánica reportó valores más altos en la escala del rojo a los 3,5 y 7 días en comparación con la dieta no suplementada y la suplementada con la fuente inorgánica. Cao *et al.* (2001) encontraron que la suplementación con selenio orgánico originaba coloraciones más rojas en la carne y que esta tiende a incrementarse con la dosis de selenio esto sugiere una menor oxidación y mayor estabilidad de la grasa y la hemoglobina Según Edens *et al.* (2000) la causa de la mejor coloración de la carne es debido a la mayor biodisponibilidad de las fuentes orgánicas. Esto sugiere que el uso de una fuente orgánica limita las pérdidas económicas por decoloración de la carne. (Yang, *et al.* 2012). El parámetro amarillamiento b^* fue disminuido por el selenio de sodio en el músculo *Gastrocnemius*, resultado que concuerda con los reportados por Cao *et al.* (2001) quien encontró valores mucho más bajos en b^* en animales alimentados con selenio orgánico, en cuyo trabajo el valor de b^* (amarillamiento) tiende a disminuir con la dosis de selenio.

Cuadro 9. Efecto de la suplementación con selenio orgánico (selenio metionina SeMet) o inorgánico (selenito de sodio SeNa) en una dieta terminación (35 a 56 días) sobre la cinética del color medida como L, a*, b* (método CIELAB) en el músculo *Pectoralis* en cuatro tiempos *post mortem*, 10,45 90 min y 24 horas.

Tiempo <i>p.m.</i>	10 min			45 min			90 min			24 horas		
	L	a*	b*	L	a*	b*	L	a*	b*	L	a*	b*
Control	45,48 ±2,74	0,56 ±0,08	8,48 ±0,4 a	48,36 ±0,49	0,53 ±0,10	10,40 ±0,2 b	46,74 ±0,45	1,52 ±0,54	10,50 ±0,68	52,45 ±1,1 a	1,27 ±0,2 b	10,48 ±0,81
SeMet	48,74 ±0,31	0,76 ±0,19	6,81 ±0,4 b	48,26 ±0,46	0,71 ±0,09	9,84 ±0,3 a	47,70 ±0,69	0,64 ±0,11	10,49 ±0,26	45,74 ±0,3 b	2,89 ±0,4 a	12,44 ±0,78
SeNa	48,90 ±0,35	0,57 ±0,10	6,40 ±0,5 b	47,08 ±0,19	0,72 ±0,10	8,87 ±0,3 b	47,55 ±0,57	0,70 ±0,16	9,70 ±0,51	50,43 ±1,3 a	1,73 ±0,4 b	10,55 ±0,91
P	0,20	0,52	0,004	0,05	0,39	0,001	0,48	0,10	0,43	0,001	0,004	0,18
Dieta	L			a*			b*					
Control	48,26±0,80			0,97±0,15			9,97 ± 0,30 a					
SeMet	47,61± 0,29			1,25±0,16			9,90 ± 0,34 a					
SeNa	48,49±0,39			0,93±0,11			8,83 ± 0,34 b					
P	0,41			0,13			0,009					
Tiempo	L			a*			b*					
10 min	47,71 ±0,81 ab			0,63 ± b			7,23±0,28 c					
45 min	47,90 ± 0,23 ab			0,65± b			9,70± 0,18 b					
90 min	47,33 ± 0,33 b			0,96± b			10,23± 0,28 ab					
24 horas	49,50 ± 0,70 a			1,96 ± a			11,16±0,49 a					
P	0,0001			0,0001			0,0001					

Los datos representan la media ± SEM de n=8 animales. Los efectos principales fueron analizados por ANOVA de medidas repetidas y test de Tukey-Kramer para la dieta, tiempo *post mortem* y la interacción de fuente de selenio y tiempo. Medidas seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las fuentes de selenio en un mismo tiempo entre los tiempos según el test de Tukey-Kramer. Las diferencias entre las fuentes en un mismo tiempo fueron analizadas por ANOVA de una vía y seguido de test de Tukey-Kramer. Letras diferentes implican diferencias significativas entre las fuentes ($p < 0,05$).

CONCLUSIONES

La caída de pH solo fue afectada por el tiempo postmortem, sin que se evidenciara efecto de la suplementación que solo afectó el pH final, dando carnes con mayores valores de pH que el control, aunque siempre dentro de los rangos aceptables para la carne de pollo. La curva de declinación del pH de las aves suplementadas con selenio orgánico presenta una caída inicial más rápida efecto que se revierte a los 90 minutos y desaparece a las 24 horas, lo que puede explicarse debido a la mayor cantidad de glucógeno hepático presente al momento del sacrificio.

Respecto a la modulación del glucógeno muscular se observa el efecto de la suplementación solo a los 10 minutos postmortem, donde las dietas con selenito de sodio mostraron mayor concentración de glucógeno, efecto que desaparece a los 45 min. La suplementación con selenito de sodio sobre la curva de formación de lactato mostró efecto diferente según el tipo de músculo. En el Pectoralis (glucolítico) la mayor concentración de lactato solo se observó a los 10 min producto de la degradación del glucógeno más rápida y la mayor caída del pH, mientras que en el Gastrocnemius (oxidativo) este efecto solo se manifiesta a las 24 horas. La suplementación con selenio orgánico presentó un comportamiento similar al control. La incorporación de selenio en la dieta presentó un efecto similar al control en la modulación del color y la luminosidad del músculo Gastrocnemius, mientras que en el caso del Pectoralis la fuente inorgánica disminuyó los valores del b* (amarillento), presentando la fuente orgánica efecto intermedio al control.

4. CAPÍTULO 4

Parte 3. Selenio dietario, actividad de la GPx y su relación con la lipoperoxidación: efecto de la fuente de selenio, orgánica e inorgánica, sobre la oxidación de lípidos y proteínas, la actividad de la GPx y el contenido de selenio de la carne fresca y conservada.

4.1 INTRODUCCIÓN

Dentro de los atributos de calidad de la carne de ave, el color, flavor y la capacidad de retención de agua son los que más atención provocan en la aceptación del consumidor y en las exigencias de la industria (Gray *et al.*, 1996, Morrissey *et al.*, 1998 Tavarez 2014) Estos atributos están en gran medida determinados por la integridad de las membranas celulares, afectando la pérdida de agua y la consiguiente pérdida de nutrientes. La estabilidad de la membrana es principalmente afectada por el daño oxidativo provocado por los radicales libres sobre los componentes lipídico y proteicos de la carne (Gray, *et al.* 1996; Morrissey *et al.*, 1998; Daun y Åkesson, 2004; Descalzo *et al.*, 2005; Insani *et al.*, 2008).

La mayor pérdida de agua observada en carnes con procesos oxidativos se debe a la pérdida de la estructura de las proteínas. Además, se forman nuevos compuestos que resultan de la oxidación de los lípidos, que provocan la aparición de sabores y olores desagradables en el producto fresco y disminuyen su conservación y aptitud tecnológica (Barroeta y Cortinas, 2002).

El proceso oxidativo afecta el color de la carne por su efecto sobre la mioglobina, provocando decoloración de las pechugas, por ejemplo (Ryu *et al.* 2005), la cual origina coloraciones más pálidas, y que frecuentemente no son aceptadas por el consumidor (Livingston y Brown, 1981; Kennet *et al.*, 2005). El selenio como micronutriente esencial para el organismo, ha sido relacionado a la síntesis de complejos se-aminoácidos y se-proteínas y a su rol como antioxidante, formando parte de la enzima GPx (Naylor *et al.*, 2000, Choct *et al.*, 2004). Esta enzima es un antioxidante primario e importante componente de protección contra los radicales libres en las especies con metabolismo oxidativo y es crucial en el mantenimiento de

las células al catalizar la reducción del peróxido de hidrogeno e hidroperóxidos lipídicos. (Mahmoud *et al.*, 1997).

El objetivo de este estudio fue estudiar el efecto de la suplementación con selenio, orgánico e inorgánico, sobre la estabilidad oxidativa de los lípidos y las proteínas, el estatus antioxidante, a través de la actividad de la GPX y contenido de selenio en dos músculos, *Pectoralis* y *Gastrocnemius*, frescos y conservados.

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. Animales Se utilizaron 200 pollos machos de la línea Ross de 1 día de edad, obtenidos en la planta de incubadora comercial, que se criaron sobre piso con cama de cascara de arroz; en sala calefaccionada y fotoperiodo de 23 horas luz, 1 de oscuridad. Durante este periodo se les ofreció ración de iniciación a base de maíz -soja (PC, 21.9 %; EM, 2931 kcal/kg) y agua *ad libitum*. A los 35 días se seleccionaron 90 animales por homogeneidad de peso y sanidad y se alojaron de a 3 aves por jaula (10 jaulas por tratamiento) de 90 cm de largo por 90 cm de ancho, sobre piso de viruta de madera. Los animales se distribuyeron aleatoriamente en tres tratamientos; dieta base control, dieta control suplementada con selenito de sodio (0,30ppm de Se), y dieta base suplementada con selenio metionina (0,30ppm de Se). Se mantuvo la temperatura controlada y el fotoperiodo de 23 horas de luz hasta la faena. A los 56 días las aves se sacrificaron previo ayuno de 7 horas según las normas establecidas por la CHEA, realizando el sacrificio por corte de la vena yugular hasta el desangrado total (3 min) de forma de causar el menor estrés posible al animal.

4.2.2. Dietas: se utilizó una dieta base control (maíz-soja) y dos dietas base suplementadas con selenio orgánico (0,3 ppm; selenio metionina) y selenio inorgánico (0,3 ppm; selenito de sodio), cuya composición se encuentra descripta en la Parte 1, Cuadro 1.

4.2.3. Preparación y conservación de las muestras de carne: a las 24 horas *post mortem*, se extraen los músculos, *Pectoralis* y *Gastrocnemius*, y c/u se divide en tres y se colocan en bolsas al vacío, utilizando equipo de vacío doméstico. Una muestra de cada músculo se congela rápidamente, y las otras dos se mantuvieron durante 3 y 5, 7 días a 2 °C, y luego se llevaron a freezer a -30°C hasta su análisis.

4.2.4. Determinación de la oxidación de lípidos. Se siguió el método de Linch y Frei (1993) modificado, dicho método se basa en que durante la peroxidación se forman radicales libres (Roo-) que forman hidroperóxidos secundarios y bicloendoperóxidos que al descomponerse dan origen al malondialdehído (MDA) el cual en presencia del ácido tiobarbitúrico (TBA) da origen a un producto de coloración característica rosa que puede detectarse por colorimetría con longitud de onda de 530 nm. Una muestra de 1,5 gramos de músculo *Pectoralis* se homogeneizó (1 min a 12000 rpm) con 20 ml de KCl (Mallinckrodt 6858), 750 µl de EDTA y 300 µl de BHT. De éste se tomaron 4 ml y se centrifugaron a 2000 g por 10 min a 4 °C. Se tomó 1 ml del sobrenadante al que se le agregaron 2 ml de TBA-TCA (0,07g TBA, 7 ml de HCl 0,25M, 7 ml TCA 20%) y se llevó a ebullición 30 min, luego de lo cual se llevaron a hielo durante 5 min para cortar la reacción y posteriormente 45 min a temperatura ambiente. Una vez alcanzada la temperatura ambiente se le agregaron 2 ml de N-Butanol ppa, se vortexearon y se tomaron 2 ml del sobrenadante, se centrifugó nuevamente a 3000 g por 3 min y el sobrenadante se midió por colorimetría a A=535 nm. Los resultados se expresaron como mg de MDA/kg de carne.

4.2.5. Determinación de la oxidación de proteínas. Se realizó a partir de la cuantificación de los carbonilos por su reacción con la DNPH (2,4-dinitrofenilhidracina), con la resultante formación de una base de Schiff que produce la correspondiente hidrazona, cuantificable espectrofotométricamente a 360 – 385 nm. La determinación se realizó según el método de Mercier *et al.* (2004) al que se le realizaron algunas modificaciones. Partiendo del homogeneizado anterior se extraen 2 ml y se centrifugan a 3000 g por 10 min, 4 °C, posteriormente se agregan 2 ml de DNPH 20 mM (MERK 3080; 0,048g de DNPH + 12 ml de HCl 2M) y se incuban 1 hora a temperatura ambiente vortexeando cada 10 min, se agregan 2 ml de TCA 20% se deja reposar 15 min, vortexeando cada 5 minutos, se centrifuga a 2000

g durante 10 minutos y se separa el pellet. El pellet debe ser lavado 3 veces en una mezcla de etanol- acetato de etilo 1:1 y se centrifuga luego de cada lavado. Luego del tercer lavado se toma el pellet y se disuelve con 6 ml de Guanidina (FLUKA 50950; 573.8g de Guanidina hydrochloride en 1 L de KH_2PO_4 preparado a partir de 2.72 g en 1 L de agua deionizada); y se incuba a temperatura ambiente durante 15 min vortexeando cada 5 min. Se centrifuga a 2000g por 10 min y se mide la absorbancia del sobrenadante a $A=370$ nm, contra una blanco de homogeneizado mas 2 ml de HCl. La concentración de DNPH se calculó utilizando su coeficiente de extinción molar de 22000 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, y los resultados se expresaron en nmoles DNPH/mg proteína.

4.2.6. Determinación de la concentración de proteína: Para la determinación de la concentración de proteína en cada uno de los homeogeneizados se siguió el método de Stoscheck (1990) la concentración proteica se determino por absorbancia a una longitud de onda de 280nm en colorímetro Minolta CR-10 Colorimetro (konica Minolta Japon)) y se comparó con una curva estándar a partir de una solución madre de 10mg/ml de BSA (Sigma). Cada punto de la curva se midió por triplicado, y las medidas de absorbancia de las muestras se realizaron por duplicado y se extrapolaron sus concentraciones en base a la curva estándar.

4.2.7. Actividad de Glutation Peroxidasa GPx. La actividad de la Gpx se midió siguiendo el método descrito por De Vore y Greene (1982) y Gümzler y Flohé (1985). Se pesó 5g de muestra la que se homogeneizó en Ultra Turrax (IKA T18 basic) a 18.000 rpm durante 1 minuto con solución buffer de extracción (KH_2PO_4 50mM, EDTA 0,5 mM, pH7). Se centrifugaron a 2000g 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 colocó 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 50mM, EDTA 0,5 mM, glutatión reducido 1mM (Sigma Aldrich G4251, NADPH 0,15mM (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 µl de este medio en a 22°C junto con 20 µl del buffer de extracción en una cuba de cuarzo de 3ml y se midió la absorbancia a 340nm de longitud de onda. Para medir la actividad de las muestras se colocaron 1890µl del medio de reacción a 22°C y 20µl de filtrado y se determinó la oxidación del NADPH midiendo el descenso de la absorbancia a 340nm durante 3 minutos a intervalos de 30 segundos. Sabiendo que la unidad de de GPx se define como la cantidad de extracto requerido para oxidar 1 mol de NADPH/minuto, se calculo la concentración de NADPH utilizando su coeficiente de extinción molar a 22°C (6300 m⁻¹ cm⁻¹) y se expresó el resultado en µmoles/min/músculo y en nmoles de NADPH/min/mg proteína.

4.2.8. Contenido de selenio: Se tomaron muestras de 5g de cada músculo, *Pectoralis* y *Gastrocnemius*, 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, estas se disuelven sobre plancha térmica a temperatura de subebullición, en una solución de ácido clorhídrico 6N y posteriormente en ácido nítrico destilado 1N. El residuo se filtra y se lleva a matraz de 25ml y se enrasa con agua deionizada 18 Ohms. El Se total, se determinó por espectrofotometría de absorción atómica, con HG (Perkin Elmer, Analyst 300), utilizando modificadores de matriz en base a paladio (Cabrera *et al.*, 2010). El resultado se expresa como mg Se/kg de carne.

4.2.9. Análisis estadístico. Los datos se analizaron con el programa NCSS (NCSS software release 2006, 329 North 1000 East, Kaysville, UT84037, USA2011). Para evaluar el efecto de las fuentes de selenio, tipo de músculo y el tiempo de conservación sobre el deterioro oxidativo de lípidos y proteínas y sobre la actividad de la GPx se utilizó ANOVA de medidas repetidas seguido de Test de medias de Tukey & Kramer. Para evaluar el efecto de las fuentes dentro de cada músculo, se usó ANOVA de una vía y Test de Tukey & Kramer. Se usó un nivel de significancia de $p < 0,05$.

4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3.1. Estatus oxidativo de lípidos y proteínas en la carne fresca y conservada. Se evaluó el deterioro lipídico y proteico de la carne fresca y conservada a dos tiempos

de conservación, 3 y 7 días. Los resultados se presentan en el Cuadro 10 y 11. No se encontró un efecto principal de la suplementación de selenio, sobre el daño oxidativo de las lípidos o de las proteínas. Sin embargo, comparando las dietas dentro de cada músculo y a cada tiempo, la suplementación con selenio provoca menores valores de TBARS al tiempo cero en el músculo *Pectoralis* únicamente (Cuadro 10). Se observa un marcado efecto del tipo de músculo, siendo mayor los valores de TBARS en el músculo de la pata, independientemente de la suplementación, posiblemente por su naturaleza mayormente oxidativa del músculo *Gastrocnemius*. También el efecto tiempo de conservación fue significativo solo para TBARS, siendo mayor a medida que aumentan los días de conservación. No se halló efecto del músculo para el contenido de carbonilos, ni efecto del tiempo de conservación ($p>0,05$).

Cuadro 10. Efecto de la suplementación (0,3ppm) con selenio orgánico (seleniometionina; SeMet) o selenio inorgánico (selenito de sodio; SeNa) en una dieta de terminación (35 a 56 días de edad) de pollos parrilleros sobre la oxidación lipídica determinada como TBARS (mg MDA/kg carne) en la carne fresca y conservada al vacío (2°C; 0, 3 y 7 días *p.m.*; *post mortem*) en los músculos *Pectoralis* (MP) and *Gastrocnemius* (MG).

Músculos	Días <i>p.m.</i>	Dietas experimentales		
		Control	SeMet	SeNa
MP	0	0,30 ± 0,02 a	0,25 ± 0,02 b	0,26 ± 0,02 b
	3	0,31 ± 0,03	0,26 ± 0,04	0,23 ± 0,05
	7	0,33 ± 0,07	0,25 ± 0,03	0,23 ± 0,02
MG	0	0,25 ± 0,02	0,34 ± 0,06	0,36 ± 0,07
	3	0,38 ± 0,05	0,40 ± 0,04	0,35 ± 0,04
	7	0,39 ± 0,03	0,39 ± 0,04	0,35 ± 0,10
Efectos principales		Dieta: $p < 0,53$		
		Músculo: $p < 0,001$ GM>PM		
		Tiempo: $p < 0,38$		

Los datos representan la media ± SEM de $n=10$. Los efectos principales fueron analizados por ANOVA de medidas repetidas, incluyendo el efecto de la dieta y del músculo a cada tiempo de conservación. **a, b**, indican diferencias significativas entre las medias según ANOVA de una vía y test de Tukey-Kramer t ($p < 0,05$) al tiempo 0 de conservación en el músculo *Pectoralis*.

Cuadro 11. Efecto de la suplementación con selenio (0,30 ppm) orgánico, como selenio metionina (SeMet) o inorgánico, selenito de sodio (SeNa) en una dieta terminación (35 a 56 días de edad) en pollos parrilleros sobre el deterioro oxidativo de las proteínas, medidos como carbonilos (nmoles NADPH/min/mg prot) en los músculos *Pectoralis* (MP) y *Gastrocnemius* (MG) fresco y conservados al vacío (2°C; 0, 3 y 7 días p.m.; *post mortem*).

Músculos	Días p.m.	Dietas experimentales		
		Control	SeMet	SeNa
MP	0	0,16 ± 0,03	0,20 ± 0,04	0,20 ± 0,03
	3	0,18 ± 0,02	0,20 ± 0,02	0,22 ± 0,04
	7	0,17 ± 0,04	0,20 ± 0,03	0,18 ± 0,02
MG	0	0,21 ± 0,04	0,18 ± 0,01	0,19 ± 0,04
	3	0,21 ± 0,05	0,20 ± 0,05	0,22 ± 0,03
	7	0,22 ± 0,02	0,19 ± 0,05	0,19 ± 0,02
Efectos principales:				
Dieta: p<0,91				
Músculo: p<0,49				
Tiempo: p<0,75				

Los datos representan la media ±SEM de n=10. Los efectos principales fueron analizados por ANOVA de medias repetidas incluyendo el efecto de la dieta y músculo para cada tiempo de conservación al vacío.

Similares resultados fueron reportados por Ghazi Harsini (2012), quien no encontró efecto de los tratamientos con selenio sobre los TBARS. Skrivanova *et al.* (2007) mostraron una falta de efecto de la suplementación con selenio orgánico, sobre la estabilidad oxidativa de los lípidos, al comparar las fuentes orgánicas e inorgánicas. Taylor *et al.* (2008) reportaron que no hay diferencia entre animales suplementados y no suplementados con selenio, en cuanto a la oxidación de lípidos en carne de ave. Sin embargo, en trabajos anteriores Rotruck *et al.* (1973) encontraron que el selenio dietario ayuda a prevenir el daño oxidativo en eritrocitos de rata incubados, esto se evidencia por una disminución de la hemólisis y una menor oxidación de la hemoglobina. En la misma línea a los antes mencionados, Zhang *et al.* (2007)

determinó que la actividad antioxidante disminuyó en forma significativa en el grupo selenio deficiente tanto en el suero sanguíneo como en los tejidos inmunitarios, timo, bolsa de fabricio y bazo que presentaron mayor nivel de Tbars y menor actividad de GPx y SOD en el grupo control respecto a los suplementados con selenio. Por el contrario Kim *et al.* (2001) estimaron que la suplementación con alfa tocoferol o con selenio o ambos mejoró el estatus oxidativo de la carne almacenada originando valores de TBARS menores con la consecuencia de retardar la oxidación asociada a la formación de metamioglobina. Al igual que Dlouha *et al.* (2008) y Rajashree *et al.* (2014) para quien los valores de TBARS disminuyeron entre 41-69% en grupos suplementados con selenio, resultados que concuerdan con los reportados por Dlouha *et al.* (2008) quienes determinaron la reducción de TBARS en la carne de la pechuga de pollos en respuesta a la suplementación con Chlorella enriquecida en selenio. Estudiando el efecto de la suplementación sobre la estabilidad de la carne conservada, Ryu, *et al* (2005), observo que si bien los valores de oxidación aumentaron en el tiempo, recién hubo diferencias entre los tratamientos en los días 10 y 12, lo que sugiere una influencia del tratamiento sobre la estabilidad oxidativa durante el almacenamiento refrigerado. La suplementación con 8 ppm de Se mejoró la estabilidad oxidativa y esta fue mucho mejor con la combinación de 8 ppm de Se y 100IU de alfa-tocoferol retardando la oxidación asociada a la formación de metamioglobina. Por su parte Jun-Gang Li *et al.* (2011) establecieron que las dietas deficientes en Se inducen a una menor actividad de la GPX1 y mayor estrés oxidativo en el tejido, e incrementan el contenido de TBARS en el hígado y músculo.

4.3.2. Actividad de la GPx en la carne fresca y conservada. Se evaluó el efecto de la suplementación con selenio orgánico e inorgánico sobre la actividad de la GPX, resultados que se presentan en el Cuadro 12. Se observa un claro efecto de la suplementación de selenio, sobre la actividad de la GPx ($P < 0,05$), determinada como nmoles de NADPH/min/mg de proteína, donde ambas fuentes, orgánica e inorgánica presentaron mayor actividad respecto de la dieta control. Sin embargo, la SeMet presentó más actividad en el músculo de la pata y el SeNa en la pechuga, ambos en fresco. A 7 días de conservación no hay más efecto en la pata, pero si hay aun mayor

actividad de la GPx en la pechuga de las aves que recibieron SeNa. El efecto músculo tiene peso en esta repuesta, ya que la pechuga presenta mayor actividad que la pata, pero a su vez, la carne conservada de la pata pierde actividad de la GPx y no así la pechuga, que continúa con valores altos de GPx aún a 7 días de conservación.

Cuadro 12. Efecto de la suplementación (0,30 ppm) con selenio orgánico (seleniometonina, SeMet) y selenio inorgánico (selenito de sodio, SeNa) en una dieta de pollos parrilleros recibida durante las dos semanas previas al sacrificio sobre la actividad de la glutatión peroxidasa (GPx), determinada como nmolesNADPH/min/mg proteína, en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* frescos (0 día) y conservados al vacío (2 °C, 7 días p.m.; *post mortem*).

Músculos	Días p.m.	Dietas experimentales			
		Control	SeMet	SeNa	
<i>Pectoralis</i>	0	11,05 b ±0,60	11,07 b ±0,57	14,02 a ±1,04	
<i>Gastrocnemius</i>	0	10,89 b ±0,29	16,75 a ±0,96	8,98 b ±0,88	
<i>Pectoralis</i>	7	11,83 b ±0,13	11,90 b ±0,33	13,09 a ±0,60	
<i>Gastrocnemius</i>	7	9,57 ±1,14	8,68 ±0,73	9,00 ±0,90	
Efectos principales				P	
Dietas		Control 10,83 b	SeMet 12,1 a	SeNa 11,27 ab	0,05
Músculos		<i>Pectoralis</i> 12,16 a	<i>Gastrocnemius</i> 10,85 b		0,001
Procesos		0 12,12 a	7 10,68 b		0,001

Los datos representan las medias $\pm$ SEM de $n = 6$. Los efectos principales se analizaron por ANOVA de medidas repetidas incluyendo el efecto principal de la dieta y el tipo de músculo para dos momentos expresados como 0, carne fresca y 7, carne conservada. **a, b**, indican diferencias significativas entre las dietas a $p < 0,05$ según ANOVA de una vía y test de Tukey-Kramer para cada músculo en cada proceso. **a, b**, indican diferencias significativas (entre las dietas, músculos y procesos) representando los efectos principales, por Anova de una vía y Test de Tukey-Kramer.

De acuerdo con los trabajos de Brigelius – Flohé (1999), la presencia de selenio en la dieta incrementa la actividad de la GPx en varias especies incluyendo ratas, pollos, ovinos, bovinos, equinos cerdos y peces. Por su parte DeVore y Greene (1982) y

Gatellier *et al.* (2004) establecieron una correlación lineal entre la actividad de la GPx y el selenio dietario. Sin embargo Van Rysen (1998) en corderos y Zhan *et al.* (2007), en cerdos, reportaron igual actividad en animales suplementados con la forma orgánica y con la inorgánica. Jun-Gang Li (2011) no observó diferencias ni en la concentración de Se ni en la actividad antioxidante en los diferentes músculos en la línea basal. Pero las concentraciones de Se en el plasma, músculo e hígado aumentaron en función del aporte dietario de Se. La actividad de la GPX1 en el hígado y músculo y de la GPX 3 en plasma en el grupo Se deficiente fue menor respecto al que obtuvo la dieta adecuada, mientras que el grupo que recibió la sobredosis presentó mayor actividad de la GPX1 en hígado. Estos autores establecieron que las dietas deficientes en Se inducen a una menor actividad de la GPX1 y mayor estrés oxidativo en el tejido, e incrementan el contenido de TBARS en el hígado y músculo. En este trabajo (Jun-Gang Li, 2011) se vio una correlación de 0,82 entre el valor de TBARS y la actividad de la GPx, lo que soporta la teoría que la mejora en la estabilidad oxidativa de la carne es debido al efecto protector del Se vía una mejora en la actividad de la GPx, y concluyeron que, el estatus antioxidante del cerdo es regulado por el nivel de Se dietario y que la inclusión de SeMet en la dieta mejora la calidad de la carne. Mahan y Parret (1995) al igual que Zhan *et al.* (2011), trabajando con cerdos alimentados con dietas suplementadas con dosis crecientes de selenio establecieron que los valores de GPx plasmático tendían a ser superiores al suministrar fuentes inorgánicas, pero estos valores se igualaban al incrementar el nivel de suplementación (0,3 a 0,5 ppm) tanto para la GPx hepática como para la muscular. Resultados similares fueron reportados en pollos suplementados con selenio (Cantor *et al.*, 1982, Hassan *et al.*, 1988, Spears *et al.*, 2003, Yoon *et al.*, 2007).

Zhou y Wang (2011) establecieron una correlación lineal entre la concentración de Se y la actividad de GPx en la sangre y tejidos que ha sido bien demostrada (Pavlata *et al.*, 2001, Arai *et al.*, 1994, Mahmoud and Edens, 2003). Esto se puede observar en el incremento de la actividad de GPx en los pollos suplementados hasta 0,30 ppm de selenio, sin embargo, este aumento de la actividad no es superado al incrementar las dosis de suplementación de 0,30 a 0,50 ppm, lo cual estaría indicando un límite

máximo de incremento, esto es consistente con el máximo establecido para el crecimiento y ganancia de peso. Existen sugerencias que la actividad de la GPx en diferentes tejidos varía según la fuente (orgánica o inorgánica) usada. En el hígado la actividad de la GPx fue mayor en los animales suplementados con fuentes de selenito y levadura enriquecida mientras que en plasma fue mayor en aves alimentadas con selenito comparadas con el B-Traxim y la levadura. La GPx en el músculo no presentó efecto de la dieta, pero en el hígado y plasma fue influida por la fuente pero no por la concentración (Leeson *et al.*, 2008). Los pollos suplementados con formas inorgánicas solo mostraron incremento en la actividad de la GPx en sangre mientras que la combinación de las formas orgánicas e inorgánicas y la vit. E aumentó la actividad de la GPx y de las tiroxina y triiodotiroxina libres (Grazauskas, 2014). Según Tavaréz (2014), los valores de actividad de la GPx en grupos suplementados fueron 7 y 12% superiores al control. También se observó un aumento de la concentración de selenio, lo cual sugiere un efecto del selenio sobre la enzima y esto tuvo en consecuencia un menor daño oxidativo. Wang y Xu (2008), reportaron que la suplementación con selenio en dietas para pollos de carne incrementaba la actividad de la GPx plasmática y que este incremento en la actividad es menos pronunciado cuando la suplementación se hace con una fuente inorgánica. En contraste varios estudios realizados en ratas, Whanger y Butler (1988) y en pollos (Payne y Southern 2005, Yoon y Mc Mullan 2006, Svoboda *et al.*, 2008, Ghazi Harsini *et al.*, 2012), reportan que la actividad de la GPx no fue afectada por la fuente o la suplementación y que la actividad de la GSH-Px se incrementaba más rápido cuando la fuente de suplementación era el selenito en comparación con el selenio orgánico (Fostrom *et al* 1978, Pavlata *et al.*, 2011). Esto puede ser explicado ya que el selenio, independientemente de la forma en que sea suministrado, debe ser transformado en selenocisteína antes de ser incorporado a la GPX (Fostrom *et al* 1978) y que las formas inorgánicas son metabolizadas con mayor eficiencia que las orgánicas (Sunde y Hoekstra 1980; Henry y Amerman 1995). Estos resultados demuestran que no hay un solo y único efecto del selenio sobre la actividad enzimática de la GPx, depende del tipo de músculo y de la fuente y de una interacción entre ambos, probablemente debido a la diferentes conformación y

funciones de cada músculo, mas glicolítico, más oxidativo, que puedan afectar esta respuesta.

4.3.3. Contenido de selenio en los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* frescos.

Los datos presentados en el Cuadro 13 muestran que la suplementación con selenio independientemente de la fuente permitió un aumento en la concentración de selenio en ambos músculos y que esta fue claramente superior en el músculo de la pata respecto del de la pechuga. Se observa también el efecto fuente donde la seleniometionina favoreció significativamente el depósito del mineral en la pechuga y en la pata, mientras que la fuente inorgánica tuvo un comportamiento intermedio entre ambos tratamientos, sin significación estadística. Al comparar los músculos por separados observamos que el enriquecimiento en selenio fue significativamente superior cuando la suplementación se realiza a partir de una fuente orgánica.

Cuadro 13. Efecto del selenio (0,3 ppm) orgánico (SeMet, selenio metionina) o inorgánico (SeNa, selenito de sodio) en una dieta terminación (35-56 días) durante dos semanas previas a al sacrificio en el contenido de selenio medido como mg Se/kg de carne (base seca), en los músculos *Pectoralis* (MP) y *Gastrocnemius* (MG).

Dietas experimentales			
Músculos	Control	SeNa	SeMet
MP	1,01 ± 0,14 b	1,04 ± 0,15 b	1,59 ± 0,14 a
MG	1,50 ± 0,32 b	1,69 ± 0,36 b	2,18 ± 0,34 a
Efectos principales			
Dietas	Control	Se-Na	Se-Met
P<0,008	1,25 ± 0,11 b	1,36 ± 0,24 ab	1,88 ± 0,22 a
Músculos	MP	MG	
P<0,038	1,21 ± 0,09 b	1,79 ± 0,19 a	

Los datos representan la medias ± SEM de n= 10. Los efectos principales se analizaron según ANOVA GLM para las dietas y músculos. **a, b** indican diferencias significativas entre las fuentes según ANOVA de una vía y test de Turkey & Kramer a P<0,01 para cada músculo. **a,b**, indica las diferencias debida a los efectos principales, dieta y músculo.

De acuerdo con Behme y Wolters (1983) el Se se encuentra principalmente en el riñón, testículos, hígado adrenales eritrocitos plasma, baso, páncreas, pulmones, corazón, timo, tracto gastrointestinal, esqueleto, cerebro y músculo. Scott y Thompson (1971), reportaron que los niveles de Se en sangre, músculo, hígado, riñón y piel se incrementan linealmente al aumentar el consumo a 0,30 ppm en pollos, pero que a dosis de 0,8 ppm solo se logró incrementar el contenido de Se en hígado y riñón. Si bien el selenio está presente en todos los tejidos y células del organismo pero la concentración u distribución dependerán de la forma química y la cantidad en que se suministra en la dieta. Nuestros resultados concuerdan con los encontrados por Sunde y Hoekstra (1980) para quienes las formas inorgánicas son

menos eficientes que las orgánicas ya que los niveles de selenio en sangre y músculo se incrementaron al variar la fuente de inorgánico a orgánico hasta 0,67 ppm. Según Sunde (1997), esto se debe a que la fuente orgánica (seleniometionina) puede ser incorporada a las proteínas en cantidad similar a la metionina porque Se y S (azufre) tienen propiedades atómicas similares. La habilidad del Se para ocupar el sitio del S y la de la seleniometionina, para reemplazar la metionina que hacen que pueda ser incorporada a la proteína cuando es metabolizada. La fracción de selenio de la fuente orgánica que no se presenta como seleniometionina es metabolizada como selenito e incorporada al plasma y otras selenoproteínas. Resultados similares fueron reportados por Beilstein *et al.* (2011), quienes mencionan una mayor incorporación de Se en tejidos al alimentar con Se-Met que con selenito en ovejas. Esta mayor deposición de Se en músculo puede deberse a la deposición Se-Met en sustitución de la metionina en las proteínas de larga vida. En tejidos como el hígado, la rápida síntesis y catabolismo proteico hace que el Se de la Se-Met sea rápidamente tomado para la formación de la GPx y que el remanente Se-Cys aparezca como mayoritario. Sin embargo, el depósito de Se en la pechuga parece estar relacionado a la actividad de la GPx, pero debida al SeNa y el depósito de Se en la pata, a una mayor actividad de la GPx pero debido a la SeMet.

4.4. CONCLUSIONES

La suplementación con selenio favoreció significativamente la actividad de la GPx en ambos músculos frescos, efecto que se mantuvo solo en el Pectoralis conservado. La mayor actividad de GPx observada en los grupos suplementados se reflejó en menor oxidación de lípidos, sólo en el Pectoralis, sin efecto en la oxidación proteica. Parece haber una relación positiva entre selenio depositado en cada músculo y la actividad de la GPx, pero respondiendo a diferentes fuentes de Selenio. Estos resultados no permiten concluir que las respuestas se puedan deber a una única fuente de selenio, sino que la suplementación parece ser positiva, según el tipo de músculo.

5. CAPÍTULO 5

Parte 4. Selenio dietario y perfil de ácidos grasos de la carne. Efecto de la fuente de selenio, orgánica e inorgánica en el perfil de ácidos grasos de los músculos frescos, *Pectoralis* y *Gastrocnemius*.

5.1 INTRODUCCIÓN

La carne de pollo, rica en ácidos grasos insaturados es muy susceptible a los procesos de oxidación causantes no solo de olores y sabores desagradables sino que representan una importante pérdida del valor nutricional y la conservación de la misma. Por esta razón, la incorporación de antioxidantes a la dieta de los animales ha sido una práctica de uso común, entre ellos el selenio constituye una interesante opción ya que forma parte de la enzima GPX, primera línea de defensa contra los procesos oxidativos de la carne (Pérez *et al*, 2010).

Hasta hace un tiempo se suplementaba el selenio bajo forma inorgánica, sin embargo en los últimos tiempo se generalizó el uso de las fuentes orgánicas vinculado a la tasa de absorción mas alta que presenta (Wang *et al*, 2011).

Por otra parte hay información a cerca de la interferencia que el selenio provoca sobre el metabolismo de los lípidos, favoreciendo la conversión de α -linolénico (ALA) en eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), que pueden dar como resultado Una proporción aumentada de omega-6: omega-3 en el hígado de ratas. (Schafer *et al*.2004), en carne vacuna (Netto *et al* 2014, Pereira *et al* 2012), pollos (Zanini *et al* 2004) y cerdo (Gonzales y Tejeiro, 2007) así como en la leche y calostro (Salman *et al* ,2013).

De esta forma la suplementación con selenio presentaría un doble efecto positivo sobre la carne, por un lado modificaría el perfil de ácidos grasos favoreciendo los PUFA y la relación omega6/3 y favorecería la acción de la GPX como barrera antioxidante para los mencionados ácidos grasos.

Por lo cual es el objetivo de esta parte determinar el efecto de la suplementación con selenio orgánico (seleniometionina) e inorgánico (selenito de sodio) a la dieta de pollos parrilleros sobre el metabolismo de los ácidos grasos, determinado a través del contenido de PUFA, MUFA, DHA EPA y DPA en los músculos *Pectoralis* y

Gastrocnemius y la determinación de algunos índices de efecto salud (aterogenicidad, trombogenicidad y la relación hipo/hipercolesterolémico. Determinar así mismo el efecto de estas fuentes sobre la actividad de las enzimas desaturasa, elongasa y tioesterasa

5.2. MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1. Animales: Se utilizaron 200 pollos machos de la línea Ross de 1 día de edad, provenientes de planta de incubadora comercial que se criaron hasta los 35 días sobre piso con cama de cascara de arroz, en sala calefaccionada, con fotoperiodo de 23 horas de luz, 1 de oscuridad. Durante este periodo se les ofreció ración de iniciación a base de maíz - soja (PC, 21.9 %; EM, 2931 kcal/kg) y agua *ad libitum*. A los 35 días se seleccionaron 90 por homogeneidad de peso y sanidad y se alojaron de a 3 aves por jaula (10 jaulas por tratamiento) de 90 cm de largo por 90 cm de ancho, sobre piso de viruta de madera. Se mantuvo la temperatura controlada y el fotoperiodo de 23 horas de luz hasta la faena. Los animales se repartieron en 3 tratamientos de acuerdo a las dietas que recibieron hasta el sacrificio, a los 52 días; dieta base control (30 aves), dieta base suplementada con selenito de sodio (30 aves) y dieta base suplementada con seleniometionina (30 aves). A los 56 días las aves se sacrificaron previo ayuno de 7 horas según las normas establecidas por la CHEA, realizando el sacrificio por corte de la vena yugular hasta el desangrado total (3 min) de forma de causar el menor estrés posible al animal.

5.2.2. Dietas experimentales: se utilizo la dieta control y las dietas suplementadas con selenio orgánico (selenio metionina) y selenio inorgánico (selenito de sodio). La formulación de las dietas es la descrita en la parte 1 de este doctorado.

5.2.3. Extracción de lípidos de la carne de ave: Para extraer los lípidos se siguió la técnica de Folch et al (1957). Se pesaron muestras de 4g de músculo *Pectoralis* y *Gastrocnemius* que se homogenizaron (Virtis 45) en una solución de cloroformo: etanol 2:1, durante 1 minuto. El homogeneizado se filtro en un kitasato. El filtrado se colocó en una ampolla de decantación y se mezcló con 25 ml de solución de NaCl (9 g/l) y se agito durante 1 minuto. Se dejó reposar durante toda la noche para favorecer la separación de las fases y se recogió la fase inferior, que contiene los

lípidos en cloroformo, en balones de vidrio. Luego se evaporo el cloroformo en un rotovapor, los balones se colocaron en estufa a 35°C durante 30 min para su secado completo. A continuación se pesaron y por diferencia de peso con el balón vacío se estimó el porcentaje de lípidos que contenía la muestra.

5.2.4. Metilación de ácidos grasos y cromatografía de gases. Los lípidos contenidos en el balón se disolvieron en cloroformo y se tomaron muestras de 40mg. Para la metilación se siguió el método de Ichibara et al (1996). Se evaporo el cloroformo y se colocaron 2ml de hexano. Se agregaron 4ml de KOH 2M y se centrifugo a 1000g 10min a 12°C. Se extrajo el sobrenadante u de coloco en tubo para medir los ácidos grasos en un cromatógrafo de gases Clarus 500 (PerKin Elmer Instrumets) con detector de llama (FID) alimentado con 40 ml de hidrogeno por generador por electrolisis y 400 ml de aire, Se utilizó in Split fijo de 55ml/min abierto 30 segundos después de la inyección automática de 1microlitro en hexano. Se utilizó una columna CPSIL-88 de 100 m y una temperatura inicial de 90°C durante 1 min. Luego la temperatura se aumentó hasta 180°C y se mantuvo durante 10 min. Se utilizó una última rampa de a una temperatura de 225°C durante 15 minutos. La fase móvil fue el hidrógeno de pureza 99,9995 a 41 psi. La temperatura del inyector se mantuvo fija a 250°C.

5.2.5. Calculo de los índices

5.2.5.1. Índice de aterogenicidad: este índice indica la relación entre la suma de los principales ácidos grasos saturados (pro-aterogénicos) y los insaturados (anti-aterogénicos). Se calculó de acuerdo a la fórmula propuesta por Ulbricht y Sauthgate (1991).

$$IA = (4 \times C14:0 + C16:0) / [\sum MUFA + \sum (n-6) + \sum (n-3)]$$

5.2.5.2. Índice de trombogénesis: Estima el potencial para formar coágulos en los vasos sanguíneos, se determinó mediante la relación entre los ácidos grasos pro-trombogénicos (ácidos grasos saturados) y los anti-trombogénicos (suma de MUFA y PUFA) Ulbricht y Sauthgate (1991).

$$IT = (C14:0 + C16:0 + C18:0) / [0,5 \times \sum MUFA + 0,5 \times \sum (n-6) + 3 \times \sum (n-3) + \sum (n-3) / \sum (n-6)]$$

5.2.6. Relación hipocolesterolémico/hipercolesterolemico h/H: Se define como la relación entre los ácidos grasos insaturados (MUFA y PUFA) y los ácidos grasos saturados C14:0 t C16:0 (Fernández et al 2007).

$$h/H = (C14:1 + C16:1 + C18:1 + C20:1 + C22:1 + C22:1 + C18:2 + C18:2 + C18:3 + C20:3 + C20:4 + C20:5 + C22:4 + C22:5 + C22:6) / (C14:0 + C16:0)$$

5.2.7. Índice de actividad enzimática: La actividad enzimática de la desaturasa, elongasa y tiorreductasa se estimó relacionando la cantidad de sustrato específico para el producto correspondiente a cada enzima.

Las relaciones calculadas fueron C16:1 n-7 a C16:0 y C18:1 n-9 a C18:0 y su suma para la actividad de la estearil-CoA desaturasa (Δ -9-desaturasa)

La suma de Δ -5-desaturasa + Δ -6-desaturasa se utilizó como índice para la estimación para la catalización de la formación de cadenas largas n-6 y C18:3n-3 (DalBosco et al., 2012).

La relación C18:0 a C16:0 se calculó para estimar la actividad de la elongasa (Okada et al., 2014).

La relación C16:0 y C14:0 se utilizó para estimar la actividad de la tioesterasa según Zhan et al. (2007).

5.2.8. Análisis estadístico. Los datos se analizaron con el programa NCSS, 2004 Los datos se presentan como las medias $\pm$ SEM. Los contenidos de ácidos grasos, índices de salud y los índices de actividad enzimática se analizaron mediante ANOVA con GLM considerando las dietas y tipo de músculo como factores fijos y la interacción músculo x dieta. Los datos obtenidos en la evaluación sensorial se analizaron mediante ANOVA de una vía, seguido de test de Tuckey & Kramer ($p < 0,05$).

5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Selenio dietario y perfil de ácidos grasos. En este trabajo, de acuerdo a los datos presentados en el Cuadro 14 se puede observar que el contenido de lípidos y la composición de lípidos del músculo *Pectoralis* fue menor que el *Gastrocnemius*. Este resultado concuerda con los encontrados por Castromán *et al.* (2013). Sin embargo, la suplementación con selenio no mostró ningún efecto principal., aunque si existe una interacción significativa entre el músculo y la dieta esto podría estar indicando que el selenio afectaría el contenido de los lípidos en función del tipo de músculo.

Cuadro 14. Composición en ácidos grasos (g/100g de ácidos grasos totales) de los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* de pollos alimentados con una dieta terminación (35 a 56 días) suplementada con 0,30 ppm de selenio orgánico (Se-Met) o inorgánico (Se-Na).

	<i>Pectoralis</i> (Pe)			<i>Gastrocnemius</i> (G)		
	control	Se-Na	Se-Met	control	Se-Na	Se-Met
Lípidos (%)	1,77±0,11	1,41±0,17	1,43±0,05	2,44±0,31	3,01±0,27	3,09±0,24
Ác grasos (%)	0,69±0,10	0,60±0,17	0,62±0,08	0,73±0,04	0,61±0,18	0,61±0,13
C14:0	0,12±0,03	0,10±0,01	0,09±0,01	0,17±0,03	0,12±0,01	0,11±0,02
C14:1	26,6±3,20	27,0±2,54	26,6±1,61	26,8±0,62	25,6±2,91	24,0± 1,6
C16:0	4,21±1,92	4,22±0,85	3,78±0,21	5,58±1,51	5,54±1,08	4,52±0,62
C16:1	10,2±2,29	9,99±0,72	9,82±0,47	8,65±1,93	8,80±1,34	9,18±1,04
C18:1	33,6±2,10	34,5±1,73	35,1±2,69	35,2±3,21	37,5±2,19	37,1±3,27
C18:2n6	15,7±1,92	14,4±1,10	16,0±2,43	16,7±1,26	15,8±1,15	17,5±2,37
C20:1	0,18±0,09	0,20±0,08	0,16±0,02	0,18±0,02	0,20±0,10	0,33±0,13
C18:3n3	0,35±0,06	0,46±0,09	0,43±0,12	0,44±0,02	0,42±0,02	0,81±0,11
C20:3n6	0,27±0,14	0,22±0,08	0,20±0,10	0,15±0,05	0,15±0,06	0,21±0,05
C20:3n3	0,23±0,12	0,30±0,09	0,20±0,08	0,19±0,10	0,22±0,02	0,16±0,05
C22:1	0,64±0,31	0,65±0,17	0,60±0,13	0,46±0,28	0,40±0,11	0,35±0,03
C20:4n6 ARA	3,47±1,65	3,36±0,82	3,23±0,83	2,17±0,97	2,19±0,63	2,25±0,35
C22:4n6	1,03±0,61	0,96±0,32	0,81±0,35	0,62±0,30	0,56±0,20	0,56±0,07
C20:5n3 EPA	0,05±0,02	0,08±0,04	0,04±0,01	0,07±0,07	0,05±0,02	0,03±0,01
C22:5n3 DPA	0,35±0,17	0,26±0,08	0,26±0,12	0,18±0,11	0,17±0,06	0,19±0,04
C22:6n3 DHA	0,26±0,13	0,23±0,09	0,20±0,08	0,13±0,02	0,14±0,06	0,13±0,03
No identif.	2,10±0,20	2,45±1,18	1,87±0,82	1,52±0,48	1,50±0,25	2,01±0,75
SFA	37,5±1,07	37,6±0,99	37,0±0,74	36,2±0,54	35,0±2,10	33,8±0,80
MUFA	38,7±3,15	39,6±1,96	39,8±2,71	41,6±4,51	43,8±3,20	42,4±3,79
PUFA	21,1±1,87	19,7±1,23	20,8±1,45	20,3±1,16	19,4±0,82	21,5±1,34

Efectos principales

	Musculo (M)	Dieta (D)	MxD
Lípidos (%)	P<0,01 G>Pe	NS	P<0,04
Ác grasos (%)			
C14:0	NS	P<0,03 Se>C	NS
C14:1	P<0,01 G>Pe	P<0,03 Se-Met>C	NS
C16:0	P<0,04 G>Pe	P<0,05 Se>C	NS
C16:1	P<0,01 G>Pe	NS	NS
C18:1	P<0,01 G>Pe	P<0,03 Se-Met>C	NS
C18:2n6	P<0,01 G>Pe	P<0,03 Se-Met>Se-Na	NS
C20:1	P<0,02 G>Pe	P<0,05 Se-Met>C	P<0,01
C18;3n3	P<0,01 G>Pe	P<0,01 Se>C	P<0,01
C20:3n6	P<0,01 Pe>G	NS	NS
C20:3n3	P<0,01 Pe>G	P<0,01 Se-Met>Se-Na	NS
C22:1	P<0,01 Pe>G	NS	NS
C20:4n6 ARA	P<0,01 Pe>G	NS	NS
C22:4n6	P<0,01 Pe>G	NS	NS
C20:5n3 EPA	NS	P<0,03 Se-Met>Se-Na	P<0,03
C22:5n3 DPA	P<0,1 Pe>G	NS	NS
C22:6n3 DHA	P<0,01 Pe>G	NS	NS
No identif.			
SFA	P<0,01 Pe>G	NS	NS
MUFA	P<0,01G>Pe	NS	NS
PUFA	NS	NS	NS

Los datos representan las media $\pm$ SEM NS indica no significativo C=control, Se= efecto del selenio SeNa y SeMet. SFA=ácidos grasos saturados, MUFA= ácidos grasos monoinsaturados, PUFA= ácidos grasos polinsaturados.

Respecto a la composición de ácidos grasos entre músculos el *Pectoralis* mostro mayor concentración de ácidos grasos saturados, especialmente C16:0 y C18:0, La suplementación con selenio tanto orgánico como inorgánico, favoreció el contenido de C14:0, mientras que la fuente orgánica solo afecto el C16:0. Este hecho es de relevancia porque parece estar afectando solamente a estos ácidos grasos (C14:0 y

C16:0) los cuales son promotores directos de enfermedades cardiovasculares (Praagman *et al.*, 2016). En lo que respecta a los MUFA, el *Gastrocnemius* mostró mayor cantidad que el *Pectoralis* y como era de prever el de mayor concentración es el C18:1. La dieta suplementada con selenio orgánico afectó positivamente la concentración de C18:1 frente a la fuente inorgánica y al control. No se observó efecto ni del músculo ni de la dieta en la concentración de PUFA. Si consideramos los ácidos grasos individualmente podemos observar que el *Pectoralis* mostro mayor cantidad de PUFA que el *Gastrocnemius* en los grupos más benéficos para el hombre, el DPA y DHA. Mientras que el linoleico (C18:2 n-6) y el Linolénico (C18:3 n-3) ambos ácidos grasos esenciales para el hombre, presentan mayor nivel de concentración en el *Gastrocnemius*. Es sabido que estos dos ácidos grasos solo se pueden obtener por la dieta y que no pueden ser sintetizados por los tejidos. Cuando consideramos el efecto principal de la dieta parece que el C18:3 n-3 presenta mayor nivel cuando esta es suplementada, independiente de la forma en que el selenio sea aportado. Estos resultados están en acuerdo con los presentados por Haug *et al.* (2007), Sevcikova *et al.* (2006) y Kralik *et al.* (2013). Se obtuvo interacción significativa, lo que sugiere que el selenio podría modificar la distribución de este ácido graso en la carne de pollo en función del tipo de músculo. Un efecto similar pero más limitado fue encontrado para el C18:2 n-6, de hecho solo la fuente orgánica (seleniometionina) aumento el nivel de este ácido graso en comparación con el selenito de sodio y el control. Las diferencias en el nivel de C18:3 n-3 y a menor escala el C18:2 n-6 en comparación con el control se podrían explicar por la reducción de la degradación de estos ácidos grasos por procesos de oxidación. Esta protección puede deberse a la acción de la glutatión peroxidasa y la enzima GPx a través de la erradicación de los radicales libres capaces de iniciar y propagar la oxidación de los ácidos grasos particularmente PUFA (Korniluk *et al.*, 2007, Leskanich y Noble 1997, Betti *et al.*, 2009). La GPx es una de las más poderosas enzimas que controlan la acción deletérea de los radicales sobre los PUFA en la carne (Gatellier *et al.*, 2004).

Como se mencionó anteriormente el selenio en la dieta de pollos ha sido asociado a un incremento en los niveles de n-3 en *Gastrocnemius* (Sevcikova *et al.*, 2006, Haug *et al.*, 2007) y en el nivel de ácidos grasos luego de la suplementación con selenio, sucedió fundamentalmente para el ácido α -linoleico (α -C18:3 n-3) EPA, DPA, DHA en *Gastrocnemius*. No se observó efecto de la suplementación en los DPA ni DHA, para los EPA la suplementación con selenio inorgánico mostró efecto positivo en comparación con la dieta control o con la seleniometionina. Sin embargo los valores absolutos resultaron ser más bajos y sugieren ser cautelosos en la interpretación sobre la eficacia de la suplementación con selenio para este ácido graso. Estos resultados concuerdan con los de Sevcikova *et al.* (2006), Haug *et al.* (2007) y Kralik *et al.* (2013), pero contrariamente con los de Zduńczyk *et al.* (2011) quienes no encontraron ningún efecto sobre la composición de ácidos grasos en el músculo *Pectoralis*. Al igual que en este trabajo, la suplementación con selenio afecta la composición de ácidos grasos en otras especies y producciones independientemente de su forma química, en el ñandú aumento el nivel de C18:2 n-3, los resultados encontrados en rumiantes son contradictorios (Mehdi y Dufrasne, 2016) por lo tanto es necesaria mayor investigación al respecto.

Haciendo especial énfasis en nutrición y salud humana se estimaron algunos índices asociados a la composición de ácidos grasos. La relación PUFA/MUFA, n-6, n-3 y n-6/n-3 no presentaron diferencias al considerar ambos músculos. Por el contrario tanto en índice trombogénico como en el aterogénico mostraron valores indeseables en el *Pectoralis* comparado con el *Gastrocnemius*.

El índice aterogénico y el trombogénico mostraron mayores valores en el músculo *Pectoralis*. El índice hipocolesterolémico vs hipercolesterolémico, h/H, mostro valor mas bajo en el *Pectoralis* que en el *Gastrocnemius* (Cuadro 15). Esto estaría de acuerdo a los resultados referidos por Rafieuin *et al.* (2014). El valor obtenido en este trabajo del índice h/H fue menor en *Pectoralis* que en *Gastrocnemius* Sin embargo no hubo efecto de la suplementación en ninguna de sus dos formas en lo que respecta a la salud.

Cuadro 15. Índices de salud para los músculos *Pectoralis* y *Gastrocnemius* en pollos suplementados con selenio orgánico (SeMet) y selenio inorgánico (SeNa) en una dieta terminación (35 a 56 días).

	<i>Pectoralis</i> (Pe)			<i>Gastrocnemius</i> (G)			Efectos principales		
	Control	SeNa	SeMet	Control	SeNa	SeMet	Musc. (M)	Dieta (D)	M xD
P/S	0,58 ±0,03	0,54 ± 0,02	0,58 ± 0,05	0,57 ± 0,02	0,58 ± 0,05	0,65 ± 0,04	NS	NS	NS
n-6	20,5 ±3,31	19,0 ± 2,17	20,2 ± 2,68	19,6 ± 2,57	18,7 ± 1,67	20,5 ± 2,61	NS	NS	NS
n-3	1,23 ±0,22	1,33 ± 0,19	1,13 ± 0,11	1,02 ± 0,12	0,98 ± 0,07	1,32 ± 0,07	NS	NS	P<0,02
n-6/n-3	18,2 ±2,82	14,9 ± 1,60	18,0 ± 0,79	19,7 ± 1,24	19,7 ± 2,33	15,6 ± 0,96	NS	NS	P<0,01
IA	0,49 ±0,01	0,49 ± 0,01	0,48 ± 0,02	0,48 ± 0,02	0,45 ± 0,01	0,41 ± 0,01	P<0,01 Pe>G	NS	NS
IT	1,14 ±0,05	1,15 ± 0,05	1,13 ± 0,04	1,09 ± 0,02	1,04 ± 0,09	0,96 ± 0,03	P<0,03 Pe>G	NS	NS
h/H	2,23 ±0,014	2,25 ± 0,02	2,17 ± 0,12	2,45 ± 0,21	2,23 ± 0,09	2,61 ± 0,12	P<0,01 G>Pe	NS	P<0,04

Los datos representan la media ± SEM. NS implica diferencias no significativas.

P/S=PUFA/SFA, IA=índice aterogénico, IT= Índice trombogénico, h/H=índice hipocolesterolémico/hipercolesterolémico.

Se observó una interacción entre el músculo, y la dieta para los ácidos grasos n-3, para el cociente n-6/n-3 y para el índice h/H, esta interacción plantea un nuevo desafío para obtener una mayor comprensión de la acción del selenio en el reparto de los ácidos grasos en la carne. Se estudió el efecto de la suplementación sobre la actividad de las enzimas desaturasa, elongasa y tioesterasa en ambos músculos por medio de índices de actividad. La Δ -9 desaturasa se estimó por la relación C16:1/C16:0 y por la relación C18:1/C18:0, esta última específica para la desaturación del C18:1, principal MUFA en la carne de pollo. (Okada *et al.*, 2005).

5.4. CONCLUSIONES

Tanto la forma orgánica, seleniometionina como la forma inorgánica, selenito de sodio, redujeron el nivel de los dos ácidos grasos mas aterogénicos (C14:0 y C16:0) presentes en la carne de pollo. Al mismo tiempo la fuente orgánica elevo el nivel de los ácidos grasos insaturados con efecto benéficos en la salud tales como el C18:2 n-6 y particularmente el C18:3 n-3.

6. CAPÍTULO 6

Parte 5 Selenio dietario y aceptación del consumidor. Evaluación sensorial de la carne de ave, pechuga y pata, de aves suplementadas con selenio orgánico e inorgánico.

6.1. MATERIALES Y MÉTODOS

Metodología de evaluación sensorial. La evaluación sensorial se realizó a través de un panel de 24 personas seleccionadas y entrenadas para evaluar de acuerdo con los estándares internacionales, (ISO 1985). Se cortaron trozos de pechuga y de muslo de pollo sin piel de 4 x 4 cm que se cocinaron sobre placa metálica en horno a 180 °C durante 20 minutos, sin aderezar aceite o especias e inmediatamente se sirvieron a cada evaluador. A los evaluadores se les instruyó para limpiar el paladar con un sorbo de agua mineral entre la evaluación de cada muestra. Se utilizó una escala de seis puntos para evaluar la intensidad de cada atributo, (0 completa desaprobación a 6 aprobación completa) para evaluar la textura, jugosidad, ternura y sabor (metálico, dulce, salado, ácido y amargo). Para estudiar la aceptabilidad de la carne de pollo suplementada con selenio orgánico e inorgánico se estableció un panel sensorial integrado por 24 personas entrenadas, a las que se les ofreció trozos de pechuga y de pata cocidos a la plancha sin aderezos que pudieran alterar las cualidades de la misma.

6.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a estos resultados (Cuadros 16 y 17) se puede establecer que en el músculo de la pechuga sólo se observó un mayor gusto metálico cuando la dieta fue suplementada con selenio orgánico. En el músculo de la pata la suplementación presentó mayor cohesión de la carne y mayor dificultad al ser masticada principalmente cuando se suplementa con la fuente inorgánica. Sin embargo ambas fuentes determinaron que la carne fuera más fácil de tragar. En ambos músculos, la suplementación con selenio metionina produjo un sabor más dulzón en la carne que el control o la fuente inorgánica. Resultados similares fueron reportados por

Miezeliene *et al.*, (2011), quienes no encontraron diferencias significativas de la suplementación con selenio en las características de olor ni a la coloración, ni sobre la fibrosidad, jugosidad o terneza. Estos mismos autores reportaron un efecto significativo de la suplementación sobre el retrogusto de la carne de la pechuga suplementadas el cual fue mayor al aumentar la dosis de suplementación. De acuerdo con datos aportados por Haugh *et al.* (2007), la suplementación con selenio y ácidos orgánicos no reportaba diferencias significativas en las propiedades sensoriales pero si se percibía un sabor poco típico. De acuerdo con Lyon *al.* (2004), la jugosidad es un factor de alta contribución a la calidad sensorial de la carne, y la relación entre la jugosidad y las propiedades físicas y químicas han sido ampliamente estudiadas aceptándose que la suplementación con selenio en 0,1 a 0,5 mg/kg no ha presentado efecto sobre este parámetro. La carne de la pata presento mayor intensidad de coloración y mayor dureza al masticar a medida que aumenta la suplementación con selenio pero no reporto efectos negativos en la aceptabilidad de la carne (Miezeliene *et al.*, 2011), por lo que se concluyó que la suplementación con selenio en las dietas no tuvo efecto sobre la aceptabilidad de la carne de pollo, Esto está de acuerdo con lo reportado por Bou *al.* (2004), donde fue establecido que los valores de aceptabilidad de los consumidores no demostraron diferencias significativas en carnes suplementadas con 0,2 -1.2 mg/kg.

Cuadro 16. Efecto de la suplementación y de la fuente de selenio (SeMet, seleniometionina y SeNa, selenito de sodio) en una dieta terminación (35-56 días) dos semanas previo al sacrificio sobre las características sensoriales del músculo *Pectoralis* cocido.

Atributos sensoriales	Dietas experimentales			P
	Control	SeNa	SeMet	
Cohesion	3,52 ± 0,32	3,21 ± 0,28	3,91 ± 0,3	NS
Dureza	2,86 ± 0,24	2,65 ± 0,24	3,08 ± 0,30	NS
Jugosidad	3,25 ± 0,32	2,39 ± 0,22	2,86 ± 0,29	NS
Masticado necesario para formar el bolo	3,08 ± 0,30	3,34 ± 0,31	3,73 ± 0,29	NS
Humedad del bolo	3,26 ± 0,26	2,60 ± 0,22	3,04 ± 0,28	NS
Velocidad de rotura del bolo	3,13 ± 0,30	3,21 ± 0,28	3,04 ± 0,23	NS
Facilidad de tragado	2,66 ± 0,26	2,86 ± 0,29	3,21 ± 0,27	NS
Partículas residuales	2,87 ± 0,27	3,00 ± 0,28	2,86 ± 0,24	NS
Sabor a pollo cocido	2,43 ± 0,31	2,47 ± 0,28	2,60 ± 0,27	NS
Sabor metálico	1,72 ± 0,23 b	1,42 ± 0,13 b	2,17 ± 0,26 a	0,06
Sabor dulzón	2,41 ± 0,42	1,75 ± 0,27	1,72 ± 0,32	NS
Sabor salado	2,20 ± 0,25	2,05 ± 0,30	1,90 ± 0,22	NS
Sabor amargo	1,60 ± 0,33	1,25 ± 0,14	1,76 ± 0,31	NS
Sabor ácido	1,40 ± 0,19	1,35 ± 0,14	1,43 ± 0,18	NS

Los datos representan las medias ± SEM de n=24. Los efectos de la dieta fueron analizados por ANOVA de una vía, seguido de test de Tuckey-Krame (P<0,05).

Cuadro 17. Efecto de la suplementación de selenio como selenio metionina (SeMet) o selenito de sodio (SeNa) en una dieta terminación (35-56 días) dos semanas previas al sacrificio sobre las características sensoriales del músculo *Gastrocnemius* cocido.

Atributos sensoriales	Dietas experimentales			P
	Control	SeNa	SeMet	
Cohesion	2,68 ± 0,28 b	3,95 ± 0,27 a	3,39 ± 0,35 ab	0,02
Dureza	2,50 ± 0,30	2,95 ± 0,25	2,69 ± 0,27	NS
Jugosidad	2,86 ± 0,29	2,69 ± 0,23	2,95 ± 0,28	NS
Masticado necesario para formar el bolo	2,78 ± 0,27 b	3,82 ± 0,28 a	3,21 ± 0,29 ab	0,03
Humedad del bolo	3,54 ± 0,30	2,91 ± 0,24	3,21 ± 0,26	NS
Velocidad de rotura del bolo	2,78 ± 0,25	3,39 ± 0,27	3,04 ± 0,23	NS
Facilidad de tragado	2,04 ± 0,23 b	2,82 ± 0,30 a	2,95 ± 0,24 a	0,03
Partículas residuales	2,54 ± 0,24	2,52 ± 0,20	2,59 ± 0,23	NS
Sabor a pollo cocido	2,32 ± 0,32	2,52 ± 0,26	3,04 ± 0,32	NS
Sabor metálico	1,62 ± 0,16 b	1,52 ± 0,13 b	2,22 ± 0,32 a	0,05
Sabor dulzón	1,82 ± 0,24	1,53 ± 0,28	1,76 ± 0,30	NS
Sabor salado	2,11 ± 0,25	2,15 ± 0,22	2,15 ± 0,24	NS
Sabor amargo	1,15 ± 0,10	1,35 ± 0,14	1,58 ± 0,29	NS
Sabor ácido	1,50 ± 0,37	1,17 ± 0,12	1,76 ± 0,29	NS

Los datos representan las medias ± SEM de n=24. Los efectos principales se analizaron según ANOVA de una vía y test de Tuckey-Kramer ($P < 0,05$).

6.3. CONCLUSIONES

Los resultados encontrados permiten establecer que la suplementación de una dieta de terminación con selenio, durante las dos últimas semanas antes de la faena, modifica algunos parámetros que conforman una evaluación sensorial con panelistas entrenados. La carne de aves suplementadas resultó más fácil de tragar y jugosa y en relación a gustos específicos, se constató un gusto metálico en la pechuga, de aves que recibieron selenio orgánico, mientras que la fuente inorgánica estaría relacionada a un sabor más dulzón en ambos músculos.

7. CONCLUSIONES GENERALES

El uso de fuentes organicas permitió disminuir el consumo diario de los animales sin que se vieran afectados los otros parámetros de performance estudiados. Tanto el grupo control como los suplementados presentaron valores similares de peso vivo, ganancia de peso y eficiencia de conversión. La suplementación con selenio modifico significativamente los valores de pH final dando valores superiores al control tanto en el *Pectoralis* (5.9 y 5.7) como en el *Gastrocnemius* (6.0 y 5.7) efecto que se prolonga en una mayor retención de agua en ambos músculos. Respecto a la coloración la fuente organica favoreció la obtención de carnes mas rojas, y menos luminosas, lo que lleva a pensar en una menor degradación de la hemoglobina en las primeras etapas postmortem, De acuerdo a estos resultados podemos establecer que la suplementación con selenio favorece la obtención de carnes mejor aceptadas por el consumidor y con mayor aptitud tecnológica.

Los grupos suplementados con selenio mostraron una curva de caída del pH más rápida que el grupo control en los primeros 90 min postmortem, lo que podría ser explicado por una mayor concentración de glucógeno y lactato hepático al momento del sacrificio y al mayor contenido de glucógeno en el músculo a los 10 min postortem. EL pH final alcanzando resultado superior aunque siempre dentro del rango aceptable. Otro aspecto a destacar es la obtención de carnes más rojas y menos luminosas en el grupo suplementado con seleniometionina y carnes menos amarillentas en el selenito de sodio, esto nos permite obtener carnes de mejor coloración al enriquecer la dieta con selenio.

Los valores de oxidación lipidica fueron menores en el músculo *Pectoralis* fresco de los animales que consumieron las dietas con selenito de sodio o seleniometionina. Estos efectos no se prolongaron durante el proceso de conservación, ni se observó efecto sobre el músculo *Gastrocnemius*.

Por otra parte la suplementación con selenio favoreció la actividad de la GPx respecto a la dieta control, siendo su respuesta diferente según el músculo estudiado. En este sentido la fuente organica presento mayores valores de actividad en el

músculo de la pata mientras que la fuente inorgánica favoreció la actividad de la GPx en la pechuga, efecto que se mantiene en el periodo de conservación. Finalmente la suplementación dietética con selenio orgánico e inorgánico permitió elevar la concentración de este mineral tanto en la pechuga como en el muslo de pollo.

Se observó una modificación en el balance de ácidos grasos favoreciendo los PUFA y disminuyendo los aterogénicos que representa un efecto muy prometedor de la suplementación con selenio la cual merece ser considerada cuidadosamente en investigaciones futuras.

El selenio y en particular la fuente orgánica debería ser usado a nivel productivo y a dosis de 0,3 ppm, como una herramienta para modificar el perfil de los ácidos grasos en la carne de pollo y lograr así una composición grasa más conveniente para la salud humana.

Los resultados obtenidos en el panel sensorial muestran un comportamiento diferente según las fuentes de selenio. En el caso de la fuente orgánica (seleniometilmetionina) solo se detectó un gusto más metálico en la pechuga mientras que el selenito de sodio originó carnes más cohesivas y mayor dificultad para masticar. Sin embargo ambas fuentes determinaron una mayor facilidad para tragar que el control.

7.2. BIBLIOGRAFIA

- Abuja, P., M.; Albertini, R. 2001 Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins Clin. Chim. Acta 306, 1-17
- Adamo K. B.; Graham E. 1998 Comparison of traditional measurements with macroglycogen and proglycogen analysis of muscles. Journal of Applied Physiology 908-913
- Akil, M.; Gurbuz, U.; Bicer, M.; Sivrikaya, A.; Mogulkoc, R.; Baltaci, A. K. 2011 Effect of selenium supplementation on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and lactate levels in rat immediately after acute swimming exercise. Biological Trace Elements Research 142(3): 651-659.
- Alberro M. L. 2013 Meta-analisis del efecto de la suplementacion con selenio sobre la actividad de la glutatión peroxidasa en distintas especies y tejidos Tesina de la Licenciatura en Bioquímica
- OPYPA, Anuario 2015, MGAP.
- Arai T.; Sugawara, M.; Sako, S.; Motoyoshi, S.; Shimura, T.; Tsutsui, N.; Kommo, T. 1994. Glutathione peroxidase extivity in tissues of chickens supplemented with dietary selenium. Comp. Biochem. Physiol. 107;245-248
- Arpasova, H.; Petrovic, V.; Mellen, M.; Kacaniova, M.; Čovanova, K.; Leng, L. 2009 The effects of supplementing sodium selenite and selenized yeast to the diet for laying hens on the quality and mineral content of eggs. J. Anim. Feed Sci., 18: 90–100.
- Arthur JR, Nicol F, Beckett GJ (1992). The role of selenium in thyroid hormone metabolism and effects of selenium deficiency on thyroid hormone and iodine metabolism. Biol. Trace. Elem. Res. 33: 37-42.

- Barroeta, A., C.; Cortinas, L. 2002. Modificación de la grasa de pollo a través de la dieta. *Eurocarne* 108, 33-45
- Battin, E., and J. Brumaghim. 2009. Antioxidant activity of sulfur and selenium: A review of reactive oxygen species scavenging, glutathione peroxidase, and metal-binding antioxidant mechanisms. *Cell Biochem. Biophys.* 55:1–23
- Behme, D.; Wolters, W. 1983. Distribution of selenium and glutathione peroxidase in the rat. *J. Nutr.* 113:456-461.
- Beilstein M. A. and Whanger P. D. 2011 Chemicals forms of selenium in rat tissues after administration of selenite or seleniomethionine. *The journal of nutrición* 1711-1719
- Beilstein, M. A., and. Whanger, P. D. 1986. Deposition of dietary organic and inorganic selenium in rat erythrocyte proteins. *J. Nutr.* 116:1701–1710.
- Bendall J. R. 1973 Postmortem changes in muscle. The structure and function of muscle. Vol II pp 243-309. New York Academic press
- Bendall, J. R.; Swatland, H. J. 1998 A Review of the relationship of pH with physical aspects of pork quality. *J. Meat Sc.* 24, 85-126.
- Beriain, M.J. (1998). Marcas de calidad de carne de vacuno en Europa. *Mundo Ganadero Septiembre*, 32-39.
- Bergmeyer, H.V. and Bernt, E. 1974 Amylo-1,6-glycosidase for the Determination of Glycogen. In: Bergmeyer, H.V., Ed., *Methods of Enzymatic Analysis*, Vol. 3, Academic Press, New York, London, 1127.
- Bermingham, E. N.; Hesketh, J. E.; Sinclair, B. R.; Koolard, J. P.; Roy, N. C. 2014 Selenium – enriched foods are more effective at increasing glutathione peroxidase (GPx) activity compared with selenomethionine: A Meta-analysis. *Nutrients* 6(10) 4002-4031
- Betti, M., Schneider, B.L., Wismer, W.V., Carney, V.L., Zuidhof, M.J., & Renema, R.A. (2009). Omega-3-enriched broiler meat: 2. Functional properties,

oxidative stability, and consumer acceptance. *Poultry Science*, 88, 1085-1095

Boiago, M. M.; Borba, H.; Leonel, F. R.; Giaampietro-Ganeco; Ferrari, F. B.; Stefani, L.M.; de Souza, P.A. 2014. Sources and levels of selenium on breast meat quality of broilers. *Fontes e níveis de selênio sobre a qualidade da carne do peito de frangos de corte* Ciência Rural, Santa Maria, v.44, n.9, p.1692-1698

Bou R. F.; Guardiola, F.; Tres, A.; Barroeta, A.C.; Codony R. 2004. Effect of dietary fish oil, α -tocopherol acetate, and zinc supplementation on the composition and consumer acceptability of chicken meat. *Poultry Science* 83:282-292.

Bertram, S.; Petersen J.S.; Andersen H.J. 2002 Relationship between RN- genotype and drip loss in meat from Danish pigs *Meat Science*

Brigelius-Flohe, R., 1999. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic. Biol. Med.* 27, 951.

Bunk, M. J., and Combs, G. F. Jr. 1980. Effect of selenium on appetite in the selenium-deficient chick. *J. Nutr.* 110:743–749.

Burk, R. F. 1976. Selenium in man. In: trace elements in human health and disease, Prasad. A.S. And D. Overleas (Ed) Academic Press, New York, pp 105-133.

Burnell, J.N. and Whatley, F.R. 1977. Sulfur metabolism in *Paracoccus denitrificans*: Purification, properties and regulation of cysteinyl- and methionyl-tRNA synthetase. *Biochem. Biophys. Acta.*, 481: 266-278.

Buttler, G. W.; Peterson, P.J. 1967. Uptake and metabolism of inorganic forms of selenium-75 by *Spirodelia oligorrhiza*. *Aust.J.Biol.Sci.* 20:77-86.

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, 518–528.

- Cai, X.E.; Block, E.; Uden, P.C.; Zhang, X. Qiumby, B.D.; Silluvan J. J. 1995. Allium chemistry; identification of selenoamino acids in ordinary and selenium enriched garlic, onion and broccolu using gas chromatography with atomic emission detection. *J. Agric. Food Chem.* 43; 1754-1757.
- Cantor, A. H.; Moorehead, P. D and Musser M. A. 1982. Comparative effects of sodium selenite and selenomethionine upon nutritional muscular dystrophy, selenium-dependent glutathione peroxidase, and tissue selenium concentrations of turkey poult. *Poultry Sci.* 61:478–484.
- Cañeque, V., Huidobro, F.R., Dolz, J.F. et al. 1989. Producción de carne de cordero. 1. ed. Madrid: Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. 520p.
- Cao X., Zhang W. and Wang R. (2001) Effects of selenium source and level on performance, immune function and meat quality in AA broilers *Alltech's 17th Annual Science & Technology in the Feed Industry Symposium* . Lexington, Ky.
- Castromán, G.; del Puerto, M.; Ramos, A.; Cabrera, M.C.; Saadoun, A. 2013. Organic and Con-ventional Chicken Meat Produced In Uruguay: Colour, Ph, Fatty Acids Composition and Oxidative Status. *American Journal of Food and Nutrition*, 1, 12-21
- 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. *Biochem. Biophys. Acta.* 1773:93-104.
- Cheng Q.; Wen Sun D. 2008. Factors affecting the water holding capacity of red meat products: a Review of recent research advances. *Critical Reviews in Food Sc. and Nutrition* 48:137-159
- Choct., M.; Naylor A. J.; Reinke N. 2004. Selenium supplementation affects broiler growth performance, meat yield and feather coverage, *Br. Poultry Science* 45:677-683
- Combs, G. F. Jr.; Combs, S. B. 1986 *The Role of Selenium in Nutrition*. New York, Academic Press, Inc., 1986.

- Crespo, N., and E. Esteve-Garcia. 2001. Dietary fatty acid profile modifies abdominal fat deposition in broiler chickens. *Poult. Sci.* 80:71–78.
- Daun, C. y 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: 295-303.
- Deniz Gezen S.S. and Turkman I.I. (2005) Effects of two supplemental dietary selenium sources (mineral and organic) on broiler performance and dripp loss. *Revue Méd. Vét.*, 156: 8–9, 423–426.
- De Almeida, J. N.; Dos Santos, G. R.; Beбето, F. M.; De Medeiros, L. G.; Oba, A.; Shimokomaki, M.; Soares, A. L. 2012. Dietary supplementation of chelated selenium and broiler chicken meat quality. *Semina-Cincias Agrarias*, 33 (Suppl. 2) 3117-3122.
- De Vore, V. R.; Greene, B. E. 1982 Glutathion peroxidase in post rigor bovine semi-tendinous muscle *J. of Food sc* 47:1406-1409
- Decker, E. A., Y. L. Xiong, J. T. Calvert, A. D. Crum, and S. P. Blanchart. 1993. Chemical, physical and functional properties of oxidized turkey white muscle myofibrillar proteins. *J. Agric. Food Chem.* 41:186–189.
- Decker, E.A.; Mei, L. 1996. Antioxidant mechanisms and applications in muscle foods. In: 49th Annual Reciprocal Meat Conference. Proceedings. Provo, UT. pp. 64–72
- Del Puerto, M.; Cabrera, M. C.; Ramos, a.; Castromán, G.; Olivero, R.; Saadoun, A. 2011 Almidon dietario y su influencia en al cinetica del pH, color y retención de agua en m Pectoralis y Gastrocnemius aviar Congreso AUPA 2011
- Delles, R. M.; Xiong, Y. L.; True, A. D.; Touying, A. O.; Dowson, K. A. 2014 Dietary antioxidant supplementation enhances lipid and protein oxidative stability of chicken broier meat through promotion of antioxidant enzyme activity. *Poultry Science* 93:1561-1570

- Descalzo, A. A.; Insani, E. M.; Margaria, C. A.; Garcia, P. T.; Josifovich, J.; Pensel, N. A. 2005. Antioxidant status and lipid oxidation in fresh Argentine beef from pasture and grain-fed steers with vitamin E supra-nutritional supplementation. In Proceedings of the 46th international congress of meat science and technology (pp. 562–563) Auckland 4.II-p18.
- Dlouha S., Sevcikova A., Dokoupilova Zita L., Heindl J. and Skri- van M. (2008). Effect of dietary selenium source on growth performance, breast muscle selenium, glutathione peroxidase activity and oxidative stability in broilers. Czech J. Anim. Sci. 53, 265-269
- Dou T.C., Shi S.R., Sun H.J. and Wang K.H. 2009. Growth rate, carcass traits and meat quality of slow growing chicken grown according to three raising systems. Anim. Sci. Pap. Rep. 27, 361-369.
- Downs K.M., Hess J.B. and Bilgili S.F. 2000. Selenium source effect on broiler carcass characteristics, meat quality and drip loss. J. Appl. Anim. Res. 18, 61-72.
- Duclos, M. J.; Berri, C.; Le Bihan-Duval, E. 2007. Muscle growth and meat quality. J. Appl. Poult. Res. 16:107-112
- Echevarria M.G., Henry P.R., Ammerman C.B., Rao P.V., Miles R.D. 1988. Estimation of the relative bioavailability of inorganic selenium sources for poultry. 1.Effect of time and High dietary selenium on tissue selenium uptake. Poult. Sci., 67, 1295–1301.
- Edens FW, Parkhurst CR, Havenstein GB, Sefton AE 2001. Housing and selenium influences on feathering in broilers. J. Appl. Poultry. Res. 10: 128-134.
- Edens, F. W. 1996. In Biotechnology in feed industry. Proceedings from Alltech's 12th Animal Symposium pp165-185 Eds T.P. Lyins and K.A. Javques Nottingham University, U.K.
- Edens, F. W. 1997. Potential for organic selenium to replace selenite in poultry diets. Zootec. Int., 20, 28–31

- Edens, F.W., Carter, T.A.; Parkhurst C.R.; and Sefton A.E., 2000. Effect of selenium source and litter type on broiler feathering. *J. Appl. Poult. Res.*, 9: 407-413
- Fernández-Lopez, J., N. Zhi, L. Aleson-Carbonell, J. A. Perez-Alvarez, and V. Kuri. 2005. Antioxidant and antibacterial of natural extracts: Application in beef meatballs. *Meat Sci.* 69:371–380.
- Fernández, M., Ordóñez J.A., Cambero, I., Santos, C., Pin, C., & De la Hoz, L. 2007. Fatty acid compositions of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications. *Food Chemistry*, 9, 107–112.
- Fernández, X., & Tornberg, E. 1991. A review of the causes of variation in muscle glycogen content and ultimate pH in pigs. *J. of Muscle Foods*, 2(3), 209-235
- Fischer, C., Hamm, R. and Honikel, K.O. 1979. Changes in solubility and enzymic activity of muscle glycogen phosphorylase in PSE-muscles. *Meat Sci.* 3: 11-19.
- Fletcher D.L. 1999. Colour variation in commercial packed broiler breast fillet. *J. of Appl. Poultry Research* 8:67-69
- Forrest, J.C., Aberle, E.D., Hedrick, H.B., Judge, M.D. y Merkel, R.A. (1979). *Fundamentos en ciencia de la carne*. Acribia. Zaragoza.
- Forstrom, J. W.; Zakowski, J.J; Tappel, A. L.1978 Identification of the catalytic site of rat liver glutathione peroxidase as selenocisteína. *Biochemistry* 17;2639-2644
- Franke, K. W.; Potter, V.R. 1935. A new toxicant occurring naturally in certain samples of plant foodstuffs OX. The toxic effects if orally ingested selenium *J. Nutr.* 10;213-218
- Gao, X. M.; Spreen, T 1994 A microeconomic Analysis of the U.S. Meat Demand. *Canadian Journal of Agricultural Economics* 42(3): 397-412
- Gatellier, P., Mercier, Y.; Renner, M. 2004. Effect of diet finishing mode (pasture or mixed diet) on antioxidant status of Charolais bovine meat *Meat Science* 67 (2004) 385–394

- Ghazi Harsini, S.; Habibiyan, M.; Mehdi Moeini, M.; Reza Abdolmohammad, A. 2012. Effects of dietary selenium, vitamin E and their combination on growth, serum metabolites and antioxidant defense system in skeletal muscle of broilers under heat stress. *Biol. Trace Elem. Res.* 148:322-330.
- Gou, X.; Wu, L. 1998. Distribution of free seleno-amino acids in plant tissues of *Melilotus indica* L. grown in selenium-laden soils. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 39, 207-214
- Göçmen, R.; Yazgan, O.; Cufadar Y. 2016 Effect of different organic and inorganic selenium levels on performance, selenium concentration of some tissues, glutathione peroxidase enzyme and meat quality in broilers. *The Journal of Animal & Plant Science* 26(4): 2016, Page: 916-923
- González, E and Tejeda, J. F. 2007. "Effects of dietary incorporation of different antioxidant extracts and free-range rearing on fatty acid composition and lipid oxidation of Iberian pig meat, *Animal*, vol. 1, no. 7, pp. 1060–1067.
- Grashorn M. A. 2007 Functionality of Poultry Meat . *J. Appl. Poult. Res.* 16:99–106
- Grashorn, M. A. 2011 Functionality of poultry meat *Journal of Applied Poultry research* 16:99-106
- Gray, J. I., E. A. Gomaa, and D. J. Buckley. 1996. Oxidative quality and shelf life and meats. *Meat Sci.* 43:S111–S123.
- Greaser, M.L. 1986 Conversion of muscle to meat. In *Muscle as a food* (Ed P.J. Betchtel), pp 37-101 Orlando. Academic press
- Günzler, A.; Flohé L. 1985 Glutathione peroxidase In Greenwald R.A. (ed) CRC. Press Inc. Boca raton, Florida, USA vol 1:285-290
- Guo X., Wu L. 1998. Distribution of free seleno-amino acids in plant tissue of *Melilotus indica* L. grown in selenium-laden soils. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 39, 207–214.

- Halliwell, B.; Murcia, M.,A.; Chirico, S.; Aruoma O.,I. 1995. Free radicals and oxidants in food and in vivo: what they do and how they work. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 35(1&2) 7-20
- Hassan, S., J. Hakkarainen, P. Lindberg, and S. Sankari. 1988. Comparative effect of dietary sodium selenite on whole blood and plasma selenium and glutathione peroxidase in the chick. *Nutr. Rep. Int.* 38:865–871.
- Haug A., Eich-Greatorex S., Bernhoft A., Wold Jens P., Hetland H., Christophersen O. A., Sogn T. 2007 Effect of dietary selenium and omega-3 fatty acids on muscle composition and quality in broilers. *Lipids in Health and Disease.* 6. P. 29
- Hawkes, W. C., E. C. Wilhelmsen, and A. L. Tappel. 1985. Abundance and tissue distribution of selenocysteine-containing proteins in the rat. *J. Inorg Biochem.* 23-77 -92
- Heindl, J.; Ledvinka, Z.: Tůmová, E.: Zita, L. 2010 The importance, utilization and sources of selenium for poultry: a review. *Scientia Agruculturae Bohemica* , 41 (1): 55–64
- Henckel P.; Karlsson, A; Jensen M. T.; Oksbjerg N., Petersen J. S.; 2002. Metabolic conditions in porcine Longissimus muscle immediately pre-slaughter and its influence on peri and post- mortem energy metabolism. *Meat Science* 62,145-155
- Henry, P. R., y C. B. Ammerman. 1995. Selenium bioavailability. Page 301 in *Bioavailability of Nutrients for Animals.* ed. Academic Press, New York
- Hess, J.B., K. M. Downs and S.F. Bilgili, 2003. Selenium nutrition and poultry meat quality. In: T.P. Lyons and K.A. Jacques (Eds.), *Biotechnology in the Feed and Food Industries: Beyond the Storm.* Nottingham University Press, Nottingham NG 110 AX, U.K. *Proc. 19th Alltech Ann. Sympos.*, 19: 107-112.

- Huff-Lonergan, E.; Lonergan, S. M. 2005. Mechanism of water holding capacity of meat; The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science* 71;194-204
- Ichibara, K.; Shibahara, A.; Kamamamoto, K.; Nakayama, T. (1996). An improved method for rapid analysis of the fatty acids of glycerolipids. *Lipids*, 31(5): 535-539.
- 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 display of beef produced in Argentina. *Meta sci.* 79;444-452.
- Joksimović Todorović, M., Davidović, M.; Sretenović, Lj. 2012. The effect of diet selenium supplement on meat quality. *Biotechnology in Animal Husbandry* 28 (3), p 553-561.
- Jun-Gang Li; Li Chang-Zhou; Hua-Zhao; Xin-Jie Xia; Kang-Ning Wong. 2011. Enhanced water holding capacity of meat was associated with increased *Sepp1* gene expression in pigs fed selenium enriched yeast. *Meat Science* V87 I2, 95-100.
- Juniper, D. T.; Phipps, R. H.; Ramos-Morales, E.; Bertin G. 2008 Effect of dietary supplementation with selenium-enriched yeast or sodium selenite on selenium tissue distribution and meat quality in beef cattle. *J Anim Science* 86:3100-3109
- Kelly MP, Power RF 1995. Fractionation and identification of the major selenium containing compounds in selenized yeast. *J Dairy Sci* 78(suppl 1):237
- Kim Y.Y., Mahan D.C. 2003: Biological aspects of selenium in farm animals. *Asian-australas. J. Anim. Sci.*, 16, 435–444
- Kim, Y. J.; Park, W. Y.; Choi, I. H. 2010 Effects of dietary α -tocopherol, selenium and their different combination on growth performance and meat quality of broiler chicks. *Poultry Science* 89:603-608

- Kim, Y.Y. y Mahan DC. 2001. Comparative effects of high dietary levels of organic and inorganic Se on Se toxicity of growing finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 79: 942-948.
- King, A. J., Uijttenboogaart, T. G., & de Vries, W. (1995). α -Tocopherol, β -carotene and ascorbic acid as antioxidants in stored poultry muscle. *Journal of FoodScience*, 60, 1009–1012
- Korniluk, K., Czauderna, M., & Kowalczyk, J. (2007). The influence of dietary conjugated linoleic acid isomers and selenized yeast on the fatty acid profile of the spleen, pancreas and kidneys of rats. *Journal of Animal & Feed Science*, 16, 121-139.
- Kralik, Z., Kralik, G., Grčević, M., Suchý, P., & Straková, E. (2013). Effects of increased content of organic selenium in feed on the selenium content and fatty acid profile in broiler breast muscle. *Acta Veterinaria Brno*, 81, 31-35.
- Krstic, B., Z. Jokić, Z. Pavlović and D. Zivković. 2011. Options for the production of selenized chicken meat. *Biol. Trace Elem. Res.* 146:68-72.
- Kuricová, S.; Boldizarová, K.; Gresaková, L.; Bobcek, L.; Levkut, M.; Leng, L.:2003 Chicken selenium status when fed a diet supplemented with Se-yeast. *Acta Vet. Brno*, 72: 339–346
- Kylä –Puhju, M.; Ruusunen, M.; Poulanne, E. 2005. Activity of porcine muscle glycogen debranching enzyme in relation to pH and temperatura. *J. Meat Science* 69–143-149
- Lawrie, R.A. (1998). *Ciencia de la carne*. Acribia. Zaragoza
- Leeson, S., Namkung, H., Caston, L., Durososy, S., Schlegel, P., 2008. Comparison of selenium levels and sources and dietary fat quality in diets for broiler breeders and layer hens. *Poultry Science* 87, 2605–2612.

- Leskanich, C. O.; Noble, R.C. 1997. Manipulation of the ω -3 polyunsaturated fatty acid composition of avian eggs and meat. *World Poultry Science Journal*, 53, 155-183.
- Levander, O.1986. Selenium; in trace Elements on human and animal nutrition. Mertz W. (Ed) Academic Press, Orlando FL. Pp 209-280
- Li J., Zhou J., Zhao H., Lei X., Xia Z., Gao G., et al. 2011. Enhanced water-holding capacity of meat was associated with increased *Sepw1* gene expression in pigs fed selenium-enriched yeast. *Meat Sci.* 87:95–100.
- Livingston, D.J., Brown, W.D., 1981. The chemistry of myoglobin and its reactions (Meat pigments, food quality indices). *Food Technology*, Vol.35, nº5, págs. 238-252.
- Iizuka, Y., Sakurai, E., Maeda, K. and Hikichi, N. (1993) Effects of Selenium on the Glycolysis and Gluconeogenesis System in Rat Liver. *Yakugaku Zasshi*, 113, 525-531.
- Lomako, J.Lomako, W. M.; Whelan. 1991. Proglycogen; a low molecular weight form of muscle glycogen *FEBS V279*,I2. 223-228.
- Lonergan, E.; Wilson E.W. 2008.Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. *Meat Science*. 79(1): 46-63.
- Lopez-Ferrer, S., M. D. Baucells, A. C. Barroeta, and M. A. Grashorn. 1999. Influence of vegetable oil sources on quality parameters of broiler meat. *Arch. Geflügelkd.* 63:29–35.
- Dhumal, M. V.; Nikam, M. G.; Khose, K.K.; Ingle, V.D. 2013. Comparative effect of selenium source on the performance, meat quality and meat oxidative stability of broiler chickens
- Machat J., Čmelík J., Doucha J., Otruba V. (2005): Selenem obohacene řasy *Chlorella* – frakcionace forem selenu. In: *Mikroelementy 2005*. 2THETA, Český Těšín, 71–75.

- Macit M, Aksakal V, Emsen E, Esenbuga N, Aksu MI (2003) Effects of vitamin E supplementation on fattening performance, non-carcass components and retail cut percentages, and meat quality traits of Awassi lambs. *Meat Sci* 64:1–6
- Mahan D.C., Parrett N.A. (1995): Evaluating the efficacy of selenium-enriched yeast and sodium selenite on tissue selenium retention and serum glutathione peroxidase activity in grower and finisher swine. *J. Anim. Sci.*, 74, 2967–2974.
- Mahan DC, Cline TR, Richert B (1999). Effects of dietary levels of selenium enriched yeast and sodium selenite as selenium sources fed to growing finishing pigs on performance, tissue selenium, serum glutathione peroxidase activity, carcass characteristics and loin quality. *J. Anim. Sci.* 77: 2172-2179.
- Mahima, A. K. Verma, A. Kumar, A. Rahal, V. Kumar and D. Roy,, 2012. Inorganic versus organic selenium supplementation: A review.. *Pak. J. Biol. Sci.*, 15 : 418-425.
- Mahmoud, A. Z. 1997. Experimental studies on the combined effect of some aminoacids, mineral and vitamins on the pathological changes of aflatoxin B1 in albino rats. *Poultry Science Association, Athens*, v.76, n.1, pp 97.
- Mahmoud, K. Z., and F. V. Edens. 2003. Influence of selenium sources on age-related and mild heat stress-related changes of blood and liver glutathione redox cycle in broiler chickens (*Gallus domesticus*). *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 136:921–934.
- Maraschiello C., Sárraga C.; García Regueiro J. A.1999. Glutathione peroxidase activity, TBARS, and α -Tocopherol in meat from chickens fed different Diets *J. Agric. Food Chem.*, 47 (3), pp 867–872
- Maribo H.; Stoier S.; Jorgensen P. F. 1999 Procedure for determination of glycolytic potencial in porcine M. Longissimus dorsi. *Meat Science* 51 (2) 191-193

- Markham, G.D.; Hafner, E.D.; Tabor C. W.; Tabor, H. 1980.S-Adenostlmethionine synthetase from Escherichia coli. J. Biol. Chem, 255;9082-9092
- Matés, J.M; Pérez-Gómez, C.; Nuñez de Castro, I. 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. Clinical Chemistry. 32 (8): 595-603.
- Mehdi, Y., & Dufrasne, I. (2016). Selenium in cattle : a review. Molecules, 21, 545 metabolism in humans. J. Nutr. 122:709-714
- Miezeline A.; Alencikie G.; gruzaukas R.; Tautvydas, B. 2011. The effcet of dietary selenium supplementation on meta quality of broiler chickens Biotechnology Agron. Soc. Envirom. 51 (51) 61-69
- Mikulski D., Jankowski J.,Zduńczyk Z., Wroblewska M., Sartowska K., Majewska T. 2009 The effect of selenium source on performance, carcass traits, oxidative status of the organism, and meat quality of turkeys. Journal of Animal and Feed Scinces. 18. P. 518–530.
- Miller, K. D.; Ellis, M.; Sutton, D. S. ; McKeith, F. K. (2000) Effects of live animal sampling procederes and sample storage on the glycolitic potencial of porcine longissimus muscle samples. Journal of muscle foods, 11, p. 61-67.
- Mills G.C. (1957): Hemoglobin metabolism I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protect haemoglobin from oxidative damage. J. Biol. Chem., 229,189–197
- Moksnes, K.; Norheim G. 1982. Selenium concentration in tissues and eggs of growing and lying chickens fed sodium selenite at different levels. Acta Vet Scand. 13:368-379.
- Monin, G. 2004 Pig slaughtering and carcass and meat quality. Production Animales vol: 16 (4) 251-262
- Morrissey, P.,A., Sheehy P., J., A.; Galvin K.; Kerry, J., P.; Buckley D., J. 1998. Lipid stability in meat and meat products. Meat Science 49:73-86

- Morrisey, P.A.; Buckley D.J.;Sheehy, P.J.A.; Monaham F.J.1994 Vitamin E and meat quality Proceeding of the Nutrition Society 53,289-295
- Naylor, A. J.; Choct, M. Jacques K. A. 2000.Effects of selenium sources and level on performance and meat quality in male broilers. Poultry Science 79 (Suppl.);117
- Netto, A. S.; Zanetti, M. A.; Claro, G. R. D.; De Melo, M. P. Vilela, F. G. and Correa, L. B. 2014 Effects of copper and selenium supplementation on performance and lipid metabolism in confined brangus bulls,” Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, vol. 27, no. 4, pp. 488–494.
- Nissen P. M.; Young, J. F. 2006 Creatine monohydrate and glucose supplementation to slow- and fast-growing chickens changes the postmortem pH in Pectoralis major. Poultry Sc. 85:1038-1044
- NRC. Naci6nal Research Council. 1994. Nutrient Requeriments of Poultry. 9th Revised Edition (Washintong, D.C., National Academy Press.)
- NCSS software release 2006, 329 North 1000 East, Kaysville, UT84037, USA2011
- Nyam News: Selenium, nutrition and health. Caribbean Food and Nutrition Institute, Nyam News, 2005, 1, 2.
- Okada, T., Furuhashi, N., Kuromori, Y., Miyashita, M., Iwata, F., & Harada, K. (2005). Plasma palmitoleic acid content and obesity in children. American Journal of Clinical Nutrition, 82, 747-750.
- Okada 2014
- 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. J. Appl. Poultry Res. 23;15-22
- Olson, O. E., Novacek, E. J., Whitehead, E. I. Palmer, I. S. 1970 Investigations on selenium in wheat. Phytochemistry 9, 1181-1188

- Ortman, K.: 1999 Organic vs. Inorganic Selenium in Farm Animal Nutrition with Special References to Supplementation of cattle:doctoral thesis. University of Agricultural Sciences, Sweden,
- Owens CM, Mckee SR, Matthews NS, Sams AR. 2000;The development of pale, exudative meat in two genetic lines of turkeys subjected to heat stress and its prediction by halothane screening. Poultry Science 79: 430-435
- Pappas, A.; Acamovic, T.; Surai, P. & McDevitt R. 2006. Maternal organo-Selenium compounds and polyunsaturated fatty acids affect progeny performance and level of selenium and docosahexanoic acids in the chick tissues. Poultry Science 85:1610-1620.
- Patterson, B. H., and L. A. Zech. 1992. Development of a model for selenite
- Patterson, B. H., O. A. Levander, K. Helzlsouer, P. A. McAdam, S. A. Lewis, P.R. Taylor, C. Veillon, and L. A. Zech. 1989. Human selenite metabolism: a kinetic model. Am. J. Physiol. 257:R556-R567.
- Patterson, E.L., R. Milstrey and E.L.R. Stokstad, 1957. Effect of selenium in preventing exudative diathesis in chicks. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 95: 617-620.
- Pavlata L., Pechova A., Illek J. (2000): Direct and indirect assessment of selenium status in cattle - a comparison. Acta Vet. Brno, 69, 281–287.
- Pavlata, L.; Misurova, L.; Pechova, A.; Dvorak, R. 2011 The Effect of inorganic and organically bound forms of selenium on glutathione peroxidase activity in the Blood of goats. Veterinari Med, 56; 75-81
- Pavlata, L.; Ollek, J.; Pechová, A. 2001. Blood and tissue selenium concentration in calves treated with inorganic or organic selenium compounds- A comparison. Acta Vet. (Brno) 70;19-26.
- Payne RL, Southern LL (2005) Comparison of inorganic and organic selenium sources for broilers. Poult Sci 84:898–902

- Pearson A. M.; Young, R. B.; 1989. Muscle and meat biochemistry Meat Science 27(3)273-4.
- Pedrero Z, Madrid, Y. 2009 Novel approaches for selenium speciation in food stuffs and biological specimens: A review Anal Chim acta 634:135-52
- Penny, I.J. 1967 The influence of pH and temperature on the properties of myosin. Biochemical J., 104, 609-615
- Pereira, A.S.C.; Santos, M. V. D.; Aferri, G. *et al.*, 2012. “Lipid and Selenium sources on fatty acid composition of intramuscular fat and muscle selenium concentration of Nellore steers,” Revista Brasileira de Zootecnia, vol. 41, no. 11, pp. 2357–2363.
- Perez, T. I.; Zuidhof, M. J. ; Renema, R. A.. Curtis, J. M . Ren, Y; Betti,M. 2010 “Effects of vitamin E and organic selenium on oxidative stability of α -3 enriched dark chicken meat during cooking ,” Journal of Food Science, vol. 75, no. 2, pp. T25–T34.
- Perić L, Milošević N, Žikić D, Kanački Z, Džinić N, Nollet L, Spring P (2009) Effect of selenium sources on performance and meat characteristics of broiler chickens. J Appl Poult Res 18:403–409
- Peterson, P. J., and G. W. Butler. 1962. The uptake and assimilation of selenite by higher plants. Aust. J. Biol. Sci. 15:126-146.
- Petron, M. J.; Raes K.; claeys E.; Laurenço M.; Fremant D; De Smet, S. 2007 Effects of grazing pastures of different botanical composition on antioxidant enzyme activities and oxidative stability of lamb meat. Meat Science, 75: 737-745
- Ponsano, EHG; Pinto, MF; García-Neto, Lacava PM. 2004. Performance and color of broilers fed diets containing *rhodocyclus gelatinosus* biomass. Revista Brasileira de Ciencia Avicola Vol 6 N 4.
- Purnell, G., Mattick, K., & Humphrey, T. 2004. The use of “hot wash” treatments to reduce the number of pathogenic and spoilage bacteria on raw retail poultry. Journal of Food Engineering, 62: 29-36.

- Praagman, J., Beulens, J.W., Alssema, M., Zock, P.L., Wanders, A.J., Sluijs, I., & van der Schouw, Y.T. (2016). The association between dietary saturated fatty acids and ischemic heart disease depends on the type and source of fatty acid in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition-Netherlands cohort. *American Journal of Clinical Nutrition*, 103, 356-65.
- Rajashree, K.; Muthukumat, T.; Karthikeyan N. 2014. Onfluence of inorganic and organic selenium sources on broiler performance and meat quality. *Iranian Jornal of Applied Science* V4,N. 1 151-157
- Rao MV, Gault NFS anif Kennedy S (1989). Variations in water-holding capacity due to changes in the fibre diameter, sarcomere length and connective tissue morphology of some bee f muscles under acidic conditions below the ultimate pH. *Meat Sci. Meat Sci.* 1989;26(1):19-37
- Ratnayake, W. M. N.; Ackman, R. G.; Hulan H. W. Effect of redfish meal enriched diets on the taste and n-3 PUFA of 42-day-old broiler chickens. *J Sci Food Agric.* 1989;49:59–74.
- Rayman M.P. 2000. The importance of selenium to human health. *Lancet*, 356, 233–241.
- Rayman M.P. 2004. The use of high-selenium yeast to raise selenium status: how does it measure up? *Brit. J. Nutr.*, 92, 557–573.
- Rayman, M.P.; Infante, H.G.; Sargent, M. 2008. Food-chain selenium and human health: spotlight on speciation. *Br Journal* 100,238-253.
- Renner, M. 1982 Influence de l'âge et du poids à l'abattage sur le couleur des viandes bovines. *Sci Alim* (2): 17-30

- Rhee, K.S, Anderson, L.M, Sams, A.R, 2005 Comparison of flavor changes in cooked–refrigerated beef, pork and chicken meat patties, *Meat Science*, 71, 392-396.
- Rhoades, R.D.; King, D.A.; Jenschke, B.E.; Behrends, J.M.; Hively, T.S.; Smith, S.B. 2005. Postmortem regulation of glicólisis by 6-phosphofructokinase in bovine *M. Sternocapalicus pers mandibularis*. *Meat science*, 70, p.621-626.
- Ricard, F.H.: Leclerq, B.: Touraille, C. 1983. Selecting broilers for low or high abdominal fat . distribution of carcass fat and quality of meat. *British Poultry Science* 24:511-516
- Roa
- Rosenvold, K. y Andersen, H.J. 2003. The significance of pre-slaughter stress and diet on colour and colour stability of pork. *Meat Science* 63:199-209
- Rotruck, J. T.; Pope, A. L.; Gauthier, A. L.; Swanson, A. B.; Haferman D. G.; Hoekstra, W. G. 1973 Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidasa *Meat Sc* 179: 588-590
- Ruiz, J. Garcia, C.; del Carmen, D.M.; Cava, R.; Tejeda, J. F.; Ventanas, J. 1999. Dry cured iberian ham non-volatile componenets as affected by the lenth of the curing process *Food Research Internatuinal*.32:643-651.
- Rutz, F.; Pan, E. A.; Xavier, G. B.; Anciuti M. A. 2003. Meeting selenium demands pf modern poultry; Responses to Sel-Plex TM organic selenium in broiler and breeder diets. Pages 145-461 in *Biotechnology in the Feed and Food Industries; Beyond the Storm*. Proc. 19th Alltech Ann Symp T. P. Lyons and K. A. Jacques ed. Nottingham, IK.
- Ryu Y. C.: Rhee, M.S.; Lee, K. N.; Kim, B.C. 2005. Effect of different levels of dietary supplemental selenium on performance, lipid oxidatiom and color stability of croiler chicks. *Poultry Science* 84(5) 809-815

- Salman, S.; Dinse, D.; Khol-Parisini, A. *et al.* 2013. "Colostrum and milk selenium, antioxidative capacity and immune status of dairy cows fed sodium selenite or selenium yeast," *Archives of Animal Nutrition*, vol. 67, no. 1, pp. 48–61.
- Schacter, E. 200. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab. Rev.* 32(3-4):307-326
- Schafer, K; Kyriakopoulos, A.; Gessner, H.; Grune, T.; and Behne, D. 2004. "Effects of selenium deficiency on fatty acid metabolism in rats fed fish oil-enriched diets," *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, vol. 18, no. 1, pp. 89–97.
- Schwarz, K. and C.M. Foltz, 1957. selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J. Am. Chem. Soc.*, 79: 3292-3293.
- Schrauzer, G. N. 1998. Seleniomethionine and selenium yeast appropriate forms of selenium for use in infant formulas and nutritional supplements. *J. Med. Foods* 1, 201- 206
- Schrauzer G. N. 2001. Nutritional selenium supplements: products types, quality, and safety. *J. An. Coll. Nutri.* 20:1-4
- Schrauzer G.N. (2000): Selenomethionine: A review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. *J. Nutr.*, 130, 1653–1656.
- Schrauzer, G. N. 2003. The nutritional significance, metabolism and toxicology of selenomethionine. *Adv. Food Nutr. Res.* 47:73–112
- Schroeder, H. A.; Frost, D. C.; Balassa, J.J. 1970. Essential trace metals in man; selenium. *J. Chron. Dis.* 23; 227-243
- Scientific Journal of Veterinary Advances* 2(10) 150-156
- Schwarz, K. and C.M. Foltz, 1957. selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J. Am. Chem. Soc.*, 79: 3292-3293.
- Scopes, R. K. (1974) The rate and extent of glycolysis in simulated post-mortem conditions. *Biochem. J.*, 142, p.79-86.

- Scott, M. L. and J. N. Thompson. 1971. Selenium content of feedstuffs and effects of dietary selenium levels upon tissue selenium in chicks and poults. *Poult. Sci.* 50:1742-1748.
- Sepponen, K., Koho, N., Puolanne, E., Ruusunen, M., & Pösö, A.R. (2003). Distribution of monocarboxylate transporter isoforms MCT1, MCT2 and MCT4 in Porcine Muscles. *Acta Physiologica Scandinavica*, 177(1), 79-86.
- Sevcikova, S.; Skrivan, M.; Dlouha, G.; moucky, M. 2006 The effect of selenium source on the performance and meat quality of broiler chickens. *Czech J. anim Sci* 51 (10):449-457.
- Skrivanova, E.; Marounek, M.; De Smet, S.; Raes, K. 2007 Influence of dietary selenium and vitamin E on quality of veal, *Meta Science* 76;495-500.
- Spears, J. W.; Grimes, J. Lloyd, K. Ward, T. L. 2003 Efficacy of a novel organic selenium compound (Zinc-selenomethionine available-Se) in broiler chicks 197-198 in proc. 1st Latinamerican Congr. Anim. Nutr Cancun Mexico.
- Stapleton, S. R. 2000 Selenium: an insulin-mimetic, *CMLS, cell Mol Life Sci.* 57
- Suchy, P.; Strakova, E.; Herzig, I. 2014 Selenium in poultry nutrition: a review *Czech J. Anim Sci*, 59, (11)pp 495-503.
- Sunde, R. A. 1997. Selenium in; *Handbook of nutritional essential trace mineral elements*, O'Dell, B.L. and R. A. Sunde (Eds) Marcel Dekker Inc., New York, pp493-556
- Sunde, R. A., and W. G. Hoekstra. 1980. Incorporation of selenium from selenite into selenocysteine into glutathione peroxidase in the isolated perfused rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 93:1181–1188.
- Surai, P. F. 2002. Selenium in poultry nutrition 1. Antioxidant properties, deficiency and toxicity. *World's Poult. Sci. J.* 58:333–347.
- Surai, P. F. 2002. Selenium in poultry nutrition 2. Reproduction, egg and meat quality and practical applications. *World's Poult. Sci. J.* 58:431–450.

- Surai, P. F. 2006. Selenium absorption and metabolism. Pages 161–171 in *Selenium Nutrition and Health*. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- Svoboda et al 2008
- Surai, P.F., Brillard, J.-P., Speake, B.K., Blesbois, E., Seigneurin, F., Sparks, N.H.C., 2000. Phospholipid fatty acid composition, vitamin E content and susceptibility to lipid peroxidation of duck spermatozoa. *Theriogenology* 53, 1025–1039.
- Svoboda, M.; Ficet, R.; Drabek, J. 2008. Efficacy of organic selenium from se-enriched yeast on selenium transfer from sows piglets. *Act of Vet, Brno* 77.515-521
- Swain B.K., Johri T.S., Majumdar S. (2000): Effect of supplementation of vitamin E, selenium and their different combinations on the performance and immune response of broilers. *Brit. Poult. Sci.*, 41, 287–292.
- Swanson, A. B., B. H. Patterson, O. A. Levander, C. Veillon, P. R. Taylor, K. Helzlsouer, P. A. McAdam, and L. A. Zech. 1991. Human selenomethionine metabolism: a kinetic model. *Am. J. Clin. Nutr.* 54:917-926.
- Tarrant P. V. 1989 The Effect of transport, slaughter and chilling on meat quality and yield in pigs *J. of Food Science and Technology* 13, 79-107
- Tavarez, T.; Mourao, J.L.; Kay, Z.; Spring, P.; Viera, J.; Gomes, A.; Vieira-Pinto, M. 2014. The efecto of replacing inorganic trace minerals with organic Bioplex and Sel-Plex on the performance and meat quality of broilers. *J. of Applied Animal Nutrituon*. Vol2, e 10, pp 1-7
- Taylor, J. B., M. J. Marchello, J. W. Finley, T. L. Neville, G. F. Combs, and J. S. Caton. 2008. Nutritive value and display life attributes of selenium enriched beef muscle foods. *J. Food Compost. Anal.* 21:183–186
- Terevinto, A.; Ramos, A.; Castromán, G.; Cabrera, M. C.; Saadoun, A. 2010 Oxidative status in vitro iron-induced lipid oxidation and superoxid dismutase, atalase and glutathion peroxidase activities in Rhea meat. *Meat Sci.* 84:706-710

- Todorovič M., Mihailović, M., Hristov S. (1999): Effects of excessive levels of sodium selenite on daily weight gain, mortality and plasma selenium concentration in chickens. *Acta Vet. (Beograd)*, 49, 313–320.
- Tornberg, E. 2005 Effects of heat on Meat proteins: Implication on Structure and quality of meat products. *Meat science* 70:493-508
- Totosaus, A.; Perez-Chabela M. L.; Guerrero I. Color of fresh and frozen poultry handbook of meat, poultry and Seafood Quality Cap 35 Edited by Leo M. L. Nollet 2007 copyright 2007 by Blackwell Publishing
- Ulbricht, T.L.V., & Southgate, D.A.T. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*, 338, 982–92
- Upton, J. R.; Edens, F. W.; Ferket, P.R. 2008. Selenium yeast effect on broiler performance. *Int. J. Poultry Science* 7:798-805
- Uruguay S XXI Sector Avicola Setiembre 2015.
- Valceschini E 2006, 'Poultry meat trends and consumer attitudes'. In: Report of National Institute of Agronomic Research, France, pp. 1-10.
- Van Laack, R.L., C.H. Liu, M.O. Smith and H.D. Loveday, 2000. Characteristics of pale, soft, exudative broiler breast meat. *Poult. Sci.*, 79: 1057-1061
- Van Ryssen, J. B.; Deagen, J. T.; Beilstein, M. A.; Whanger P. D. 1989. Comparative metabolism of organic and inorganic selenium by sheep. *Journal of Agricultural Chemistry*. 37;1358-1363.
- Ventanas, S.; Estevez, M.; Tejeda, F.J.; Riuz, J. 2006. Protein and lipid oxidation in *Longissimus dorsi* and crude lipid from Iberian pigs as affected by cross breeding and diet. *Meat Science* 72:647-655
- Wang, C.; Zhu, L.; Brewer, M. S. 1997. Comparison of 2-thiobarbituric acid reactive substances determination methods in various types of frozen, fresh meat. *J. of Food Lipids* 4:87-96
- Wang, Y. B.; Xu, B.H. 2008. Effect of different selenium sources (Sodium, selenite, and selenium yeast) on broiler chickens. *An. Feed Sci. Tech.* 144:306-314

- Wang, Y.; Zhan, X.; Zhang, X.; Wu, R.; and 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*, vol. 143, no. 1, pp. 261–273.
- Warner, R.D.; Kauffman, R.G.; Greaser, M.L. (1997) Muscle protein changes post mortem in relation to pork quality traits. *Meat Science* 45, 339–352
- Warris, P.D, Kestin, S, Brown, S. N, Nute, G. R, 1990 The quality of pork from traditional pig breeds. *Meat Focus International*, , 5, 179-182.
- Whanger, P. D., and J. A. Butler. 1988. Effects of various dietary levels of selenium as selenite or selenomethionine on tissue selenium levels and glutathione peroxidase activity in rats. *J. Nutr.* 118:846–852.
- Whanger, P.D.; Pedersen, N.D; Hatfield, J.; Weiswig, P.H. 1976. Absorption of selenite and seleniomethionine from ligated digestive tract segments in rat. *Exp. Biol. Med.* 153; 295-297.
- Whitacre, M. E.; Combs, G.F.; Combs, S. B.; Parker, R. S. 1987 Influence of dietary vitamin E on nutritional pancreatic atrophy in selenium deficient chicken. *J. Nutr.* 117:460-467
- Woelfel, R. L., Owens, C. M., Hirschler, E. M., Martinez-Dawson, R., Sams, A. R. (2002). The characterization and Incidence of Pale, Soft, and Exudative Broiler Meat in Commercial Processing Plant. *Poultry Science*, 81:579-584
- Wolfram S., Berger B., Grenacher B., Scharrer E. 1989. Transport of seleno amino acids and their sulphur analogues across the intestinal brush border membrane. *Nutr.*, 119, 706–712.
- Wolfram S., Berger B., Scharrer E. (1989b): Transport of selenomethionine and methionine across the intestinal brush border membrane. In: Wendal A. (ed.): *Selenium in Biology and Medicine. Proceedings of the 4th International Symposium on Selenium in Biology and Medicine*. Springer-Verlag, Berlin. 109-113.

- Wright, P.L.; Bell, M.C. 1996. Comparative effects of organic and inorganic selenium on selenium transfer from sows to nursing pigs. *J. Anim. Sci.* 84:1729-1733
- Ylä-Ajos, M.; Ruusunen, M.; Puolanne, E. (2006) The significance of the activity of glycogen debranching enzyme in glycolysis in porcine and bovine muscle. *Meat science*, 72, p.532-538.
- Yang, Y. R. Meng, F. C; Wang, P.; Jiang Y. B ; Yin, Q. Q.; Chang, J.; Zuo, R. Y.; Zheng Q. H.; Liu, J. X. 2012 Effect of organic and inorganic selenium supplementation on growth performance, meat quality and antioxidant property of broilers *African Journal of Biotechnology* Vol. 11(12), pp. 3031-3036
- Yong-Xia Wang, Xiu An Zhan, XiWen Zhang, RuJuan Wu, Dong Yuan. 2011 Comparison of different forms of dietary Selenium Supplementation on Growth Performance , Meat quality, Selenium deposition and Antioxidant Property in Broilers.*Biol Trace elem Res* 143:261-273
- Yoon, I.M Mc Millan, E. 2006. Comparative effect of organic and inorganic selenium transfer from sows nursering pgis *Jornal of Animal Science* 84:1729-1733
- Yoon I., Werner M. and Butler M. (2007). Effect of source and concentration of selenium on growth performance and selenium retention in broiler chickens. *Poult. Sci.* 86, 727-730.
- Yu B P 1994 Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 74:139–162
- Zanini, S. F.; Torres, C. A. A.;Bragagnolo, N.; Turatti, J. M.;Silva, M. G.; and Zanini, M. S. 2004 “Effect of oil sources and vitamin E levels in the diet on the composition of fatty acids in rooster thigh and chest meat,” *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 84, no. 7, pp. 672–682.
- Zduńczyk, Z., Gruzauskas, R., Semaskaite, A., Juskiewicz, J., Raceviciute-Stupeliene, A., & Wroblewska, M. (2011). Fatty acid profile of breast

- muscle of broiler chickens fed diets with different levels of selenium and vitamin E. *Archiv Fur Geflugelkunde.*, 75, 264–267
- 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. *Anim. Feed Sci. Technol.* 132:202–211.
- Zhan, XiuA.; Wang, M.; Zhao, RQ; Li, WF; Xu, ZR. 2011. Effects of different selenium sources on selenium distribution, lion quality and antioxidant status in finiching pigsm *Anim. Feed Science and Technology* 132:202-211
- Zhang W. G; Wang R. (2001) Effects of selenium source and level on performance, immune function and meat quality in AA broilers. *Alltech's 17th Annual Science & Technology in the Feed Industry Symposium* . Lexington, Ky.
- Zhang, Z.; Wang, Q.; Zhang, J.; Li, Y; Wang, X; Shi-wen Xu 2012. Effects of Oxidative Stress on Immunosuppression Induced by Selenium Deficiency in Chickens *Biol Trace Elem Res* 149:352–361
- Zdunczk, Z.; Gruzauskas, R.; Semaskaite, A.; Juskiewicz, J.; Raceviciute-Stupeliene, A.; Wroblewska, M. 2011 Fatty acid profile of breast muscle of broiler chickens fed with different levels of selenium and vitamine E. *Archiv. Fur Geflugelkunde*, 75, 2264-267
- Zhou, X. and Wang, Y. (2011) Influence of Dietary Nano Elemental Selenium on Growth Performance, Tissue Selenium Distribution, Meat Quality, and Glutathione Peroxidase Activity in Guangxi Yellow Chicken. *Poultry Science*, 90,
- Zoidis, E.; Demir, N.; Kominakis, A.; Pappas, A. C. 2014 Meta-analysis of selenium accumulation on expression of antioxidant enzymes in chicken tissues. *International Journal of Animal Bioscience* 8(4):542-554

ANEXOS

TRABAJO PUBLICADO

Research Article

A Note on Fatty Acids Profile of Meat from Broiler Chickens Supplemented with Inorganic or Organic Selenium

Marta del Puerto,¹ M. Cristina Cabrera,^{1,2} and Ali Saadoun²

¹Department of Animal Production & Pastures, Nutrition and Food Quality Laboratory, Faculty of Agronomy, University of the Republic (UDELAR), E. Garzón 809, Montevideo, Uruguay

²Physiology & Nutrition, Faculty of Sciences, University of the Republic (UDELAR), Igúá 4225, Montevideo, Uruguay

Correspondence should be addressed to Ali Saadoun; asaadoun@fcien.edu.uy

Received 3 October 2016; Revised 12 December 2016; Accepted 13 December 2016; Published 17 January 2017

Academic Editor: Rosana G. Moreira

Copyright © 2017 Marta del Puerto et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

This investigation evaluated, in broiler chickens *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles, the effect of the dietary supplementation with sodium selenite (0.3 ppm) versus selenomethionine (0.3 ppm), on the fatty acids composition, lipids indices, and enzymes indexes for desaturase, elongase, and thioesterase. The selenium reduced, in both muscles, the content of atherogenic fatty acids, C14:0 and C16:0, while it increased the C18:1 level. On the other hand, selenium increased, in both muscles, the content of C18:3n3 and EPA, but not DPA and DHA. No selenium effect was detected for PUFA/SFA, n-6, n-3, n-6/n-3, and atherogenic and thrombogenic indices. As for the enzyme indexes, a selenium effect is only detected for thioesterase. Taken together, the results highlight the potential effect of dietary selenium, mainly selenomethionine, in the modulation of the composition of fatty acids in chicken meat, in particular, reducing the content of atherogenic fatty acids and increasing the health promoting n-3 PUFA.

1. Introduction

Being a nonruminant animal, chickens tend to use, without significant changes, the lipids and the fatty acids present in a diet in order to fulfil its physiological needs for growth and muscle development [1]. When the chicken diet includes corn, soya meal, sunflower meal, and other green foods, it contributes to a relatively high content of fatty acids from the polyunsaturated fatty acids (PUFA) in the meat.

However, the presence of high levels of PUFA in chicken meat makes it more susceptible to the oxidation process and to undergoing alterations in smell, taste, and nutritional value. To counteract this concern, it is generally advised to add dietary antioxidants in chicken feed, to maintain the lipid stability in meat [2]. One of them, selenium, is a constituent of glutathione peroxidase, an essential enzyme in nutrients metabolism, and a first line of defense against the oxidation process [3]. In the feeding of farm animals, selenium is added

in diet in inorganic as well as organic form. Until recently, the form of added selenium in farm animals diet had been inorganic, either selenite or selenate [4]. Nowadays, however, organic selenium attracts more interest as a supplement. This change could be linked to the fact that, apparently, organic selenium has a higher absorption rate than inorganic selenium in chickens [5].

It seems that selenium also has an interesting interaction with lipids metabolism. Indeed, Schäfer et al. [6] found that a selenium deficiency can interfere with the normal conversion of α -linolenic (ALA) into eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) acids, which can result in an increased omega-6:omega-3 ratio in the liver of rats. Furthermore, some studies showed that the supplementation with selenium in the diet of beef, pig, and chicken modified the fatty acid profiles of their meat [6–10]. Similar results were obtained for milk and colostrum [11]. This effect concerning selenium could be an interesting way of modifying the fatty

TABLE 1: Chemical composition of experimental diets.

Items (%)	Experimental diets		
	Control	Se-Met (0.30 ppm Se)	Se-Na (0.30 ppm Se)
Ground corn	60.0	60.0	60.0
Soybean meal	32.5	32.5	32.5
Meat and bone meal	4.20	4.20	4.20
Calcium carbonate	1.00	1.00	1.00
Dicalcium phosphate	0.80	0.80	0.80
Sunflower oil	0.50	0.50	0.50
Salt	0.30	0.30	0.30
Lysine	0.25	0.25	0.25
Dl-Methionine	0.10	0.10	0.10
Premix*	0.25	0.25	0.25
<i>Chemical composition</i>			
Crude protein, (%)**	20.0	20.0	20.0
ME, (MJ/kg)	2931	2931	2931
Crude fiber, (%)**	3.70	3.70	3.70
Ca, (%)**	1.20	1.20	1.20
P, (%)**	0.42	0.42	0.42
Se, (ppm)**	0.01	0.29	0.30

* Mineral and vitamin premix. Provided (per 1 kilogram): 8,000,000 IU of vitamin A, 1,300,000 IU of vitamin D3, 16,000 IU of vitamin E, 5 g of vitamin K, 3.5 g of vitamin B2, 6.5 g of calcium D-pantothenate, 20 g of niacin, 0.3 g of folic acid, 8.5 mg of vitamin B12, 350 g of choline chloride, 0.3 g of vitamin B1, 0.6 g of vitamin B6, 60 g of Mn, 25 g of Zn, 16 g of Fe, 1 g of Cu, 1 g of I, and 60 mg of Co. ME: metabolizable energy. ** Analyzed values.

acid profile of chicken meat, in addition to its protective effect against the oxidation process.

Therefore, the aim of this study is to determine the effect of the diet supplementation with selenium in inorganic form (sodium selenite, Se-Na), in comparison to the organic form (selenium methionine, Se-Met), on the fatty acids composition and some lipids indices (in terms of the health needs of consumers) of chicken meat from *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles. Likewise, some enzyme indexes for desaturase, elongase, and thioesterase will be calculated in an attempt to detect any effect of the two kinds of selenium, on the lipids metabolism in the two muscles.

2. Materials and Methods

2.1. Animals and Diets. The animal care and handling were approved by the Committee on Experimental Animals of the Universidad de la República, Montevideo, Uruguay (CHEA), before the beginning of the experiment. Two hundred one-day-old male Ross birds were obtained from a commercial hatchery and reared until thirty-five days on a floor pen with wood shavings, in a climate-controlled room with a photoperiod of 23 hours of light/day. They were fed ad libitum with a commercial corn-soya diet (219 g·kg⁻¹ crude protein and 13.35 MJ·kg⁻¹ of metabolizable energy). Tap water was given ad libitum. At thirty-five days, ninety birds were selected on homogenous weight basis and assigned randomly into three groups of thirty birds each. The birds were located in ten experimental pens (90 cm × 90 cm) with wood shavings as litter. Each pen located three birds, fed ad libitum,

with one of the experimental diets, until slaughtering. A corn-soya based diet (Table 1) was formulated to meet the nutrient requirements for finishing male broilers [12] and was considered as the basal diet, not supplemented with selenium (Table 1). The other two diets were supplemented with selenium (Table 1) from an inorganic source (0.3 ppm Se, as sodium selenite, Se-Na in text and tables) or an organic source (0.3 ppm Se, as selenomethionine, Se-Met in text and tables). Dry matter, crude protein, fat, and fibre analysis of feed were carried out according to AOAC [13]. At fifty-six-days-old, all the birds were slaughtered at our own experimental abattoir. Preharvest handling, transportation (transportation time was 3 minutes), and slaughtering procedures were in accordance with the good animal welfare practices approved by the CHEA rules. The birds were slaughtered, after a fasting time of 16 hours (overnight), by cutting the jugular vein until total bleeding (3 min) to cause the least possible stress to the animal. The carcasses were cooled and maintained at 4°C for 24 hours postmortem. After that, the *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles were withdrawn and stored at -80°C until analysis.

2.2. Analytical Determinations. The intramuscular lipids were extracted according to Folch et al. [16]. Briefly, a sample of 4 grams of *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles (free of dissectible visible fat) was homogenized at 35000 rpm with a Virtis 45 during 1 min with 80 ml of chloroform: methanol (2:1). Afterward, the homogenate was filtered, moved in a separating funnel, mixed by inversion for one minute, and decanted overnight. The lower phase (chloroform containing lipids) was recuperated in a glass balloon, evaporated at

45°C with a light vacuum in a Rotavapor (IKA basic). The balloon was dried in an oven at 35°C for 60 min and cooled at ambient temperature overnight in a vacuum desiccator. The balloon was weighted to determine the percentage of lipids of each sample. The methylation of fatty acids followed the procedure described by Ichihara et al. [17], using methanolic KOH. The determination of fatty acids by gas chromatography followed the procedure described by Eder [18], using fused-silica capillary column CPSIL-88 of 100 m installed in a split/splitless chromatograph Clarus 500 (Perkin Elmer Instruments, USA). A FID detector and automatic injection of 1 µl of sample with a split of 50% were used. Hydrogen was used as carrier gas. The thermal conditions were injector/detector temperatures 250°C/250°C and oven held at 90°C for one minute after the injection of the sample; after that, the oven temperature was increased to 225°C at 15°C/min. Fatty acids methylated esters (FAMES) were determined comparing the retention time to authentic standards (Sigma Corp, USA). Individual FAME was quantified as a percentage of total analysed FAMES.

$$IT = \frac{(C14:0 + C16:0 + C18:0)}{[0.5 \times \sum MUFA + 0.5 \times \sum (n-6) + 3 \times \sum (n-3) + \sum (n-3) / \sum (n-6)]} \quad (2)$$

2.3.3. Hypocholesterolemic/Hypercholesterolemic Ratio (h/H). Compute the relation between unsaturated fatty acids (MUFA and PUFA) and the saturated fatty acids 14:0 and 16:0.

$$\frac{h}{H} = \frac{(C14:1 + C16:1 + C18:1 + C20:1 + C22:1 + C18:2 + C18:3 + C20:3 + C20:4 + C20:5 + C22:4 + C22:5 + C22:6)}{(C14:0 + C16:0)} \quad (3)$$

2.4. Enzyme Activity Index. The enzyme activity of desaturase, elongase, and thioesterase was estimated by relating the amount of the specific substrate to the corresponding product of the respective enzyme. The calculated ratios were 16:1n-7 to 16:0 and 18:1n-9 to 18:0. The activity of stearoyl-CoA desaturase (delta-9-desaturase) was estimated by calculating the ratio 16:1n-7 + 18:1n-9 to 16:0 + 18:0. The delta-5 desaturase + delta-6 desaturase sum was used as an index for the estimation of the formation of long chain n-6 and n-3 starting from the corresponding precursors C18:2n6 and C18:3n3 [14]. Also, the ratio 18:0 to 16:0 was calculated to estimate the elongase activity. The thioesterase was estimated as the ratio of C16:0 to C14:0 [15].

2.5. Statistical Analysis. Data are presented as mean ± SEM. Fatty acid content, lipids indices, and enzyme indexes were analysed by ANOVA with a GLM procedure using diet and muscle type as fixed factors and the interaction diet × muscle ($P < 0.05$). Also, one-way ANOVA was used to determine the effect of the diet for each muscle separately, as well as a Tukey-Kramer post hoc test ($P < 0.05$).

2.3. Calculus of Lipids Indices. The calculus of lipids indices was performed from the data of the fatty acid composition of intramuscular lipids, obtained here. The following indices were calculated.

2.3.1. Index of Atherogenicity (IA). Compute the relationship between the sum of the main saturated (proatherogenic) and the unsaturated (antiatherogenic) fatty acids. It was calculated according to Ulbricht and Southgate [19] as follows:

$$IA = \frac{(4 \times C14:0 + C16:0)}{[\sum MUFA + \sum (n-6) + \sum (n-3)]} \quad (1)$$

2.3.2. Index of Thrombogenicity (IT). Estimate the potential to form clots in the blood vessels, determined by the relationship between the prothrombogenic (saturated) and the antithrombogenic fatty acids (sum of MUFA and PUFA). It was calculated according to Ulbricht and Southgate [19] as follows:

The h/H ratio was calculated according to Fernández et al. [20], as follows:

3. Results and Discussion

Selenium is an essential micronutrient, which is implicated in various physiological animal functions like growth, fertility, and immunity responses. It plays a crucial role in the defense against the accumulation of hydroperoxides from cellular metabolism [21, 22]. However, it is necessary to consider the toxicity risk of selenium when added in high doses in animal feed [22]. The FDA [23] has approved and advised that the supplementation of selenium in complete feed for chicken, swine, turkey, sheep, cattle, and duck should not exceed a level of 0.3 ppm. The European Food Safety Authority recommended similar levels of selenium supplementation in animal feed [24]. In the present investigation, the organic and the inorganic selenium were added in doses of 0.3 ppm (Table 1). The use of such level ensures the applicability of the results in chicken nutrition, in order to produce meat which is enriched in selenium but contains no risk for consumers.

Nevertheless, another role of selenium has been observed in relation to the modification of the fatty acids composition of chicken meat. Indeed, Haug et al. [21] showed a different repartition of fatty acids, in particular, the n-3 PUFA

ones. In the present investigation, the lipids and fatty acids composition of the *Pectoralis* muscle showed a lower content in total lipids than *Gastrocnemius* muscle (Table 2). This is a usual and expected result for chicken [25]. However, the supplementation with selenium did not show any main effect, although there is a significant interaction between muscle and diet. This means that selenium could affect the lipids content depending on the muscle type (Table 2).

The comparison between the fatty acids compositions of the two muscles showed that the *Pectoralis* muscle contained more SFA than the *Gastrocnemius* muscle, principally the C16:0 and the C18:0. When the main effect of diet is considered, it seems that the C14:0 and the C16:0, but not C18:0, showed a reduced level in the two muscles in comparison to the control (Table 2). In the case of C16:0, only Se-Met was effective. This is an interesting finding because it seems that this decreasing effect is specific for those fatty acids, C14:0 and C16:0, which promote the occurrence of cardiovascular diseases in human [26]. This point needs to be considered in future investigations. Concerning MUFA, it seems that the *Gastrocnemius* muscle showed more MUFA than the *Pectoralis* muscle (Table 2) and, as expected, the C18:1 is the most represented fatty acid within the MUFA. Furthermore, the selenium as Se-Met promoted more content of C18:1 when compared to Se-Na and control (Table 2). For PUFA, no significant main effects were observed for muscle or diet (Table 2). However, when the fatty acids were considered individually, it appears that the *Pectoralis* showed more PUFA than the *Gastrocnemius* muscle for the most valuable fatty acids for human health such as DPA and DHA. Meanwhile, the two essential PUFA C18:2n6 (linoleic acid) and C18:3n3 (α -linolenic acid) showed a higher level in *Gastrocnemius* muscle. It is known that these two fatty acids come exclusively from diet and cannot be synthesized by the tissues. When the main effect of diet is considered, it seems that the C18:3n3 showed a higher level when the selenium, independently of its chemical source, is added in feed in comparison to the control (Table 2). These results are in accord with the findings of Haug et al. [21], Ševčíková et al. [27], and Kralík et al. [28]. Furthermore, a significant interaction has been obtained, suggesting that the selenium could modify the distribution of this fatty acid in chicken meat, depending on the muscles. A similar, but limited, main effect was obtained for C18:2n6. Indeed, only Se-Met increased the level of this fatty acid, in comparison to Se-Na and control (Table 2). The differences in the level of C18:3n3, and on a smaller scale, of C18:2n6, in comparison to the control, could be explained by the reduced degradation of these fatty acids by the oxidation processes. This protection could be done by the action of glutathione and the enzyme glutathione peroxidase (GPx), through the elimination of free radicals capable of initiating and propagating the fatty acids oxidation, particularly the PUFA ones [29].

Like discussed before, selenium in the chicken diet has been associated in previous investigations with an increase in n-3 fatty acids in *Gastrocnemius* muscle [21, 27] and in *Pectoralis* muscle [28]. Taken together, it was observed, in those investigations, that the increase of the fatty acids level,

after supplementation by selenium, happened mainly for the α -linolenic acid (α -C18:3n3), EPA, DPA, and DHA in *Gastrocnemius* muscle. Unfortunately, in the present investigation, DPA and DHA did not show any significant effect of selenium on their level in comparison to the control. For EPA, the results showed a significant diet main effect when Se-Na is used in comparison to the Se-Met and the control (Table 2). However, the absolute values were very low and invite us to be cautious on the interpretation about the effectiveness of selenium for this fatty acid. Contrarily to our finding and those of Ševčíková et al. [27], Haug et al. [21], and Kralík et al. [28], Zduńczyk et al. did not find any effects of selenium on the fatty acids composition of *Pectoralis* muscle [30]. As it was found in the present study with chicken, the supplementation with selenium affected the fatty composition in other species and products, independently of its chemical form. In ruminant species, the effect of the supplementation with selenium, independently of its form, showed controversial results concerning the modification of lipids content and the fatty acids composition of meat [31]. More investigations should be done to clarify this interesting point linking the supplementation with selenium to the modification of the composition of meat in some specific fatty acids, such as C18:3n3, EPA, and DHA, which have been generally associated with health concerns for human [32].

In the present investigation, the focus on human nutrition and health has been considered through the calculus of some lipids indices associated with the fatty acids composition. These indices are generally used to rank foods in regard to their potential effect on the promotion of cardiovascular diseases. In the present investigation, the PUFA/SFA, n-6, n-3, and the n-6/n-3 ratio yield no different main effects when the two muscles were considered (Table 3). On the contrary, the atherogenic (IA) and thrombogenic (IT) indices showed that the *Pectoralis* muscle had undesirable IA and IT indices when compared to the *Gastrocnemius* muscle. For these two indices, the desirable value has to be as low as possible. The hypocholesterolaemic versus hypercholesterolaemic indices (h/H), as opposed to the IA and IT indices, must be as high as possible in order to protect consumer from the hypercholesterolaemia, a factor which promotes the atherosclerosis syndrome in humans [33]. The h/H obtained in the present investigation had a better value in the *Pectoralis* muscle than in the *Gastrocnemius* muscle (Table 3). However, there is no effect of the supplementation of selenium, in its two forms, on the health scope. For all these considered indices, no main effects have been observed concerning selenium, independently of its form (Table 3). Nonetheless, there is an interaction (muscle $\times$ diet) for the n-3 fatty acids, the n-6/n-3 ratio, and the h/H indices. These last results encourage us to carry on, in order to have a better understanding of the action of selenium in the repartition of fatty acids in chicken meat.

Finally, one of the goals of the present investigation was to compare the effect of feed supplementation with organic and inorganic selenium on the activity of desaturase, elongase, and thioesterase enzymes in the two muscles, through the

TABLE 2: Fatty acids composition (g/100 g of total fatty acids) of *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles of chickens supplemented in diet with inorganic (Se-Na) or organic (Se-Met) selenium.

Lipids %	Pectoralis (Pe)		Gastrocnemius (G)		Main effects		M x D
	Control	Se-Na	Se-Met	Control	Muscle (M)	Diet (D)	
Fatty acids %	1.77 ± 0.11	1.41 ± 0.17	1.43 ± 0.05	2.44 ± 0.31	3.09 ± 0.24	NS	P < 0.04
C14:0	0.69 ± 0.10	0.60 ± 0.17	0.62 ± 0.08	0.73 ± 0.04	0.61 ± 0.13	P < 0.03 Se < C	NS
C14:1	0.12 ± 0.03	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.17 ± 0.03	0.11 ± 0.02	P < 0.01 Se < C	NS
C16:0	26.6 ± 3.20	27.0 ± 2.54	26.6 ± 1.61	26.8 ± 0.62	24.0 ± 1.60	P < 0.05 Se-Met < C	NS
C16:1	4.21 ± 1.92	4.22 ± 0.85	3.78 ± 0.21	5.58 ± 1.51	4.52 ± 0.62	P < 0.05 Se < C	NS
C18:0	10.2 ± 2.29	9.99 ± 0.72	9.82 ± 0.47	8.65 ± 1.93	9.18 ± 1.04	NS	NS
C18:1	33.6 ± 2.10	34.5 ± 1.73	35.1 ± 2.69	35.2 ± 1.21	37.1 ± 3.27	P < 0.03 Se-Met > C	NS
C18:2n6	15.7 ± 1.92	14.4 ± 1.10	16.0 ± 2.43	16.7 ± 1.26	17.3 ± 2.37	P < 0.03 Se-Met > Se-Na	NS
C20:1	0.18 ± 0.09	0.20 ± 0.08	0.16 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.33 ± 0.13	P < 0.05 Se-Met > C	P < 0.01
C18:3n3	0.35 ± 0.06	0.46 ± 0.09	0.43 ± 0.12	0.44 ± 0.02	0.81 ± 0.11	P < 0.01 Se > C	P < 0.01
C20:3n6	0.27 ± 0.14	0.22 ± 0.08	0.20 ± 0.10	0.15 ± 0.05	0.21 ± 0.06	NS	NS
C20:3n3	0.25 ± 0.12	0.30 ± 0.09	0.20 ± 0.08	0.19 ± 0.10	0.16 ± 0.05	P < 0.01 Pe > G	NS
C22:1	0.64 ± 0.31	0.65 ± 0.17	0.60 ± 0.13	0.46 ± 0.28	0.35 ± 0.03	P < 0.01 Pe > G	NS
C20:4n6/ARA	3.47 ± 1.65	3.36 ± 0.82	3.23 ± 0.83	2.17 ± 0.97	2.25 ± 0.35	NS	NS
C22:4n6	1.03 ± 0.61	0.96 ± 0.32	0.81 ± 0.35	0.62 ± 0.30	0.56 ± 0.07	NS	NS
C23:5n3 EPA	0.05 ± 0.02	0.08 ± 0.04	0.04 ± 0.01	0.07 ± 0.07	0.03 ± 0.01	P < 0.03 Se-Met < Se-Na	P < 0.03
C22:5n3 DPA	0.35 ± 0.17	0.26 ± 0.08	0.26 ± 0.12	0.18 ± 0.11	0.19 ± 0.04	NS	NS
C22:6n3 DHA	0.26 ± 0.13	0.23 ± 0.09	0.20 ± 0.08	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.03	NS	NS
Unidentified	2.10 ± 0.20	2.45 ± 1.18	1.87 ± 0.82	1.52 ± 0.48	2.01 ± 0.25	—	—
SEA	37.5 ± 1.07	37.6 ± 0.99	37.0 ± 0.74	36.2 ± 0.54	33.8 ± 0.80	NS	NS
MUFA	38.7 ± 3.15	39.6 ± 1.96	39.8 ± 2.71	41.6 ± 4.51	42.4 ± 3.79	NS	NS
PUFA	21.1 ± 1.87	19.7 ± 1.23	20.8 ± 1.45	20.3 ± 1.16	21.5 ± 1.34	NS	NS

Data are mean ± SEM. NS: not significant. C: control, Se: effect of selenium from Se-Na and Se-Met, SEA: saturated fatty acids, MUFA: monounsaturated fatty acids, and PUFA: polyunsaturated fatty acids.

TABLE 3: Calculated lipids indices in terms of the health needs of consumers for *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles of chickens supplemented in diet with inorganic (Se-Na) or organic (Se-Met) selenium.

	<i>Pectoralis</i> (Pe)			<i>Gastrocnemius</i> (G)			Main effects		
	Control	Se-Na	Se-Met	Control	Se-Na	Se-Met	Muscle (M)	Diet (D)	M × D
P/S	0.58 ± 0.03	0.54 ± 0.02	0.58 ± 0.05	0.57 ± 0.02	0.58 ± 0.05	0.65 ± 0.04	NS	NS	NS
n-6	20.5 ± 3.31	19.0 ± 2.17	20.2 ± 2.68	19.6 ± 2.57	18.7 ± 1.67	20.5 ± 2.61	NS	NS	NS
n-3	1.23 ± 0.22	1.33 ± 0.19	1.13 ± 0.11	1.02 ± 0.12	0.98 ± 0.07	1.32 ± 0.07	NS	NS	P < 0.02
n-6/n-3	18.2 ± 2.82	14.9 ± 1.60	18.0 ± 0.79	19.7 ± 1.24	19.7 ± 2.33	15.6 ± 0.96	NS	NS	P < 0.01
IA	0.49 ± 0.01	0.49 ± 0.01	0.48 ± 0.02	0.48 ± 0.02	0.45 ± 0.01	0.41 ± 0.01	P < 0.01 Pe > G	NS	NS
IT	1.14 ± 0.05	1.15 ± 0.05	1.13 ± 0.04	1.09 ± 0.02	1.04 ± 0.09	0.96 ± 0.03	P < 0.03 Pe > G	NS	NS
h/H	2.23 ± 0.014	2.25 ± 0.02	2.17 ± 0.12	2.45 ± 0.21	2.23 ± 0.09	2.61 ± 0.12	P < 0.01 G > Pe	NS	P < 0.04

Data are mean ± SEM. NS: not significant, P/S: PUFA/SFA, IA: atherogenicity, IT: thrombogenicity, and h/H: hypocholesterolemic/hypercholesterolemic ratio.

TABLE 4: Enzymes indexes of fatty acid metabolism estimated on the basis of fatty acid composition of *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles of chickens supplemented in diet with inorganic (Se-Na) or organic (Se-Met) selenium.

Enzyme indexes	<i>Pectoralis</i> muscle (Pe)			<i>Gastrocnemius</i> muscle (G)			Main effects		
	Control	Se-Na	Se-Met	Control	Se-Na	Se-Met	Muscle (M)	Diet (D)	M × D
Δ-9 desaturase									
16:1/16:0	0.15 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.22 ± 0.02	0.19 ± 0.01	P < 0.001 G > Pe	NS	NS
18:1/18:0	3.46 ± 0.34	3.47 ± 0.11	3.59 ± 0.13	4.22 ± 0.37	4.38 ± 0.33	4.11 ± 0.27	P < 0.002 G > Pe	NS	NS
16:1 + 18:1/16:0 + 18:0	1.03 ± 0.03	1.04 ± 0.02	1.07 ± 0.03	1.15 ± 0.05	1.27 ± 0.07	1.26 ± 0.05	P < 0.001 G > Pe	NS	NS
Δ-5 + Δ-6 desaturases	19.8 ± 2.62	20.6 ± 1.05	18.7 ± 1.60	12.7 ± 1.16	13.5 ± 0.94	12.5 ± 0.55	P < 0.001 G < Pe	NS	NS
Elongase 18:0/16:0	0.39 ± 0.04	0.37 ± 0.02	0.37 ± 0.01	0.32 ± 0.02	0.34 ± 0.01	0.39 ± 0.02	NS	NS	NS
Thioesterase 16:0/14:0	38.8 ± 0.68	46.5 ± 2.55	43.3 ± 1.37	36.6 ± 0.42	43.4 ± 2.59	40.0 ± 2.01	NS	P < 0.001	NS
							Se-Na > Control		

Results are means ± SEM. Δ-9 desaturase indexes, Δ-5 + Δ-6 desaturases, elongase, and thioesterase indexes were calculated according to [14, 15].

calculus of a few indexes related to the activity of those enzymes. The enzyme activities were estimated by relating the amount of the specific substrate to the corresponding product of the respective enzyme. These indexes can be used as surrogates of the measure of the true enzyme activities [34]. The delta-9-desaturase can be estimated by the ratio C16:1/C16:0 specifically for the C16:1 and by the ratio C18:1/C18:0. This last one is specific for the desaturation of C18:1, the main MUFA present in chicken meat [27]. Meanwhile, the total delta-9 desaturase index (for both C16:1 and C18:1) can be estimated by the sum of the previous two indexes [14, 35]. Furthermore, there is a convenient way to estimate the total activities of delta-5-desaturase and delta-6-desaturase, by using a similar approach. These two desaturases are the key enzymes catalysing the formation of n-6 and n-3 PUFA starting from their precursors C18:2n6 and C18:3n3 [14]. The elongase and the thioesterase enzymes can be estimated by the same procedure based on the calculus of the ratios C18:0/C16:0 and C16:0/C14:0, respectively. The thioesterase is responsible for terminating the fatty acids synthesis and release of the neosynthesized fatty acids, mainly C16:0 and C14:0. In the current investigation, a main muscle effect has been obtained only for the desaturase enzymes, showing that *Gastrocnemius* muscle has more desaturases activities than the *Pectoralis* muscle (Table 4). This observation could explain why the *Gastrocnemius* muscle contains more MUFA, such as C14:1, C16:1, and C18:1 (Table 2), which is probably due to the

action of delta-9-desaturase. Likewise, more C18:2n6 and C18:3n3 could be due to the action of the delta-5 and delta-6 desaturase (Table 2). When the effect of selenium is analysed, only the index for thioesterase showed a significant main effect. The results showed that the Se-Na induced a higher index in comparison to the control (Table 4). Note that a higher index for thioesterase means a lower release of de novo synthesized C14:0 and C16:0. Perhaps this result explains why there is a significant main effect due to the selenium, since meat has a lower level of those two atherogenic fatty acids. The two forms of selenium and Se-Met reduced significantly the level of C14:0 and C16:0, respectively (Table 2).

4. Conclusions

It seems that selenium, independently of its chemical form, reduced the level of the two most atherogenic fatty acids, C14:0 and C16:0, present in chicken meat. At the same time, the Se-Met raised the beneficial polyunsaturated fatty acids, such as the C18:2n6 and particularly the C18:3n3. This interesting and favourable unbalanced repartition between the atherogenic fatty acids and the beneficial PUFA, caused by the selenium in chicken meat, seems to be promising and should be carefully considered in future investigations. Furthermore, even though the effect of selenium on the enzymes implicated in the fatty acid synthesis, desaturation,

and elongation remains inconclusive in the present investigation, it seems it would be of great interest to include it in future studies. Selenium, and particularly Se-Met, could be used, within approved doses, as tools to modify the profile of fatty acids in chicken meat, in order to move towards a more convenient composition of fatty acids regarding the human health.

Competing Interests

The authors declare that there is no conflict of interests.

Acknowledgments

The author del Puerto has been grant holder from ANII (National Agency for Research and Innovation, Uruguay) during the investigation. The authors gratefully acknowledge the technical assistance of Carmen Figarola and Pablo Flakbard at Faculty of Agronomy for chicken management. The authors would like to thank Zulma Saadoun for correcting the English language of this manuscript.

References

- [1] A. Saadoun and B. Leclercq, "In vivo lipogenesis of genetically lean and fat chickens: effects of nutritional state and dietary fat," *Journal of Nutrition*, vol. 117, no. 3, pp. 428–435, 1987.
- [2] P. F. Surai, "Natural antioxidants in poultry nutrition: new developments," in *Proceedings of the 16th European Symposium on Poultry Nutrition*, pp. 669–676, Strasbourg, France, August 2007.
- [3] T. I. Perez, M. J. Zuidhof, R. A. Renema, J. M. Curtis, Y. Ren, and M. Betti, "Effects of vitamin E and organic selenium on oxidative stability of ω -3 enriched dark chicken meat during cooking," *Journal of Food Science*, vol. 75, no. 2, pp. T25–T34, 2010.
- [4] M. P. Lyons, T. T. Papazyan, and P. F. Surai, "Selenium in food chain and animal nutrition: lessons from nature—review," *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, vol. 20, no. 7, pp. 1135–1155, 2007.
- [5] Y. Wang, X. Zhan, X. Zhang, R. Wu, and D. Yuan, "Comparison of different forms of dietary selenium supplementation on growth performance, meat quality, selenium deposition, and antioxidant property in broilers," *Biological Trace Element Research*, vol. 143, no. 1, pp. 261–273, 2011.
- [6] K. Schäfer, A. Kyriakopoulos, H. Gessner, T. Grune, and D. Behne, "Effects of selenium deficiency on fatty acid metabolism in rats fed fish oil-enriched diets," *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, vol. 18, no. 1, pp. 89–97, 2004.
- [7] A. S. Netto, M. A. Zanetti, G. R. D. Claro, M. P. De Melo, F. G. Vilela, and L. B. Correa, "Effects of copper and selenium supplementation on performance and lipid metabolism in confined brangus bulls," *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, vol. 27, no. 4, pp. 488–494, 2014.
- [8] A. S. C. Pereira, M. V. D. Santos, G. Aferri et al., "Lipid and selenium sources on fatty acid composition of intramuscular fat and muscle selenium concentration of Nelore steers," *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 41, no. 11, pp. 2357–2363, 2012.
- [9] E. González and J. F. Tejeda, "Effects of dietary incorporation of different antioxidant extracts and free-range rearing on fatty acid composition and lipid oxidation of Iberian pig meat," *Animal*, vol. 1, no. 7, pp. 1060–1067, 2007.
- [10] S. F. Zanini, C. A. A. Torres, N. Bragagnolo, J. M. Turatti, M. G. Silva, and M. S. Zanini, "Effect of oil sources and vitamin E levels in the diet on the composition of fatty acids in rooster thigh and chest meat," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 84, no. 7, pp. 672–682, 2004.
- [11] S. Salman, D. Dinse, A. Khol-Parisini et al., "Colostrum and milk selenium, antioxidative capacity and immune status of dairy cows fed sodium selenite or selenium yeast," *Archives of Animal Nutrition*, vol. 67, no. 1, pp. 48–61, 2013.
- [12] M. Larbier and B. Leclercq, "Nutrition et alimentation des volailles," *Editions Quae*, vol. 355, 1992.
- [13] AOAC International, *Official Methods of Analysis*, Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA, 18th edition, 2005.
- [14] A. Dal Bosco, C. Mugnai, S. Ruggeri, S. Mattioli, and C. Castellini, "Fatty acid composition of meat and estimated indices of lipid metabolism in different poultry genotypes reared under organic system," *Poultry Science*, vol. 91, no. 8, pp. 2039–2045, 2012.
- [15] A. Haug, N. F. Nyquist, M. Thomassen, A. T. Høstmark, and T. K. K. Østbye, "N-3 fatty acid intake altered fat content and fatty acid distribution in chicken breast muscle, but did not influence mRNA expression of lipid-related enzymes," *Lipids in Health and Disease*, vol. 13, pp. 92–102, 2014.
- [16] J. Folch, M. Lees, and G. H. Sloane-Stanley, "A simple method for isolation and purification of total lipides from animal tissues," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 226, no. 1, pp. 497–509, 1957.
- [17] K. Ichihara, C. Yamaguchi, Y. Araya, A. Sakamoto, and K. Yoneda, "Preparation of fatty acid methyl esters by selective methanolysis of polar glycerolipids," *Lipids*, vol. 45, no. 4, pp. 367–374, 2010.
- [18] K. Eder, "Gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters," *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, vol. 671, no. 1–2, pp. 113–131, 1995.
- [19] T. L. V. Ulbricht and D. A. T. Southgate, "Coronary heart disease: seven dietary factors," *The Lancet*, vol. 338, no. 8773, pp. 985–992, 1991.
- [20] M. Fernández, J. A. Ordóñez, I. Cambero, C. Santos, C. Pin, and L. D. L. Hoz, "Fatty acid compositions of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications," *Food Chemistry*, vol. 101, no. 1, pp. 107–112, 2006.
- [21] A. Haug, S. Eich-Greatorex, A. Bernhoft et al., "Effect of dietary selenium and omega-3 fatty acids on muscle composition and quality in broilers," *Lipids in Health and Disease*, vol. 6, article no. 29, 2007.
- [22] Y. Wang, L. Jiang, Y. Li, X. Luo, and J. He, "Effect of different selenium supplementation levels on oxidative stress, cytokines, and immunotoxicity in chicken thymus," *Biological Trace Element Research*, vol. 172, no. 2, pp. 488–495, 2016.
- [23] D. E. Ullrey, "Basis for regulation of selenium supplements in animal diets," *Journal of Animal Science*, vol. 70, no. 12, pp. 3922–3927, 1992.
- [24] EFSA, "Safety and efficacy of selenium compounds (E8) as feed additives for all species: sodium selenite, based on a dossier submitted by Todini and Co SpA," *EFSA Journal*, vol. 14, p. 4442, 2016.
- [25] G. Castromán, M. del Puerto, A. Ramos, M. C. Cabrera, and A. Saadoun, "Organic and conventional chicken meat produced

- in Uruguay: colour, Ph, fatty acids composition and oxidative status," *American Journal of Food and Nutrition*, vol. 1, pp. 12–21, 2013.
- [26] J. Praagman, J. W. J. Beulens, M. Alsema et al., "The association between dietary saturated fatty acids and ischemic heart disease depends on the type and source of fatty acid in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition-Netherlands cohort," *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 103, no. 2, pp. 356–365, 2016.
- [27] S. Ševčíková, M. Skřivan, G. Dlouhá, and M. Koucký, "The effect of selenium source on the performance and meat quality of broiler chickens," *Czech Journal of Animal Science*, vol. 51, no. 10, pp. 449–457, 2006.
- [28] Z. Kralík, G. Kralík, M. Grčević, P. Suchý, and E. Straková, "Effects of increased content of organic selenium in feed on the selenium content and fatty acid profile in broiler breast muscle," *Acta Veterinaria Brno*, vol. 81, no. 1, pp. 31–35, 2012.
- [29] M. Betti, B. L. Schneider, W. V. Wismer, V. L. Carney, M. J. Zuidhof, and R. A. Renema, "Omega-3-enriched broiler meat: 2. Functional properties, oxidative stability, and consumer acceptance," *Poultry Science*, vol. 88, no. 5, pp. 1085–1095, 2009.
- [30] Z. Zduńczyk, R. Gruzauskas, A. Semaskaitė, J. Juskiewicz, A. Raceviciute-Stupeliene, and M. Wroblewska, "Fatty acid profile of breast muscle of broiler chickens fed diets with different levels of selenium and vitamin E," *Archiv für Geflügelkunde*, vol. 75, no. 4, pp. 264–267, 2011.
- [31] Y. Mehdi and I. Dufrasne, "Selenium in cattle: a review," *Molecules*, vol. 21, no. 5, p. 545, 2016.
- [32] A. P. Simopoulos, "The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases," *Experimental Biology and Medicine*, vol. 233, no. 6, pp. 674–688, 2008.
- [33] M. Rafieian-Kopaei, M. Setorki, M. Doudi, A. Baradaran, and H. Nasri, "Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes," *International Journal of Preventive Medicine*, vol. 5, no. 8, pp. 927–946, 2014.
- [34] B. Vessby, I.-B. Gustafsson, S. Tengblad, M. Boberg, and A. Andersson, "Desaturation and elongation of fatty acids and insulin action," *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 967, pp. 183–195, 2002.
- [35] S. B. Smith, T. S. Hively, G. M. Cortese et al., "Conjugated linoleic acid depresses the $\delta 9$ desaturase index and stearyl coenzyme A desaturase enzyme activity in porcine subcutaneous adipose tissue," *Journal of Animal Science*, vol. 80, no. 8, pp. 2110–2115, 2002.

Dietary Organic and Inorganic Selenium on Liver Glycogen and Lactate, pHu, Color and Drip Loss of Chicken *Pectoralis* and *Gastrocnemius* Muscles

Marta del Puerto¹, Roberto Olivero¹, Alejandra Terevinto¹, Ali Saadoun²,
M. Cristina Cabrera^{1,2*}

¹Department of Animal Production & Pastures, Nutrition and Food Quality Laboratory, Faculty of Agronomy, University of the Republic (UDELAR), Montevideo, Uruguay

²Physiology & Nutrition, Faculty of Sciences, University of the Republic (UDELAR), Montevideo, Uruguay

Email: ^{*}mcab@fagro.edu.uy

Received 4 December 2015; accepted 15 January 2016; published 18 January 2016

Copyright © 2016 by authors and Scientific Research Publishing Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

The effect of selenium supplementation in finishing broiler diets on meat quality was studied. A corn soya based diet was supplemented with 0.3 ppm of Se from an organic (Seleno methionine; Se-Met) or inorganic source (sodium selenite; Se-Na) and offered to Ross male chickens from thirty five to fifty two days old. Body weight and feed consumption were recorded during the experimental period. Immediately post sacrifice liver was removed and weight was recorded. The liver glycogen and lactate content was measured. Carcass yield and abdominal fat were determined. At 24 hours *post mortem*, pHu, colour L*, a*, b*, H*, C*, and drip loss of the *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles were determined. Se-Met supplementation significantly decreases daily food intake. Se-Na significantly increases liver glycogen and lactate content at 3 minutes *post mortem*. Se-Met and Se-Na significantly increase pHu as compared to the control diet. Also a Se-Met provoked a darker (lower L*) and a redder (higher a*) and a decreased tone (lower H*) in *Pectoralis*. Se-Met and Se-Na significantly decrease the drip loss in *Pectoralis* and *Gastrocnemius* at 24 hours *post mortem*. We conclude that selenium supplementation decreases food intake and improves meat quality by improving colour and decreasing drip loss, likely by a modulation of reserve of glycogen in liver. The difference among the organic and inorganic sources is not clear and requires further investigation.

*Corresponding author.

Keywords

Selenium, pH, Color, Drip Loss, Glycogen, Lactate

1. Introduction

The consumption of poultry meat has increased in recent years in the region and the world due to the high nutritional value, health-effect and functional attributes [1]. However, the production of poultry meat is facing new challenges that make the concept of nutritional, sensory and technological quality. The major problems of poultry meat that occur in the postmortem may be originated in the ante mortem period, when diet is one of the factors that may influence them. In the post mortem, avian muscle suffers important metabolic changes that result in a decrease in the pH of the meat up to 24 hours. Speed of fall and the final value reached inherit sensory, organoleptic, nutritional and technological quality of poultry meat. The extent and rate of pH fall hit the most indicative of the sensory quality parameters (color, texture, juiciness, tenderness, flavor, and odor) that affect the acceptability for consumption and promote a series of biochemical processes modifying the suitability of meat for processing and preservation [2]. The rate of pH decline during the *post mortem* period and its final value (ultimate pH) influence meat attributes (water holding capacity, colour) directly and the technological aptitude for processing indirectly. Oxidative process such as lipid peroxidation and carbonyl formation [3] is the most prevalent factor in conservation and will strongly affect the water holding and color. Glycogen store in the *pre mortem* is key on the pH falling. In avian pectoral muscle, a fast pH drop is associated with protein denaturation in the early post-mortem stages, with the result of poor water retention and less texture [4]. A rapid decrease in the *post mortem* pH and a low pH_u reduce the meat quality. However, a limited decrease in pH, and a high pH_u could favour a DFD meat (Dark, firm and dry), resulting in a decrease of the technological capability and product preservation. A strategic dietary modification to modulate the glycogen utilization could improve the meat quality and the properties of this for processing. Also, enhancing the oxidative stability of meat could counteract the oxidation of lipids and proteins, improving the technological characteristics of the meat, the nutritional value and the acceptance by the consumers. Among the dietary factors as antioxidants, selenium has many properties, because of its dual role as a cofactor of the antioxidant enzyme GPx [5] whose antioxidant effect has been well showed in poultry [6] and the interesting effect as insulin-like [7] which could modify the glycogen stores and the glycolysis observed in rats [8]. According this role in muscle, a hypothesis that the Se supplementation could modulate the glycogen metabolism in poultry could be raised. However the assimilative capacity and the effects on the animal of the dietary selenium depend largely on the source used, either organic or selenomethionine or inorganic such as sodium selenite [9]-[11]. Selenium in animal diets is supplemented primarily as inorganic sodium selenite or sodium selenate, but there is increasing interest in the use of organic forms, such as selenomethionine as supplemental sources of Se [12]. Diets supplemented with either sodium selenite or Se-enriched yeast have shown that organic selenium is deposited more effectively in broiler breast muscles than inorganic selenium [13], and improves the color meat [14] during retail. Mueller *et al.* [15] showed that the chemical form of selenium, selenite or selenate also has different insulin mimetic properties of the trace element in rats. In our knowledge, the effect of selenium supplementation on the liver glycogen stores has not been studied in poultry. So the aim of this study was to evaluate the effect of supplemented finishing broiler diet with organic and inorganic selenium on the animal growth, liver glycogen and lactate content, and pH_u, color and drip loss in the *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles at 24 hours post mortem.

2. Material and Methods

2.1. Animals, Management and Diets

The animal care and handling were approved by the Honorary Committee on Experimental Animals of the University of the Republic, Montevideo, Uruguay (CHEA) before the experiments started. The trial was conducted at the Faculty of Agronomy of the University of the Republic (UDELAR, Montevideo, Uruguay), following the human animal care and handling procedures, according to the accepted protocol. One-day-old male Ross birds obtained from a commercial hatchery were reared until thirty-five days on a floor pen with wood shavings, in a

climate-controlled room with a photoperiod of 23 hours of light. They were fed *ad libitum* with a commercial corn-soya diet (219 g/kg CP; 13.35 MJ/kg of ME). Fresh water was given *ad libitum*. At thirty-five day, ninety birds were selected by weight and health appearance and assigned randomly into three groups of thirty birds each located in ten experimental pens (90 cm × 90 cm each one) with wood shavings as litter. Each pen located three birds. Birds were fed, *ad libitum*, with one of the experimental diets until sacrifice. A corn-soya based diet was formulated to meet the nutrient requirements for finishing male broilers following INRA [16] and Larbier & Leclercq [17] and was considered the basal diet (Table 1). The other two diets were supplemented with Se from an organic source (0.3 ppm Se, as selenomethionine, SeMet) and an inorganic source (0.3 ppm Se, as sodium selenite, SeNa). All diets were iso-protein and iso-energetic (200 g/kg CP, 13.10 MJ/kg of ME). Dry matter, crude protein, crude fibre and selenium content analyses of feed were carried out according to AOAC methods [18] and Ramos *et al.* [19].

2.2. Animal Parameters

Individual body weight at 35 and at 52 days of age was determined, and weight gain for the experimental period was estimated as the difference between the two measures. Daily food consumption and conversion efficiency (kg feed /kg gain) were also calculated. At fifty-two days old all the birds were sacrificed in an experimental abattoir. Pre-harvest handling and transportation (transportation time was 3 minutes) were in accordance with good animal welfare practices. Slaughtering procedures followed the CHEA accepted protocols. At 52 days, all the birds were slaughtered after fasting for 4 hours according to standards established by CHEA, making the sacrifice by cutting the jugular vein until total bleeding (3 min) to cause the least possible stress to the animal. Im-

Table 1. Chemical composition of experimental diets (g/kg).

	Experimental diets		
	Control	Se-Met (0.3 ppm Se)	Se-Na (0.3 ppm Se)
Ground com	600	600	600
Soybean meal	325	325	325
Meat and bone meal	42	42	42
Calcium carbonate	10	10	10
Dicalcium phosphate	8	8	8
Sunflower Oil	5	5	5
NaCl	3	3	3
L-Lysine.HCl	2.5	2.5	2.5
DL-Methionine	1	1	1
Premix ^(*)	2.5	2.5	2.5
Nutrient content of experimental diets			
Crude Protein, (g/kg) ^(**)	200	200	200
Metabolizable Energy, (MJ/kg)	13.10	13.10	13.10
Crude Fiber, (g/kg) ^(**)	37	37	37
Ca, (g/kg)	12	12	12
P, (g/kg)	4.2	4.2	4.2
Se, (ppm) ^(**)	0.01	0.29	0.30

^(*) Broiler mineral and vitamin premix. Provided (per 1,5 kilograms of diet): 12,000,000 U.I. of vitamin A, 2,000,000 U.I. of vitamin D3, 25,000 U.I. of vitamin E, 7.6 g of vitamin K, 5 g of vitamin B2, 10 g of calcium D pantothenate, 30 g of niacin, 0.5 g of folic acid, 13 mg of vitamin B12, 500 g of choline chloride, 0.5 g of vitamin B1, 1 g of vitamin B6, 90 g of Mn, 35 g of Zn, 25 g of Fe, 2 g of Cu, 2 g of I, 0.1 g of Co and 0.1 g of Se. ^(**) Analytical values.

mediately after exsanguination, the liver was extracted (3 min) and the gallbladder was removed. The total fresh weight was measured followed by immediate storage at -80°C until analysis. Eviscerated carcass weight was determined following slaughter, evisceration and post chilling. At 24 hours post mortem followed for a refrigeration at 4°C , the weight of abdominal fat was determined [20].

2.3. Meat Quality Parameters

The pH was determined at 24 hours *post mortem* (maintained at 4°C) in the *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles from both sides, using a penetration pH meter LT Lutron pH-201. Meat colour was determined (after 30 min bloom time) using the CIELAB method L^* , a^* , b^* at 24 hours *post mortem* (at 4°C) in the *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles from both sides (two readings on each) using a Minolta Lab CR-10 colorimeter. Measurement conditions were with illuminant D_{65} , an observation angle of 10° and an aperture size of 0.31 inches. The chroma ($C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$) and hue ($H^* = \arctan b^*/a^*$) were also calculated [21]. Water drip loss was determined by the weight difference in 2.5 g of *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles samples at 24 hours *post mortem* from both sides [22].

2.4. Glycogen and Lactate Content in Liver

Glycogen and lactate content were measured 3 min *post mortem* for the liver. Briefly, an 8 g meat sample was homogenized and extracted with 8 ml of HCl acid (4 N) for 2 hours at 100°C , filtered and neutralized by adding NaOH (4 N) until pH reached 6.5 - 7 [23]. Glycogen was determined as glucose total equivalents following Bergmeyer *et al.* [24] using colorimetric diagnostic kits (1001201, Spinreact, Spain) and expressed as mg glucose/kg fresh meat. Lactate was assayed in the same hydrolysed slurry using commercially available enzymatic colorimetric diagnostic kits (LO-POD; 1001330; Spinreact, Spain) and expressed as mg lactate/kg fresh meat.

2.5. Statistical Analysis

The data of body weight, feed consumption, body weight gain, conversion efficiency, liver glycogen and lactate content, and pHu, color and drip loss for *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles are reported as mean $\pm$ standard error of the media in the three experimental treatment. The effect of selenium supplementation on the performance parameters and liver glycogen and lactate content was analyzed by one-way ANOVA and post hoc Tukey-Kramer Test. To determine the main effects of the supplemented selenium and muscle on the pH, color and drip loss an ANOVA GLM was used followed by Tukey-Kramer Test. The level of significance was established at $P < 0.05$, and the software used was the NCSS, 2007 (NCSS, 329 North 1000 East, Kaysville, UT 84037).

3. Results and Discussion

3.1. Animal Parameters

Selenium supplementation did not affected final body weight, average daily gain or conversion efficiency (g gain/g feed) of birds at 52 days old, but a significantly decrease in average daily food intake was observed only for poultry supplemented with 0.3 of Se as Se-Met (Table 2). This result was also observed by [25] and [26] who found a significant ($P < 0.05$) improvement in food conversion ratio in broilers fed with organic Se at 0.20 - 0.25 mg/kg resulting from lower feed intake while maintaining the same live weight gain. In the present work, gain: feed ratio was not different significantly between the diets. Further studies are necessary to explain these effects on the appetite poultry. Bunk and Combs [27] has shown that selenium modify the appetite in selenium-deficient poultry increasing the food intake. However others authors [28]-[30] report an increase in feed intake and in body weight in chicken but not associated to a deficiency in selenium, while Payne and Southern [13] report any effect to the selenium supplementation on animal growth.

3.2. Liver Glycogen and Lactate Content

An significantly ($P < 0.05$) increase in glycogen and lactate content in liver at 3 minutes post sacrifice was observed with the Se-Na supplementation (Table 3). Selenium is associated to a higher restoration of glycogen levels in liver after an exercise in rats [31] but it depends on the source and levels of supplementation. In this work we observed also an effect on the lactate levels only with Se-Na supplementation. Lactate level are associated to

Table 2. Effect of selenium supplementation (0.3 ppm) as selenomethionine (Se-Met) or sodium selenite (Se-Na) in a broiler finishing diet (35 - 52 days old) on animal performance parameters: final body weight (g at 52 days old); average daily feed intake (g/d), average daily gain (g/d), conversion efficiency (g gain/g feed) during the period 35 - 52 days; and weight of liver and abdominal fat (g) and as a percentage of body weight at 52 days old and carcass yield (%).

Items	Experimental diets			P
	Control	Se-Met	Se-Na	
Final body weight, g	3770 ± 106	3837 ± 95	3792 ± 103	0.89
Average daily feed intake, g/d	148.0 ± 1.4 a	140.5 ± 1.6 b	150.5 ± 1.8 a	0.001
Average daily gain, g/d	74.8 ± 2.7	77.4 ± 2.6	75.7 ± 2.9	0.80
Gain: Feed, g/g	0.50 ± 0.02	0.55 ± 0.02	0.50 ± 0.02	0.08
Liver weight, g	56.5 ± 1.9	57.4 ± 3.1	54.4 ± 1.3	0.62
Liver weight, as % body weight	1.58 ± 0.04	1.59 ± 0.08	1.65 ± 0.03	0.62
Abdominal fat, g	52.0 ± 4.9	41.8 ± 5.4	47.5 ± 2.9	0.28
Abdominal fat, as % body weight	1.46 ± 0.14	1.17 ± 0.15	1.44 ± 0.07	0.20
Carcass yield, % a	74.3 ± 3.1	77.9 ± 1.0	77.6 ± 1.0	0.36

Data represent mean ± SEM of n = 10 (3 birds by pen). Differences between diets were analyzed by ANOVA one way followed by a Tukey-Kramer Test ($P < 0.05$). Different lowercase in the row means differences between diets. A carcass yield calculated as eviscerated weight divided by final body weight times 100.

Table 3. Effect of selenium supplementation (0.3 ppm) as selenomethionine (Se-Met) or sodium selenite (Se-Na) in a broiler finishing diet (35 - 52 days old) on liver glycogen content, as g glucose/kg fresh meat, and lactate content, as g lactate/kg fresh meat, at 3 minutes post slaughter.

Diets	Glycogen (g/kg fresh meat)	Lactate (g/kg fresh meat)
Control	6.20 ± 0.19 b	1.09 ± 0.16 b
Se-Met	6.94 ± 0.16 ab	1.40 ± 0.10 ab
Se-Na	7.04 ± 0.34 a	1.54 ± 0.07 a
P	0.05	0.04

Data are mean SEM of n = 18. Values followed by different lowercase letters in each column means significant differences between diets by one-way ANOVA followed by a Tukey-Kramer Test ($P < 0.05$).

increased exercise and it was show that selenium supplementation could increase the antioxidant activity in muscle reducing accumulation of lactate and free radicals [32]. Lisuka *et al.* [33] observed a hypoglycemic effect of selenium supplementation and that might be due to the acceleration of glucose metabolism and the inhibition of glucose synthesis in the liver, suggesting a decrease in a source of precursor supply for the gluconeogenesis. The augmentation observed in this work could be due to an increase rate of glycolysis or a diminished sortie from liver to blood and muscle. More research is necessary to highlight this point.

3.3. Meat Quality Parameters

Selenium supplementation significantly modified the pHu in *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles (Figure 1) arising levels of pHu near values of 5.9 - 6.0. These values are consistent with the values reported by Duclos *et al.* [34] and could indicate normal glycolysis [35].

An effect on the colour parameters as L^* , a^* and hue was observed for the diet supplemented with organic selenium (Table 4). This effect was significant only in *Pectoralis* muscle. Diet with Se-Met as selenium source provoked a darker and a redder meat than control and diet with Se-Na. Se-Met source provoked a lower tone also in *Pectoralis*. The colour of fresh meat is a very important factor in the buying decision made by the consumer, and consumers often see this colour as an indicator of the freshness and overall quality of the meat [36] [37]. Colour is usually expressed by three components: brightness, L^* ; redness, a^* ; and yellowness, b^* and according to the data obtained in our work for the pectoral muscle, selenium organic decrease the component brightness and tone and increase redness at 24 hours *post mortem* ($P > 0.05$). The values found for redness, a^* could be explained by a less degradation of myoglobin during the establishment of rigor mortis. The a^* values for the *Pectoralis* muscle for Se-Met supplemented diet is higher than values reported by Fletcher *et al.* [36].

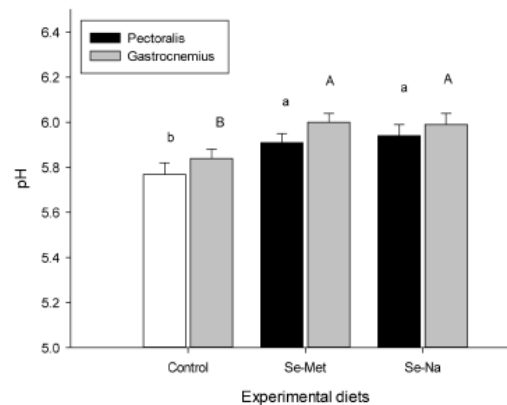


Figure 1. Effect of selenium supplementation (0.3 ppm) as selenomethionine (Se-Met) or sodium selenite (Se-Na) in a broiler finishing diet (35 - 52 days old) on the pHu in muscles *Pectoralis* (PM) and *Gastrocnemius* (GM) at 24 hours *post mortem*. Data are the mean $\pm$ SEM for $n = 18$. The pH measurements for each bird were performed on both sides for both muscles. The main effects for diets and muscles were analyzed by ANOVA with a GLM procedure followed by the *post hoc* Tukey-Kramer test for comparison ($P < 0.05$). Bar with different lowercase (PM) or uppercase (GM) means significant different by one-way ANOVA and Tukey-Kramer test ($P > 0.05$). Main effects: Diets, $P < 0.001$, Se-Met, Se-Na $>$ Control; Muscles, $P < 0.02$, GM $>$ PM.

Table 4. Effect of selenium supplementation (0.3 ppm) as selenomethionine (Se-Met) or sodium selenite (Se-Na) in a broiler finishing diet (35 - 52 days old) on the color, measured as L^* , a^* , b^* (CIELAB method) and on color tone measured as angle hue (H°) and the color saturation measured as chroma (C^*) in muscles *Pectoralis* (PM) and *Gastrocnemius* (GM) at 24 hours *post mortem*.

Diets	Muscles	L	a^*	b^*	H°	C^*
Control	PM	52.5 $\pm$ 1.1 a	1.28 $\pm$ 0.2 b	10.5 $\pm$ 0.8	1.46 $\pm$ 0.03 a	10.6 $\pm$ 0.8
Se-Met	PM	45.7 $\pm$ 0.6 b	2.89 $\pm$ 0.4 a	12.5 $\pm$ 0.8	1.34 $\pm$ 0.02 b	12.9 $\pm$ 0.8
Se-Na	PM	50.4 $\pm$ 1.3 a	1.73 $\pm$ 0.4 b	10.6 $\pm$ 0.9	1.41 $\pm$ 0.02 ab	10.7 $\pm$ 0.9
P		0.001	0.004	0.17	0.004	0.11
Control	GM	53.3 $\pm$ 1.1	3.38 $\pm$ 0.8	13.2 $\pm$ 0.9	1.33 $\pm$ 0.05	13.8 $\pm$ 0.9
Se-Met	GM	55.1 $\pm$ 0.9	4.73 $\pm$ 0.8	13.5 $\pm$ 1.2	1.24 $\pm$ 0.04	14.4 $\pm$ 1.3
Se-Na	GM	55.3 $\pm$ 0.9	5.10 $\pm$ 0.9	11.5 $\pm$ 1.0	1.17 $\pm$ 0.06	12.8 $\pm$ 1.2
P		0.31	0.32	0.36	0.12	0.62
Main effects						
Diets						Muscles
L^* $P < 0.05$ Se-Met $<$ Control, Se-Na						$P < 0.001$ GM $>$ PM
a^* $P < 0.01$ Se-Met $>$ Control						$P < 0.001$ GM $>$ PM
b^* NS						NS
H° $P < 0.007$ Se-Met, Se-Na $<$ Control						$P < 0.001$ GM $<$ PM
C^* NS						$P < 0.01$ GM $>$ PM

Data are mean $\pm$ SEM of $n = 18$. The main effects were analyzed by ANOVA with a GLM procedure and the Tukey-Kramer Test for diets and muscles ($P > 0.05$). Values followed by different lowercase letters in each column indicate significant differences between diets for each color parameter in each muscle by one-way ANOVA followed by a Tukey-Kramer Test ($P < 0.05$).

$a^* = 1.7 - 2.2$ at 24 hours post slaughter. No effect was found for the yellowish-green colour, determined by the variable b^* . In the study of the proportion of red and yellow through the Hue parameter (Table 4), we note a decrease of hue only in the *Pectoralis* muscle when selenium organics was included.

Drip loss was significantly reduced by selenium supplementation compared to the control diet (Table 5). This

Table 5. Effect of selenium supplementation (0.3 ppm) as seleno methionine (Se-Met) or sodium selenite (Se-Na) in a broiler finishing diet (35 - 52 days old) on drip loss (%) in muscles *Pectoralis* (PM) and *Gastrocnemius* (GM) at 24 hours *post mortem*.

Muscles	Experimental diets			P
	Control	Se-Met	Se-Na	
GM	2.09 ± 0.25 a	1.28 ± 0.11 b	1.22 ± 0.22 b	0.05
PM	1.73 ± 0.20a	1.29 ± 0.07 b	1.22 ± 0.10 b	0.05
Main effects Diet P < 0.01	Muscle NS			

Data are mean SEM of n = 18. The main effects were analyzed by ANOVA with a GLM procedure and the Tukey-Kramer Test for diets and muscles (P > 0.05). Values followed by different lowercase letters in each row indicate significant differences between diets in each muscle by one-way ANOVA followed by a Tukey-Kramer test (P < 0.05). NS = no significant.

effect was observed in both muscles, *Pectoralis* and *Gastrocnemius* at 24 hours *post mortem*. This effect was previously observed in poultry by [25] and [14].

The first one showed that a positive difference was found for the organic source on minimizing water loss in breast. In turkeys, Mikulsky *et al.* [38] reported a similar effect of both sources on the drip loss. In the present work we have not any differences between the sources and both were effective for this parameter. Also, we found that this effect was in both muscles studied whereas the other works studied only the pectoral muscle. Beyond the role of selenium in the protection of cells from damage, the dietary selenium source seems improve meat quality, with particular reference to protect muscle of excessive tissue water loss [38]. It seems likely that a stabilizing effect of Se is also associated with maintaining muscle membrane integrity. The drip loss affects principally the marketing pieces of chickens, and processed products and is coming a substantial economic problem [39] and it is estimated that drip loss can account for more than 3% of the total yield of cut-up chicken. Excessive cellular damage resulting from oxidation may be the cause of drip loss [26]. In this sense, Edens [40] showed that drip loss was decreased when organic Se was fed to broilers. Using a model system based on red blood cell membrane stability Edens [40] confirmed a membrane-stabilizing effect of organic Se. Running studies in our laboratory about the lipids and protein oxidation and GPx activity in meat from poultry receiving selenium supplementation with inorganic and organic sources could explain this findings.

4. Conclusion

We studied the effects of selenium supplementation in a finishing broiler diet on the meat quality and animal parameters. We observed that Se-Met supplementation significantly decreases daily food intake whereas Se-Na significantly increases liver glycogen and lactate content at 3 minutes *post mortem*. Se-Met and Se-Na significantly increase pH_u compared to the control diet. Also Se-Met in diet provoked a darker (lower L*) and a redder (higher a*) and a decreased tone (lower H*) in *Pectoralis*. Se-Met and Se-Na significantly decrease the drip loss in *Pectoralis* and *Gastrocnemius* at 24 hours *post mortem*. We conclude that selenium supplementation decreases food intake and improves meat quality by improving color and decreasing drip loss, likely by a modulation of reserve of glycogen in liver. The difference among the organic and inorganic sources is not clear and requires further investigation.

Acknowledgements

We appreciate to Mrs. Carmen Figarola and Mr. Pablo Flakbard by the technical assistance for this investigation.

References

- [1] Grashorn, M.A. (2011) Functionality of Poultry Meat. *Journal of Applied Poultry Research*, 16, 99-106. <http://dx.doi.org/10.1093/japr/16.1.99>
- [2] Woelfel, R.L., Owens, C.M., Hirscheler, E.M., Martinez-Dawson, R. and Sams, A.R. (2002). The Characterization and Incidence of Pale, Soft, and Exudative Broiler Meat in Commercial Processing Plant. *Poultry Science*, 81, 579-584. <http://dx.doi.org/10.1093/ps/81.4.579>

- [3] Soyer, A., Özalp, B., Dalmış U. and Bilgin, V. (2010) Effects of Freezing Temperature and Duration of Frozen Storage on Lipid and protein oxidation in Chicken Meat. *Food Chemistry*, **120**, 1025-1030.
- [4] Barbut, S., Sosnicki, A.A., Lonergan, S.M., Knapp, T., Ciobanu, D.C., Gatcliffe, L.J., Huff-Lonergan, E. and Wilson, E.W. (2008) Progress in Reducing the Pale, Soft and Exudative (PSE) Problem in Pork and Poultry Meat. *Meat Science*, **79**, 46-63. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.031>
- [5] Arthur, J.R.I. (2000) The Glutathione Peroxidases. *Cellular Molecular Life Science*, **57**, 1825-1835.
- [6] Pedrero, Z. and Madrid, Y. (2009) Novel Approaches for Selenium Speciation in Foodstuffs and Biological Specimens: A Review. *Analytical Chimica Acta*, **634**, 135-152. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2008.12.026>
- [7] Stapleton, S.R. (2000) Selenium: An Insulin Mimetic. *Cellular and molecular life Science*, **57**, 1874-1879. <http://dx.doi.org/10.1007/PL00000669>
- [8] Zhou, J., Huang, K. and Gen Lei, X. (2013) Selenium and Diabetes—Evidence from Animal Studies. *Free Radical Biology and Medicine*, **65**, 1548-1556.
- [9] Beilstein, M.A. and Whanger, P.D. (1986) Chemicals Forms of Selenium in Rat Tissues after Administration of Selenite or Seleniomethionine. *The Journal of Nutrition*, **116**, 1711-1719.
- [10] Sevcikova, S., Skrivan, M., Dlouha, G. and Moucky, M. (2006) The Effect of Selenium Source on the Performance and Meat Quality of Broiler Chickens. *Czech Journal of Animal Science*, **51**, 449-457.
- [11] Juniper, D.T., Phipps, R.H., Ramos-Morales, E., and Bertin, G. (2008) Effect of Dietary Supplementation with Selenium-Enriched Yeast or Sodium Selenite on Selenium Tissue Distribution and Meat Quality in Beef Cattle. *Journal of Animal Science*, **86**, 3100-3109. <http://dx.doi.org/10.2527/jas.2007-0595>
- [12] Rayman, M. (2004) Review Article. The Use of High-Selenium Yeast to Raise Selenium Status: How Does It Measure up? *British Journal of Nutrition*, **92**, 557-573. <http://dx.doi.org/10.1079/BJN20041251>
- [13] Payne, R.L. and Southern, L.L. (2005) Comparison of Inorganic and Organic Selenium Sources for Broilers. *Poultry Science*, **84**, 898-902. <http://dx.doi.org/10.1093/ps/84.6.898>
- [14] Downs, K.M., Hess, J.B. and Bilgili, S.F. (2000) Selenium Source Effect on Broiler Carcass Characteristics, Meat Quality and Drip Loss. *Journal of Applied Animal Research*, **18**, 61-72. <http://dx.doi.org/10.1080/09712119.2000.9706324>
- [15] Mueller, A.S., Pallauf, J. and Rafael, J. (2003) The Chemical Form of Selenium Affects Insulinomimetic Properties of the Trace Element: Investigations in Type II Diabetic db/db Mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **14**, 637-647. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2003.08.001>
- [16] INRA (1989) L'Alimentation des animaux monogastriques: Porc, lapin, volailles, 2^{ème} édition. Editions Quae, 282 p.
- [17] Larbier, M. and Leclercq, B. (1992) Nutrition et alimentation des volailles. Editions Quae, 355 p.
- [18] AOAC (2005) International, Official Methods of Analysis. 18th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA.
- [19] Ramos, A., Cabrera, M.C. and 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**, 116-124. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.001>
- [20] Delpech, P. and Ricard, F. (1965) Relation entre les depots adipeux visceraux et les lipides corporels chez le poulet. *Annales de Zootechnie*, **14**, 181-189. <http://dx.doi.org/10.1051/animres:19650205>
- [21] Little, A.C. (1975) Research Note off on a Tangent. *Journal of Food Science*, **40**, 410-411. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1975.tb02213.x>
- [22] Penny, I.J. (1967) The Influence of pH and Temperature on the Properties of Myosin. *Biochemical Journal*, **104**, 609-615. <http://dx.doi.org/10.1042/bj1040609>
- [23] Lowry, O.H. and Passoneau, J.V. (1973) A Flexible System of Enzymatic Analysis. Academic Press, New York.
- [24] Bergmeyer, H.V. and Bernt, E. (1974) Amylo-1,6-glycosidase for the Determination of Glycogen. In: Bergmeyer, H.V., Ed., *Methods of Enzymatic Analysis*, Vol. 3, Academic Press, New York, London, 1127.
- [25] Choct, M., Naylor, A.J. and Reinke, N. (2004) Selenium Supplementation Affects Broiler Growth Performance, Meat Yield and Feather Coverage. *British Poultry Science*, **45**, 5. <http://dx.doi.org/10.1080/00071660400006495>
- [26] Zhou, X. and Wang, Y. (2011) Influence of Dietary Nano Elemental Selenium on Growth Performance, Tissue Selenium Distribution, Meat Quality, and Glutathione Peroxidase Activity in Guangxi Yellow Chicken. *Poultry Science*, **90**, 680-686. <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2010-00977>
- [27] Bunk, M.J. and Combs Jr., G.F. (1980) Effect of Selenium on Appetite in the Selenium-Deficient Chick. *Journal of Nutrition*, **110**, 743-749.
- [28] Cantor, A.H., Scott, M.L. and Noguchi, T. (1975) Biological Availability of Selenium in Feedstuffs and Selenium

- Compounds for Prevention of Exudative Diathesis in Chicks. *Journal of Nutrition*, **105**, 96-105.
- [29] Cantor, A.H., Scott, M.L. and Noguchi, T. (1975) Efficacy of Selenium in Selenium Compounds and Feedstuffs for Prevention of Pancreatic Fibrosis in Chicks. *Journal of Nutrition*, **105**, 106-111.
- [30] Cantor, A.H., Moorehead, P.D. and Musser, M.A. (1982) Comparative Effects of Sodium Selenite and Selenomethionine upon Nutritional Muscular Dystrophy, Selenium-Dependent Glutathione Peroxidase, and Tissue Selenium Concentrations of Turkey Poults. *Poultry Science*, **61**, 478-484. <http://dx.doi.org/10.3382/ps.0610478>
- [31] Akil, M., Bicer, M., Kilic, M., Cihat Avunduk, M., Mogulkoc, R. and Baltaci, A.K. (2011) Effect of Intraperitoneal Selenium Administration on Liver Glycogen Levels in Rats Subjected to Acute Forced Swimming. *Biological Trace Element Research*, **139**, 341-346. <http://dx.doi.org/10.1007/s12011-010-8667-4>
- [32] Akil, M., Gurbuz, U., Bicer, M., Sivrikaya, A., Mogulkoc, R. and Baltaci, A.K. (2010) Effect of Selenium Supplementation on Lipid Peroxidation, Antioxidant Enzymes, and Lactate Levels in Rats Immediately After Acute Swimming Exercise. *Biological Trace Element Research*, **142**, 651-659. <http://dx.doi.org/10.1007/s12011-010-8785-z>
- [33] Iizuka, Y., Sakurai, E., Maeda, K. and Hikichi, N. (1993) Effects of Selenium on the Glycolysis and Gluconeogenesis System in Rat Liver. *Yakugaku Zasshi*, **113**, 525-531.
- [34] Duclos, M.J., Berri, C. and Le Bihan-Duval, E. (2007) Muscle Growth and Meat Quality. *Journal Applied Poultry Research*, **16**, 107-112. <http://dx.doi.org/10.1093/japr/16.1.107>
- [35] Santé, V., Fernandez, X., Monin, G. and Renou, J.P. (2001) Nouvelles Methodes des Mesures de la Qualite des Viandes de Volailles INRA. *Productions Animales*, **14**, 247-254.
- [36] Fletcher, D.L. (1999) Colour Variation in Commercial Packed Broiler Breast Fillet. *Journal of Applied Poultry Research*, **8**, 67-69. <http://dx.doi.org/10.1093/japr/8.1.67>
- [37] El Rammouz, R., Babilé, R. and Fernandez, X. (2004) Effect of Ultimate pH on the Physicochemical and Biochemical Characteristics of Turkey Breast Muscle Showing Normal Rate of Post Mortem pH Fall. *Poultry Science*, **83**, 1750-1757. <http://dx.doi.org/10.1093/ps/83.10.1750>
- [38] Mikulski, D., Jankowski, J., Zduńczyk, Z., Wróblewska, M., Sartowska, K. and Majewska, T. (2009) The Effect of Selenium Source on performance, Carcass Traits, Oxidative Status of the Organism, and Meat Quality of Turkeys. *Journal of Animal and Feed Sciences*, **18**, 518-530.
- [39] Boutten, B. (2003) Advances in Poultry Meat Processing Technology. *XVIIth European Symposium on the Quality of Poultry Meat*, Saint-Brieux, France, August 2003, 14-24.
- [40] Edens, F.W. (2001) Involvement of Sel-Plex in Physiological Stability and Performance of Broiler Chickens. In: Lyons, T.P. and Jacques, T.A., Eds., *Biotechnology in the Feed Industry: Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium*, Nottingham University Press, Nottingham, UK, 349-376.

9.2. TRABAJOS PRESENTADOS EN CONGRESO 60TH ICOMST

9.2.1 Organic and Inorganic Selenium in Poultry Diets: Effect on Lipid and Protein Oxidation, Dripp Loss, and GPx Activity in Fresh and Aged Meat

ORGANIC AND INORGANIC SELENIUM IN POULTRY DIETS: EFFECT ON LIPID AND PROTEIN OXIDATION, DRIP LOSS AND GPx ACTIVITY IN FRESH AND AGED MEAT

Del Puerto, M.^{1*}, Terevinto A¹., Cabrera, M. C^{1,2}., Saadoun, A.²

¹ Facultad de Agronomía, UDELAR, Montevideo, Uruguay
² Facultad de Ciencias, UDELAR, Montevideo, Uruguay

Introduction. The aim of this work was to evaluate the effect of the selenium supplementation in a finishing diet for broilers on the lipid and protein oxidation, GPx activity and drip loss in Pectoralis and Gastrocnemius muscles.

Materials & methods. Twenty-seven Ross male birds divided in three groups were given one of the following diets from 37 to 56 days old when they were sacrificed. A corn-soya base diet considered as basal diet, a basal diet supplemented with 0.3ppm Se from an organic source SeMet and a basal diet supplemented with 0.30ppm Se from an inorganic source SeNa. Muscle *Pectoralis* and *Gastrocnemius* were obtained at 24 hours *post mortem* and divided in two portions, one was stored at -30 °C (fresh) and another one was vacuum packaged and stored at 4°C during 5 days (aged). In fresh and aged samples, lipid (TBARS) and protein (DNPH) oxidation and GPx activity were determined. Drip loss was determined in *Pectoralis* and *Gastrocnemius* samples at 24 hours *post mortem*.

Data were analyzed for the mains effects with ANOVA GLM (NCSS, 2007) with *post hoc* Tukey Test (p<0.05).

Table 1. Effect of organic (SeMet) and inorganic (SeNa) Se supplementation in a diet received two weeks prior sacrifice on the lipid oxidation, measured as TBARS (mg MDA/kg meat) in fresh and aged *Pectoralis* (PM) and *Gastrocnemius* (GM) muscle.

		Selenium source			P
Process	Muscle	Basal	SeMet	SeNa	
Fresh	PM	0.28	0.22	0.28	0.49
		±0.02	±0.02	±0.03	
	GM	0.28	0.33	0.31	
		±0.02	±0.02	±0.03	
Aged	PM	0.27	0.29	0.28	0.01
		±0.02	±0.02	±0.01	
	GM	0.28	0.33	0.32	
		±0.02	±0.03	±0.03	

CONCLUSIONS

Selenium supplementation as organic or inorganic forms decreased the drip loss in both muscles studies, *Gastrocnemius* and *Pectoralis* and increased GPx activity. However, no effect was observed for lipid and protein oxidation. The muscle type affected the response only in TBARS. Process as aged in vacuum package decreased the GPx activity. No effects of source was observed in anyone of parameters measured

Table 2. Effect of organic (SeMet) and inorganic (SeNa) Se source in a diet received two weeks prior sacrifice on the protein oxidation, measured as nmoles DNPH/mg protein, in fresh and aged *Pectoralis* (PM) and *Gastrocnemius* (GM) muscles

		Basal	SeMet	SeNa	P
Process	Muscle				
Fresh	PM	0.20	0.16	0.17	0.16
		±0.03	±0.06	±0.01	
	GM	0.19	0.16	0.15	
		±0.01	±0.02	±0.01	
Aged	PM	0.22	0.17	0.18	0.49
		±0.02	±0.03	±0.01	
	GM	0.19	0.18	0.20	
		±0.01	±0.01	±0.02	

Table 3. Effect of organic (SeMet) and inorganic (SeNa) source of Se in a diet received two weeks prior sacrifice on the glutathione peroxidase activity (GPx), measured as nmoles/min/mg protein, in fresh and aged *Pectoralis* (PM) and *Gastrocnemius* (GM) muscle.

		Selenium Source			P
Process	Muscle	Basal	SeMet	SeNa	
Fresh	PM	6.71	7.38	8.11	0.05
		±0.84	±1.33	±0.63	
	GM	6.55	7.35	5.24	
		±0.32	±0.65	±0.75	
Aged	PM	3.96	6.43	7.25	0.07
		±0.57	±2.00	±1.17	
	GM	5.95	5.13	5.10	
		±1.14	±1.03	±0.14	

Table 4. Effect of organic (SeMet) and inorganic (SeNa) Se supplementation in a diet received two weeks prior to sacrifice on drip loss at 24 hours postmortem in the *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles.

		Selenium Source			P
Muscle		Basal	SeMet	SeNa	
GM		2.09 ±0.25	1.31 ±0.12	1.21 ±0.22	0.01
PM		1.73 ±0.25	1.31 ±0.18	1.22 ±0.10	0.63

9.2.1. Selenium in Poultry Diets: Effect on pH, Color, Glycogen and Lactate Kinetic in Fresh and Aged Pectoralis and Gastrocnemius Muscles

SELENIUM IN POULTRY DIETS: EFFECT ON PH, COLOR, GLYCOGEN AND LACTATE KINETIC IN FRESH AND AGED PECTORALIS AND GASTROCNEMIUS MUSCLES

del Puerto, M.^{1(*)}; Cabrera, M.C.^{1,2}; Terevinto, A.¹; Olivero, R.¹; Saadoun, A.²

1.Fac de Agronomía Udelar, Montevideo, Uruguay 2. Fac Ciencias Montevideo, Udelar, Uruguay

Introduction. The aim of this work was to study the effect of the incorporation of dietary organic and inorganic sources of selenium on pH, color, and glycogen and lactate kinetic *post mortem* in the avian muscles.

Materials & methods. Male birds (35 old-day) divided into three groups of 9 birds each and offered one of the following diets, a basal com-soya, and two other diets supplemented with 0.30ppm Se from an organic source (seleniomethionina, SeMet) and an inorganic source (SeNa). All diets were 21.2% CP, 3191 kcal/kg ME. Immediately after slaughter, pH (pH meter LT Lutron pH-201); colour L, a*, b*, (Minolta Lab CR-10 colorimeter) and determinations of glycogen and lactate (diagnostic kit trinder GOD-POD) were carried up at 10, 45, 90 minutes and 24 hours *post mortem* (maintained at 4°C) in the *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles.

Data were analyzed by repeated measures ANOVA (NCSS, 2007) with mains effects of diet, muscle and time *post mortem* or ANOVA one way (for the same muscle and among diets at each time) and *post hoc* Tukey test when significance was obtained ($p < 0.05$).

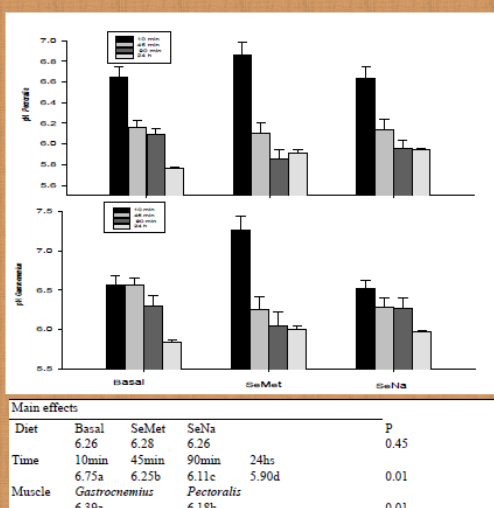


Figure1. Effect of organic (SeMet) and inorganic (SeNa) Se supplementation in a diet received two weeks prior sacrifice on pH evolution at 10, 45, 90 min and 24 hours *post mortem* in the *Pectoralis* and *Gastrocnemius* muscles. Data are mean $\pm$ SEM. Mains effects are analyzed by repeated ANOVA for diet, muscle and time *post mortem*.

CONCLUSION.

Selenium supplementation has modified pH, colour, glycogen initial and level of lactate in poultry meat. The source of Se had influenced initial glycogen but no on the initial lactate level. Strategic dietary selenium could be a tool to improve the meat quality.

Table 1. Effect of supplementation and source of Selenium (SeMet, selenium methionine; SeNa, sodium selenite) in poultry diet on the kinetics of glycogen (g/100 g meat) at 10, 45, 90 min and 24 hours *post mortem* in *Pectoralis* (PM) and *Gastrocnemius* (GM) muscles.

Muscles	Time post mortem	Selenium source		
		Basal	SeMet	SeNa
PM	10min	11.3	6.35	14.4
	45min	8.16	6.04	7.58
	90 min	7.60	7.74	5.91
	24 hours	4.67	6.56	5.92
GM	10 min	4.03	3.98	5.47
	45 min	4.84	3.74	4.31
	90 min	4.43	5.62	4.56
	24 hours	4.76	4.56	4.76

Main effects:
Diet: $p < 0.47$
Muscle: $p < 0.001$ PM-GM
Time: $p < 0.01$ 10 min-45 min-90 min-24 hours

Table 2. Effect of supplementation and source of Selenium (SeMet, selenium methionine; SeNa, sodium selenite) in poultry diet on the kinetics of lactate (g/100 g meat) at 10, 45, 90 min and 24 hours *post mortem* in *Pectoralis* (PM) and *Gastrocnemius* (GM) muscles.

Muscles	Time post mortem	Selenium source		
		Basal	SeMet	SeNa
PM	10 min	0.85	1.43	1.62
	45 min	1.34	1.59	1.64
	90 min	1.54	1.61	1.69
	24 hours	1.74	1.16	1.16
GM	10 min	1.03	0.70	0.88
	45 min	1.35	1.14	0.91
	90 min	1.16	1.25	0.89
	24 hours	1.24	0.94	0.96

Main effects:
Diet: $p < 0.05$ Basal- SeMet, SeNa
Muscle: $p < 0.001$ PM-GM
Time: $p < 0.001$ 24 hours-90 min-45 min-10 min

Results

The supplementation with Se did not affect the pH values ($p > 0.45$) when both muscles are considered. When each time is considered, in both *Pectoralis* and in *Gastrocnemius*, at 24 hours *post mortem*, SeNa and SeMet provoked higher pH than basal diet ($p < 0.001$ and $p < 0.05$ respectively). The animals feed with SeMet showed a darker and redder meat at 24 hours *post mortem*. Glycogen initial at 10 min was lower with SeMet in *Pectoralis*, but glycogen degradation and final glycogen was not different with Se supplementation ($p > 0.47$). No differences in initial glycogen in *Gastrocnemius* were observed. A effect of diet was obtained on the lactate level with Se supplementation (Table 2). More lactate was produced in meat from animals receiving Se ($p < 0.05$), without effect of source.

