

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA**

**DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



“Estabilidad oxidativa y calidad sensorial de carne de pollo enriquecida con ácidos grasos n-3 proveniente de fuentes de origen vegetal y animal, protegida con vitamina E y selenio orgánico”

**TESIS DOCTORAL**

*Presentada por:*

Lic. Claudia I. Gallinger

*Dirigida por:*

Dra. María Jesús Pagán  
Moreno

Dra. Adriana Descalzo

Valencia/Concordia,

Diciembre 2015



**DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE  
ALIMENTOS**

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA



Universidad Nacional  
de Entre Ríos

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA ALIMENTACIÓN**  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE ENTRE RÍOS

Dra. María Jesús Pagán Moreno, PROFESORA TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS DE LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA Y Dra Adriana Descalzo INVESTIGADORA DEL INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA, ARGENTINA

CONSIDERAN: que el trabajo de investigación titulado “Estabilidad oxidativa y calidad sensorial de carne de pollo enriquecida con ácidos grasos n-3 proveniente de fuentes de origen vegetal y animal, protegida con vitamina E y selenio orgánico”, realizado bajo su dirección y que, para aspirar al grado de Doctor, presenta la Licenciada en Bromatología Claudia Isabel Gallinger, reúne las condiciones adecuadas para constituir su Tesis Doctoral, por lo que AUTORIZAN a la interesada para su presentación

Valencia a 28 septiembre de 2015

Dra. M<sup>a</sup> Jesús Pagán Moreno

## **AGRADECIMIENTOS**

Al INTA que me permitió capacitarme y me dio todos los medios para hacerlo.

*A mis padres.*

*A mi familia.*

*A mis compañeros de trabajo.*

*A mis amigos.*

*A mi compañero de vida.*

*A la vida misma...*

## RESUMEN

La sociedad argentina, al igual que otras poblaciones occidentales, presenta un déficit en el consumo de ácidos grasos omega tres, esto se debe principalmente a un bajo consumo de pescado. Una de las posibilidades para incrementar la ingesta de estos ácidos grasos es recurrir a productos enriquecidos con los mismos.

La carne de pollo ocupa el segundo lugar en cuanto al consumo de carnes, en Argentina. Ésta, al igual que otras carnes, es un alimento nutritivo que contiene gran cantidad de proteína de alto valor biológico, vitaminas y minerales. Sus proteínas son fácilmente asimilables por el ser humano y aportan todos los aminoácidos esenciales. Avances tecnológicos recientes permiten, mediante la modificación de la alimentación de las aves, modificar la composición de lípidos de la carne de pollo.

El incremento de ácidos grasos insaturados conlleva generalmente a un aumento en la susceptibilidad a la oxidación de sus ácidos grasos con la concomitante aparición de sabores y olores extraños. Antioxidantes como la vitamina E y el selenio han sido evaluados como eficaces protectores de oxidación de los lípidos.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la incorporación de ácidos grasos de fuentes vegetales y animales junto con el agregando vitamina E y selenio orgánico.

Para tal efecto se compararon cuatro tratamientos: T1, dieta control (Maíz-Soja); T2, dieta con aceite de lino 4%; T3 dieta con aceite de lino 3% y aceite de pescado 2% y T4 dieta con aceite de pescado 4%. A cada una de ellas se le agregó vitamina E (200 mg/g) y selenio orgánico (0,3 mg/kg). Las dietas fueron formuladas isonutritivas y fueron suministradas desde los 21 días hasta los 49 días de vida. Posteriormente se evaluaron en dos cortes diferentes, pechuga y pata muslo, la composición de ácidos grasos, la estabilidad oxidativa (valores de TBA) de la carne cocida, el contenido de vitamina E de los tejidos y el comportamiento de los cortes ante un panel sensorial.

Se observó un marcado efecto de los tratamientos sobre el contenido de ácidos grasos omega-3, siendo el tratamiento 4 el que produjo la mayor deposición de omega-3 de cadena larga (EPA y DHA). El panel sensorial encontró diferencias sobre todo en los tratamientos 3 y 4 en cuanto a la aparición de sabores y olores extraños, siendo estos mismos tratamientos los que presentaron mayores niveles de oxidación. El tratamiento 2 presentó mayor aceptabilidad sensorial y menores valores de sustancias reactivas al ácido tiobárbítico (TBA), indicador bioquímico de oxidación lipídica.

Una porción de 100 g de pechuga aportaría el 50% de las recomendaciones dietarias y la pata-muslo el 100% de las recomendaciones dietarias de contenido de n-3 establecidas por diferentes organismos de salud en los últimos años, cuando los pollos fueron alimentados con aceite de pescado al 4%. Sin embargo esta carne presentó los niveles más elevados de oxidación lipídica y la incorporación de vitamina E combinada con selenio orgánico no fue lo suficientemente efectiva para prevenirla.

Palabras clave: alimentos funcionales; carne de pollo; omega tres; vitamina E; selenio

## Resum

La societat argentina, igual que altres poblacions occidentals, presenta un dèficit en el consum d'àcids grassos omega tres, açò es deu principalment a un baix consum de peix. Una de les possibilitats per a incrementar la ingesta d'estos àcids grassos és recórrer a productes enriquits amb els mateixos.

La carn de pollastre ocupa el segon lloc quant al consum de carns, a Argentina. Esta, igual que altres carns, és un aliment nutritiu que conté gran quantitat de proteïna d'alt valor biològic, vitamines i minerals. Les seues proteïnes són fàcilment assimilables pel ser humà i aporten tots els aminoàcids essencials. Avanços tecnològics recents permeten, per mitjà de la modificació de l'alimentació de les aus, modificar la composició de lípids de la carn de pollastre.

L'increment d'àcids grassos insaturats comporta generalment a un augment en la susceptibilitat a l'oxidació dels seus àcids grassos amb la concomitant aparició de sabors i olors estranyes. Antioxidants com la vitamina E i el seleni han sigut avaluats com a eficaços protectors d'oxidació dels lípids.

L'objectiu del present treball va ser avaluar la incorporació d'àcids grassos de fonts vegetals i animals junt amb l'agregant vitamina E i seleni orgànic.

Per a tal efecte es van comparar quatre tractaments: T1, dieta control (Dacsa-Soja); T2, dieta amb oli de lli 4%; T3 dieta amb oli de lli 3% i oli de peix 2% i T4 dieta amb oli de peix 4%. A cada una d'elles se li va agregar vitamina E (200 mg/g) i seleni orgànic (0,3 mg/kg). Les dietes van ser formulades isonutritives i van ser subministrades des dels 21 dies fins als 49 dies de vida. Posteriorment es van avaluar en dos talls diferents, pit i pota cuixa, la composició d'àcids grassos, l'estabilitat oxidativa (valors de TBA) de la carn cuïta, el contingut de vitamina E dels teixits i el comportament dels talls davant d'un panell sensorial.

Es va observar un marcat efecte dels tractaments sobre el contingut d'àcids grassos omega-3, sent el tractament 4 el que va produir la major deposició d'omega-3 de cadena llarga (AU i DHA). El panell sensorial va trobar diferències sobretot en els tractaments 3 i 4 quant a l'aparició de sabors i olors estranyes, sent estos mateixos tractaments els que van presentar majors nivells d'oxidació. El tractament 2 va presentar major acceptabilitat sensorial i menors valors de substàncies reactives a l'àcid tiobarbitúric (TBA), indicador bioquímic d'oxidació lipídica.

Una porció de 100 g de pit aportaria el 50% de les recomanacions dietètics i la pota-cuixa el 100% de les recomanacions dietètics de contingut de n-3 establides per diferents organismes de salut en els últims anys, quan els pollastres van ser alimentats amb oli de peix al 4%. No obstant això esta carn va presentar els nivells més elevats d'oxidació lipídica i la incorporació de vitamina E combinada amb seleni orgànic no va ser prou efectiva per a previndre.

## **SUMMARY**

Despite people attitudes concerning healthy eating, western diets still show a low intake of n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA). Among Argentinean people the consumption of fish meat is relatively poor, being beef and chicken meat their main sources of protein. A viable way of increasing the consumption of n-3 PUFA is to raise the intake of products enriched with them.

Chicken meat is rated in second place in the consumption of meat in Argentina. This meat, like others, is a nutritive food that contains highly biologically valued proteins, vitamins and minerals. Chicken's proteins are easily assimilable by human body and they provide with essential aminoacids. The fatty acid composition of the lipids of broilers muscle tissues may be adapted to meet recommended values, adjusting the fatty acid composition of the diet. Modifying lipid profile of chicken meat could be considered as an effective way to produce a functional food.

Unsaturated fatty acids, as is vastly documented, are prone to oxidation. The oxidation susceptibility of chicken meat is directly related to the degree of unsaturation of fatty acids. The more unsaturated is the fatty acid, the greater its oxidation could be, appearing concomitantly odd flavors and odors.

A marked effect of treatments on the content of omega three fatty acids was observed, with treatment 4 which produced the greatest deposition of omega-3s (EPA and DHA). The sensory panel found differences on all treatments 3 and 4 in terms of the appearance of flavors, odors, and these same treatments that had higher levels of oxidation. Treatment 2 had increased sensory acceptability and lower values of thiobarbituric acid reactive substances (TBA), biochemical indicator of lipid oxidation.

A 100g serving of chicken breast contribute 50% of the dietary recommendations and the leg-thigh 100% of the dietary recommendations of content of n-3 established by various health agencies in recent years, when the chickens were fed Fish oil 4%. However this meat had the highest levels of lipid oxidation and incorporation of vitamin E combined with organic selenium was not effective enough to prevent it.

# INDICE



# Índice general

I.	Introducción .....	1
I.1.	Introducción a la temática.....	1
I.1.1.	Alimentos funcionales .....	1
I.1.2.	Panorama avícola y su consumo en la Argentina .....	7
I.1.3.	La Carne de pollo .....	9
I.1.4.	Modificación del perfil lipídico de la carne de pollo a través de la dieta .....	14
I.2.	Ácidos grasos n-3 .....	18
I.2.1.	Ácidos grasos n-3 y la salud.....	18
I.2.2.	Elongación y desaturación de ácidos grasos n-3 y n-6 .....	20
I.2.3.	Evolución del consumo de lípidos y desbalance n-6/n-3.....	26
I.2.4.	Efectos biológicos y funcionales de los AGPI.....	29
I.2.5.	AGPI en las enfermedades crónicas .....	32
I.2.6.	Conversión de Ácido $\alpha$ -linolénico dietario en EPA y DHA .....	43
I.2.7.	Ingesta adecuada de AGPI n-3.....	45
I.2.8.	Fuentes de AGPI n-3 .....	47
I.3.	Oxidación .....	48
I.3.1.	Proceso de oxidación.....	49
I.3.2.	Peroxidación lipídica .....	53
I.3.3.	Sistemas antioxidantes.....	54

I.3.4. Antioxidantes liposolubles e hidrosolubles .....	58
I.3.5. Evaluación de la oxidación lipídica en la carne. ....	59
I.3.6. Factores que influyen en la oxidación de la grasa ...	63
I.3.7. Relación entre el Perfil lipídico de la carne de pollo y la susceptibilidad a la oxidación .....	66
I.3.8. Presencia de Antioxidantes .....	68
I.4. Vitamina E .....	70
I.4.1 Estructura, propiedades y función de la vitamina E ..	72
I.4.2. Recomendaciones dietarias de vitamina E para humanos .....	75
I.4.3. Absorción, digestión y metabolismo de la Vitamina E .....	76
I.4.4. Mecanismos moleculares de la acción antioxidante	81
I.4.5. Efecto antioxidante en la carne de pollo .....	84
I.4.6. Modificación del contenido de $\alpha$ -tocoferol de los tejidos de pollos .....	86
I.5. Selenio .....	96
I.5.1. Estructura, propiedades y función del selenio .....	98
I.5.2. Metabolismo del Selenio .....	100
I.5.3. Recomendaciones dietarias de selenio para humanos .....	103
I.5.4. Mecanismos moleculares de la acción antioxidante del Selenio .....	105
I.5.5. Efecto Antioxidante del selenio en la carne de pollo .....	108

I.5.6. Efecto del selenio sobre los parámetros productivos .....	111
I.5.7 Modificación del contenido de selenio en músculo .	113
I.5.8. Efecto antioxidante del selenio en la carne .....	114
II.    Objetivos y Plan de trabajo .....	118
II.1. Objetivos .....	118
II.1.1. Objetivo general.....	119
II.1.2. Objetivos parciales .....	119
II.2. Plan de trabajo .....	120
III.    Materiales y Métodos .....	124
III.1. Metodología .....	124
III.1.1. Fase I. Formulación de las dietas .....	124
III.1.2. Fase II. Efecto de las dietas “in vivo” .....	129
III.1.3. Fase III. Efecto sobre la carne .....	130
III.2. Determinaciones .....	131
III.2.1. Determinaciones analíticas en las dietas/alimentos .....	131
III.2.1.1. Perfil lipídico de los aceites .....	132
III.2.1.2. Materia seca .....	132
III.2.1.3. Proteínas .....	133
III.2.1.4. Energía metabolizable.....	134
III.2.1.5. Selenio.....	136
III.2.1.6. Contenido de vitamina E.....	137
III.2.1.7. Acidez libre y rancidez (índice de peróxidos) ....	138

III.2.2. Determinaciones en animales vivos (parámetros zootécnicos) .....	140
III.2.2.1. Peso: .....	140
III.2.2.2. Consumo de alimento .....	141
III.2.2.3. Conversión .....	141
III.2.3. Determinaciones analíticas en carne .....	141
III.2.3.1. Grasa intramuscular .....	141
III.2.3.2. Perfil de ácidos grasos .....	142
III.2.3.3. Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBA) .....	142
III.2.3.4. Contenido de vitamina E .....	143
III.2.3.5. Contenido de selenio .....	143
III.2.3.6. Evaluación sensorial.....	144
III.3. Tratamiento de datos .....	147
IV. Resultados y Discusión.....	150
IV.1. Formulación y evaluación de las dietas/alimentos.....	150
IV.1.1. Evaluación del perfil lipídico de los aceites de lino y pescado.....	151
IV.1.2. Formulación de las dietas/alimentos.....	152
IV.1.3. Valoración nutricional de las dietas/alimentos .....	156
IV.1.4. Contenido de selenio en las dietas .....	166
IV.1.5. Contenido de vitamina E en las dietas .....	167
IV. 1.6. Estabilidad oxidativa de los alimentos formulados.	169
IV.2. Efecto de las dietas “in vivo” sobre los animales .....	175
IV.3. Efecto sobre la carne de pollo.....	177

IV.3.1. Contenido de grasa intramuscular .....	178
IV.3.1.1. Perfil lipídico de los diferentes cortes.....	180
IV.3.1.2. Contenido de ácidos grasos n-3 .....	185
IV.3.1.3. Aporte nutricional de n-3 CL a la dieta humana	196
IV.3.2. Evaluación sensorial de la carne modificada .....	198
IV.3.2.1. Pechuga .....	199
IV.3.2.2. Pata-muslo.....	201
IV.3.3. Estabilidad oxidativa.....	205
IV.3.3.1. Relación entre TBA y panel sensorial .....	208
IV.3.4. Contenido de Selenio en carne .....	209
IV.3.5 Contenido de vitamina E.....	211
V.    Conclusiones .....	216
V. 1 Formulación y evaluación de las dietas/alimentos..	216
V. 2 Efecto de las dietas “in vivo” sobre los animales ....	217
V. 3 Efecto sobre la carne de pollo .....	218
V. 4. Aporte nutricional de n-3 CL a la dieta humana .....	220
VI.    Referencias bibliográficas .....	224

## Índice de tablas

Tabla I.1 Composición del muslo y la pechuga de pollo sin piel (Cortinas-Hernández, 2004).....	10
Tabla I.2 Contenido y clases de lípidos en pechuga, muslo y piel de pollo (Cortinas – Hernández, 2004) .....	11
Tabla I.3 Perfil de ácidos grasos de pechuga, muslo y piel de pollos alimentados con una dieta estándar. (Ratnayake et al.,1989).....	13
Tabla I.4 Factores nutricionales que afectan la desaturación en posición $\Delta 6$ y $\Delta 5$ en microsomas de hígado de rata (Bezard, 1994) .....	25
Tabla I.5 Factores hormonales que afectan la desaturación en posición $\Delta 6$ y $\Delta 5$ en microsomas de hígado de rata (Bezard, 1994) .....	26
Tabla I.6. Recomendaciones sobre el consumo de w-3 y relación w-6/w-3 para la ingesta de individuos adultos (Simopoulos et al, 1999, ISSFAL, 2007) .....	46
Tabla I.7 Principales especies reactivas al oxígeno (Gutiérrez-Salinas, 2006).....	51
Tabla I.8 Valores de oxidación lipídica obtenidos por diferentes métodos analíticos para muestras de muslo cocido (Grau <i>et al.</i> , 2001 a b) .....	62

Tabla I.9 Escala aproximada para la interpretación de los valores de TBAs (mg/kg) en carne y subproductos (Coetzee & Hoffman, 2001) .....	63
Tabla I.10 Efecto de diferentes fuentes dietarias sobre el desarrollo de MDA .....	67
Tabla I.11 Actividad relativa de los estereoisómeros del $\alpha$ -tocoferol (Weiser & Vecchi, 1982).....	75
Tabla I.12 Resultados sobre la reducción de la oxidación de los lípidos en carne de pollo cuando se adicional vitamina E .....	84
Tabla I.13 Recomendaciones dietarias de Se realizadas por diferentes organizaciones de salud ( $\mu\text{g}/\text{día}$ ) (Rayman, 2000; Thomson, 2004).....	105
Tabla III.1 Resumen de los diferentes tipos de alimentos utilizados en función del tipo de dieta y fase de desarrollo....	126
Tabla IV.1 Perfil lipídico de los aceites de lino y de pescado.	152
Tabla IV.2 Formulación del alimento iniciador (I) utilizado en los cuatro tipos de alimentación testadas. ....	153
Tabla IV.3 Formulación de los alimentos de crecimiento (C) para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP).....	155
Tabla IV.4 Formulación de los alimentos de terminación (T) para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP).....	155

Tabla IV.5 Valoración nutricional teórica para el alimento iniciador (I) utilizado en los cuatro tipos de alimentación testadas.....	157
Tabla IV.6 Valoración nutricional teórica para el alimento de crecimiento (C) para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) .....	158
Tabla IV.7 Valoración nutricional teórica para el alimento de terminación (T) para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) .....	158
Tabla IV.8 Valoración nutricional en base a los valores de materia seca, energía metabolizable verdadera (EMV) y contenido en proteínas para el alimento de crecimiento (C) para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP).....	159
Tabla IV.9 Valoración nutricional en base a los valores de materia seca, energía metabolizable verdadera (EMV) y contenido en proteínas para el alimento de crecimiento (T) para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP).....	160
Tabla IV.10 Perfil lipídico para el alimento de crecimiento (C) y terminación (T) para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de	

pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP). Resultados expresados como gramos de ácidos grasos por 100 gramos de grasa .....	164
Tabla IV.11 Perfil lípidico para el alimento de crecimiento (C) y terminación (T) para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP). Resultados expresados como % de ácidos grasos por ración. ....	165
Tabla IV.12 Contenido de selenio en el alimento de terminación formulado para la dieta control (maíz y soja), con y sin el complejo vitamínico-mineral Premix y selenio.....	166
Tabla IV.13 Contenido de vitamina E para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP).....	168
Tabla IV.14 Rancidez y Acidez de los alimentos de iniciación y terminación para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP). ....	170
Tabla IV.15 Parámetros zootécnicos: peso, consumo y conversión en animales alimentados con la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) .....	177
Tabla IV.16 Contenido de grasa intramuscular (g grasa/100 gramos de tejido) en los animales alimentados con la dieta	

control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP).....	179
Tabla IV.17 Efecto de las dietas (control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) y corte considerado sobre el perfil lipídico . Valores promedios, expresados en g/100 g de grasa.....	181
Tabla IV.18 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) sobre el perfil lipídico en los diferentes cortes (g de ácido graso /100 g de grasa). .....	185
Tabla IV.19 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) sobre el contenido de ácidos grasos individuales en los diferentes cortes <sup>1</sup> .....	185
Tabla IV.20 Significación de los factores corte y dieta incluidos en el modelo para el contenido de n-3 en la carne.....	186
Tabla IV.21 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) sobre el contenido de ácidos grasos n-3 en los diferentes cortes <sup>1</sup> .....	186
Tabla IV.22 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de	

pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP), en cada uno de los cortes sobre el contenido de n-3 <sup>1</sup> .....	191
Tabla IV.23 Perfil sensorial de la pechuga de animales alimentados con la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP). .....	197
Tabla IV.24 Perfil sensorial de la pata-muslo de animales alimentados con la dieta control a base de maíz y soja (MS-1) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL-2), aceite de pescado y lino (ALP-3) y aceite de pescado (AP-4) .....	201
Tabla IV.25 Efecto de las dietas sobre contenido de TBA en los diferentes cortes de pollos alimentados con la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP). .....	204
Tabla IV.26 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) y tipo de corte sobre los valores de TBA observados en la carne cocida de pollo (mg/kg) .....	207
Tabla IV.27 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) sobre contenido de selenio en la carne de pechuga de pollo .....	210
Tabla IV.28 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y de las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite	

de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) sobre el contenido de alfa tocoferol en los diferentes cortes .....	211
Tabla IV.29 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) sobre contenido de vitamina E en los cortes de pechuga y pata muslo.....	214

## Índice de figuras

Figura I.1 Evolución de la producción avícola y el consumo de carne aviar en Argentina (SAGPYA, 2014) .....	9
Figura I.2 Estructura de los ácidos grasos de 18 carbono (Primo-Yúfera, 2007) .....	21
Figura I.3 Elongación de los ácidos grasos de la serie n-6 y n-3. (Komprda, 2012).....	23
Figura I.4 Esquema hipotético del consumo de grasas y ácidos grasos y consumo de vitamina E y C. (Simopoulos, 2000).....	27
Figura I.5 Relación n-6/n.3 en los lípidos dietarios y prevalencia de diabetes tipo 2 (Raheja, 1993) .....	29
Figura I.6 Perfil de ácidos grasos de diferentes alimentos (Craig & Sons, 2004, Morris, 2007) .....	48
Figura I.7 Descripción del proceso de oxidación (Nawar, 1993) .....	53
Figura I.8 Acción del complejo enzimático ante la presencia de radicales libres (Weydert y Cullen, 2010).....	56
Figura I.9 Estrategias de control de la peroxidación lipídica (Carreras – Ferrer, 2004).....	70
Figura I.10 Estructura química del tocol y tocotrienol (Wang & Quinn, 1999).....	73
Figura I.11 Absorción y transporte de la vitamina E (BASF, 2014) .....	77
Figura I.12 Transporte de $\alpha$ -tocoferol (Biesalski & Grimm, 2007) .....	79
Figura I.13 Reacciones secuestrantes del $\alpha$ -tocoferol (Wang & Quinn, 1999).....	83
Figura I.14 Subclasificación de la glutatión peroxidasa, ubicación y funciones biológicas (Kühn & Borchet, 2002) .....	107
Figura II.1 Plan de trabajo.....	121
Figura III.1 Planilla de evaluación sensorial .....	146

Figura IV.1 Evolución de la oxidación en los alimentos de crecimiento y terminación utilizados en la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) .....	174
Figura IV.2 Relación n-6/n-3 en la dieta vs relación n-6/n-3 en la carne de pollo. ....	183
Figura IV.3 Concentración de ácidos grasos C 18:3 y n-3 CL (g/100 g de grasa) en animales alimentados con las distintas dietas, control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de lino y pescado (ALP) y aceite de pescado (AP) .....	189
Figura IV.4 Concentración de ácidos grasos n-3 (g/100g de grasa) en animales alimentados con las distintas dietas (control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecida con aceite de lino AL), aceite de lino y pescado (ALP) y aceite de pescado (AP) .....	190
Figura IV.5 Relación entre las concentraciones de n-3 en la dieta y en la carne (g/100 g de grasa).....	191
Figura IV.6 Concentración de Ácidos grasos C 18:3 y n3 CL (g/100g de grasa) en pechuga y pata muslo en animales alimentados con las distintas dietas (control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecida con aceite de lino AL), aceite de lino y pescado (ALP) y aceite de pescado (AP). ....	194
Figura IV.7 Concentración de Ácidos grasos n-3 (g/100g de grasa) en pechuga y pata muslo en animales alimentados con las distintas dietas (control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecida con aceite de lino AL), aceite de lino y pescado (ALP) y aceite de pescado (AP).....	195
Figura IV.8 Impacto de las distintas dietas (control (MS) y las dietas enriquecida con aceite de lino (AL), aceite de lino y pescado (ALP) y aceite de pescado (AP) en aves sobre el contenido de ácidos grasos C18:3 y n3 CL en los corte de pechuga y pata muslo. Expresados en mg/ 100g de carne...	198

Figura IV.9 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS-1) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL-2), aceite de pescado y lino (ALP-3) y aceite de pescado (AP-4) sobre los parámetros sensoriales en pechuga. ....	200
Figura IV.10 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) sobre los parámetros sensoriales en pata-muslo .....	205
Figura IV.11 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) sobre contenido de vitamina E en los cortes de pechuga y pata muslo.....	213

## **Abreviaturas**

12-HETE: ácido 12-hidroxicosatotetraenoico

AA: ácido araquidónico

AACC: American Association of Cereal Chemists

ACTH: hormona adenocorticotropa

Ac: Aceite

ADN: ácido desoxirribonucleico

AFFSA, CNERNA-CNRS: Agence française de sécurité  
sanitaire des aliments, Centre Nationale d'Etudes et de  
Recommandations sur la Nutrition et l'Alimentation  
Centre National de la Recherche Scientifique

AG: ácido graso

AGE: ácidos grasos esenciales

AGMI: ácidos grasos monoinsaturados

AGPI: ácidos grasos poliinsaturados

AGS: ácidos grasos saturados

ALA: ácido  $\alpha$ -linolénico

AL: ácido linoleico

ANSES: Agencia Nacional de Seguridad Sanitaria de la Alimentación

AMSA: Asociacion Americana de Ciencia de la Carne

AOAC: Association of analytical chemists

CAT: catalasa

AC16:0: ácido palmítico

C16:1 n-7: ácido palmitoleico

C18:0: ácido esteárico

C18:1 n-9: ácido oleico

C18:2 n-6: ácido linoleico

C18:3 n-3: ácido  $\alpha$ -linolénico

C18:3 n-6: ácido  $\gamma$ -linolénico

C20:3 n-6: ácido dihomo- $\gamma$ -linolénico

C20:4 n-6: ácido araquidónico

C20:5 n-3: ácido araquidónico

C22:5 n-3: ácido docosapentaenoico

C22:6 n-3: ácido docosahexaenoico

cm: centímetro

°C: grados Celsius

COX-2: ciclooxigenasa 2

COX-1: ciclooxigenasa 1

DHA: ácido docosahexaenoico

DPA: ácido docosapentaenoico

EB: energía bruta

EFSA: Autoridad Seguridad Alimentaria Europea

EMV: energía metabolizable verdadera

EPA: ácido eicosapentaenoico

et al.: y colaboradores

ERO: especies reactivas del oxígeno

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la  
Alimentación y la Agricultura

g: gramo

GPX: glutathion peroxisoma

h: hora

hab.: habitante

hs: horas

IA: ingesta adecuada

IL-1 $\alpha$ : interleuquina

ITA: Instituto de Tecnología de los Alimentos

INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

ISSFAL: Sociedad Internacional para el Estudio de los  
Lípidos y Ácidos Grasos

HDL: lipoproteína de alta densidad

HO•: radical hidroxilo

HO<sub>2</sub>•: radical perhidroxilo

HPLC: cromatografía líquida de alto desempeño

IDL: lipoproteína de densidad intermedia

IRAM: Instituto Argentino de Normalización y  
Certificación

ISO: International Organization for Standardization

Kcal: kilocaloría

Kg: kilogramo

L•: radical lipídico primario

LA: ácido linoleico

LCAT: lecitina colesterol acil transferasa

LDL: lipoproteína de baja densidad

LH: lipasa hepática

LO•: radical alcoxilo

LOO•: radical peroxilo lipídico

LOOH: hidroperóxido lipídico

LPL: lipoproteína lipasa

LT: leucotrieno

LTB4: leucotrieno B4

m: metro

m<sup>2</sup>: metro cuadrado

MDA: malondialdehído

Meq: miliequivalentes

mg: miligramo

μg: microgramo

min.: minuto

ml: mililitro

mm: milímetro

MAGPYA: Ministerio de Agricultura, Ganadería, Pesca  
y Alimentación de la Nación

nmoles: nanomoles

n-3: omega-3

n-3 CL: ácidos grasos de omega tres de cadena larga

n-6: omega-6

ND: no determinado

NRC: Consejo Nacional de Investigación

O<sub>2</sub>•: radical superóxido

O<sub>3</sub>: Ozono

•OH: Hidroxilo

OMS: Organización Mundial de La salud

PCOX: coclooxigenasa parcial

PG: prostaglandina

PGI: prostaciclina

PL: peroxidación lipídica

PM: portomicrón

QM: quilomicrón

QDA: análisis descriptivo cuantitativo

R•: radical

RO•: radical alcoxilo

ROO•: radical peroxilo

ROS: especies reactivas del oxígeno

s: segundo

SAGPYA: Secretaría Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación

SD: desviación estándar

SOD: superóxido dismutasa

TBA: ácido tiobarbitúrico

TBARS: sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico

TCA: ácido tricloroacético

TEP: 1,1,3,3-tetraetoxipropano

TO•: radical tocoferilo

TX: tromboxano

VLDL: lipoproteína de muy baja densidad

UI: Unidades Internacionales

UV: ultra violeta

v/v: volumen en volumen

vit.: vitamina

WHO: Organización Mundial de la Salud

# CAPÍTULO I



## **I. Introducción**

### **I.1. Introducción a la temática**

#### **I.1.1. Alimentos funcionales**

En la actualidad, con el aumento en la expectativa de vida de los individuos, los consumidores buscan alimentos que les aporten ventajas extras a las necesidades básicas para su manutención y crecimiento. Por lo que desean incorporar a su dieta alimentos que les permitan mantener su salud y un buen estado físico. Este nuevo escenario ha llevado a los consumidores al creciente interés en productos enriquecidos con nutrientes o componentes que mejoren su bienestar.

La noción de alimentación equilibrada es un concepto fundamental, resultado de un siglo de investigaciones en nutrición realizadas a partir del descubrimiento de los nutrientes y de su importancia para el desarrollo y crecimiento del organismo y su mantenimiento. Esta ha sido la principal fuerza impulsora en la elaboración de recomendaciones nutricionales y orientaciones alimentarias. No obstante, a comienzos del siglo XXI, la ciencia de la nutrición afronta nuevos desafíos. Según su definición actual, la salud no es la mera ausencia de enfermedad, pues abarca también el bienestar físico, mental y psicológico. Se reconoce, además, que el alimento no sólo es necesario para el sustento así como para el desarrollo y

crecimiento del cuerpo, sino que desempeña un papel clave en la calidad de la vida (Ashwell, 2005)

El concepto de alimento funcional, que surgió en Japón en la década de los ochenta. En 1991, se estableció el concepto de “Alimentos para Uso Específico en la Salud (Foods for Specified Health Use, FOSHU) y este ha sido posteriormente ampliado en los Estados Unidos y en Europa. Este expresa, implícitamente, que los alimentos y los componentes alimentarios pueden ejercer una influencia beneficiosa sobre las funciones fisiológicas al mejorar el estado de bienestar y salud, y reducir el riesgo de enfermedad. En los años noventa, el capítulo europeo del Instituto Internacional de Ciencias de la Vida (International Life Sciences Institute – Europe, ILSI Europe) elaboró un proyecto sobre alimentos funcionales presentado como una acción concertada de la Comisión Europea (CE). Conocida por sus siglas en inglés, FUFOSE, “Funcional Food Science in Europe” esta iniciativa concertada comenzó en 1995. Durante tres años, más de 100 expertos europeos en nutrición y medicina que participaron en el proyecto FUFOSE evaluaron críticamente la situación de los alimentos funcionales. Revisaron la literatura científica sobre los alimentos y los componentes alimentarios y su capacidad para modular las funciones orgánicas. Posteriormente, examinaron el concepto de alimento funcional y se elaboró por vez primera un marco global que incluyó una estrategia para la

identificación y desarrollo de los alimentos funcionales y para la fundamentación científica de sus efectos, a fin de justificar las alegaciones. En especial, recomendaron utilizar dos tipos de alegaciones: una mejora de la función y otra de disminución del riesgo de la enfermedad.

Según FUFOSE, un alimento puede considerarse funcional si se demuestra satisfactoriamente que ejerce un efecto beneficioso sobre una o más funciones selectivas del organismo, además de sus efectos nutritivos intrínsecos, de modo tal que resulte apropiado para mejorar el estado de salud y bienestar, reducir el riesgo de enfermedad, o ambas cosas. Los alimentos funcionales deben seguir siendo alimentos, y deben demostrar sus efectos en las cantidades en que normalmente se consumen en la dieta. No se trata de comprimidos ni cápsulas, sino de alimentos que forman parte de un régimen normal. (Roberfroid, 2000; Ashwell, 2005). Desde un punto de vista práctico, un alimento funcional puede ser:

- Un alimento natural en el que uno de sus componentes ha sido mejorado mediante condiciones especiales de cultivo o producción.
- Un alimento al que se ha añadido un componente para que produzca beneficios.
- En el cual se ha modificado un componente nocivo o potencialmente perjudicial para la salud.

La Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos los ha definido como Alimentos modificados o que tengan un ingrediente que demuestre una acción que incremente el bienestar del individuo o disminuya los riesgos de enfermedades, más allá de la función tradicional de los nutrientes que contiene (Sernac, 2004).

El concepto de alimento funcional está orientado a estimular la investigación en nutrición para respaldar y validar el desarrollo de nuevos alimentos y componentes alimentarios. Este concepto pertenece a la nutrición y no a la farmacología. Los progresos de la investigación biomédica también están creando nuevas oportunidades para el desarrollo de la ciencia de la nutrición (Ashwell, 2005)

La nutrición actual está enfocada en la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles, en las cuales la dieta y estilo de vida desempeñan roles etiológicos. Los consumidores están preocupándose cada vez más de su autocuidado y espera, a través de los alimentos consumidos, alcanzar o mantener su salud y bienestar (Araya & Lutz, 2003). Incluso, están dispuestos a pagar un precio más elevado por productos que le aseguren esta situación (Alvidrez-Morales *et al.*, 2002; Grashorn, 2007).

El sector de la carne debe hacer frente a este reto, adaptando su propuesta para dar una respuesta apropiada a este nuevo consumidor. Es así que las investigaciones que

actualmente se realizan en la materia de carne están tratando de modificar la matriz a través de la alimentación animal para obtener productos naturalmente diferenciados (Barreiro Nogaledo, 2005). Si bien el empleo de estrategias dietarias para la incorporación de los nutrientes en la carne presenta un mayor desafío que la simple adición de los mismos durante el proceso de industrialización, puede presentar mayores beneficios dado que los animales pueden incorporar los mismos en sitios específicos de los tejidos, como por ejemplo las membranas celulares. Además, este tipo de estrategia presenta mayor seguridad ya que por esta vía es menos probable que ocurra una sobreingesta del nutriente, evitándose de esta manera potenciales peligros a la salud del consumidor. (Bou *et al.*, 2009)

Diversos son los nutrientes o sustancias que pueden producir un efecto benéfico para la salud en el hombre, entre ellos los ácidos grasos omega-3,6 y 9. En este trabajo se abordará la incorporación de ácidos omega-3 a la carne de pollo. Se ha elegido esta matriz fundamentalmente porque es el área donde desarrollo mi actividad laboral y porque la población de Argentina tiene un consumo alto de proteína animal. La carne de pollo ocupa el segundo lugar 42 kg/hab/año y la carne de vaca el primero con 63 kg/hab/año (SAGPYA, 2012). El consumo de pescado de mar es muy bajo y no existen datos estadísticos sobre el mismo en el país.

Como en otras sociedades occidentales existe un evidente desbalance en el consumo de ácidos grasos y la n-6/n-3 (Simopoulos, 2000).

La Agencia de Inspección de Alimentos de Canadá (Canadian Food Inspection Agency, CFIA), estableció en el año 2003 que para declarar la carne como alimento enriquecido con n-3, debe contener un mínimo de 300 mg de n-3 cada 100 g. En el 2013 la Unión Europea a través de la Autoridad de Seguridad Alimentaria (European Food Safety Authority, EFSA) estableció diferentes tipos de proclamas “claims” con respecto al contenido de omega-3 de cadena larga en los alimentos. Si un alimento tiene al menos 40 mg de ácido docosopentanoico (DHA) por 100 g de alimento o por 100kcal se puedan usar proclamas como “Contribuye a mantener el normal funcionamiento del cerebro”; “contribuye al mantener una visión normal”, pero se debe aclarar que para obtener efectos benéficos se deberá consumir al menor 250 mg de DHA por día.

El efecto de los ácidos grasos omega-3 sobre la salud humana, las estrategias y dificultades de su incorporación a mayores niveles en la carne de pollo serán discutidos en detalle en los capítulos siguientes de la presente tesis doctoral.

### **I.1.2. Panorama avícola y su consumo en la Argentina**

La avicultura industrial cumplió 50 años en el año 2009 en Argentina. A comienzos de los años 60 llegan al país los padres de los pollos “híbridos” o como se los denominó en la Argentina “pollos parrilleros”; esta denominación popular tiene que ver con que recién con estos pollos se comenzó a consumirlos asados a la parrilla y luego rostizados. El consumo que era de 4 kg en 1960 pasó a 8 kg para 1970 y se situaba en 10 kg/hab./año en 1970. El pollo, un producto consumido en fiestas y ocasiones especiales, comenzaba a incorporarse a la dieta casi al ritmo de una vez por semana por familia. En 1976 comenzó el proceso de integración vertical, si se quería ser competitivo había que ganar rentabilidad en etapas y concentrar todas las etapas de producción hasta llegar al pollo terminado eviscerado, así entre 1976 y 1983 el sector quedó mayoritariamente integrado produciéndose los huevos fértiles, los pollitos BB o recién nacidos, el alimento, tercerizando el cuidado y la guarda en los criadores integrados para luego faenar y comercializar el producto. Este nuevo concepto productivo, que bajó aún más el precio al consumidor final aumentó el consumo a más de 14 kg/hab./año y llevó gradualmente a un crecimiento constante y una profundización en la búsqueda de la productividad y competitividad.

La tecnología cambiaba a nivel mundial llevada por la genética de las aves y los productos pollos y huevos se

posicionaban como las proteínas animales de más bajo precio al público. Los productores avícolas argentinos en los años '90 se vieron obligados a aumentar la escala de producción mediante la reconversión tecnológica con lo que se dio un proceso de concentración. De esta manera, con el exceso de oferta, el consumo se elevó a 26 kg/hab./año. (Domenech, 2009).

En 2014 se faenaron 727 millones de pollos con una producción de 1,93 millones de toneladas y un consumo per cápita de 40,4 kg de carne de ave. (Boletín Avícola, 2014)

En la figura I.1 puede visualizarse la evolución de la producción de la industria avícola a partir del año 2002, con un crecimiento constante en la producción y en el consumo de carne por habitante.

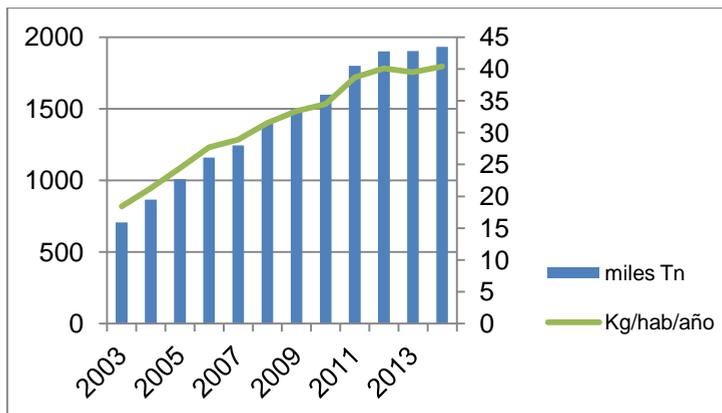


Figura I.1 Evolución de la producción avícola y el consumo de carne aviar en Argentina (SAGPYA, 2014)

### I.1.3. La Carne de pollo

La carne de pollo, al igual que otras carnes, es un alimento nutritivo que contiene gran cantidad de proteína de alto valor biológico, vitaminas y minerales. Sus proteínas son fácilmente asimilables por el ser humano y aportan todos los aminoácidos esenciales. También destaca por su contenido en vitaminas del grupo B, especialmente la B6 y B12, además de tiamina (B1), riboflavina (B2), niacina (B3) y ácido pantoténico (B5). La carne y los derivados cárnicos constituyen un excelente aporte de hierro, mucho más asimilable que el proporcionado por otros alimentos, además de fósforo y de otros minerales como el zinc, magnesio y calcio (Fernández & Marsó, 2003; Cortinas Hernández, 2004).

La tabla I.1. muestra la composición nutricional del muslo y pechuga de pollo, siendo estas las partes comestibles de mayor valor comercial.

La carne de pollo se destaca por su menor aporte energético y su bajo contenido de lípidos, el cual varía según la porción considerada (Tabla I.2.)

Tabla I.1 Composición del muslo y la pechuga de pollo sin piel (Cortinas-Hernández, 2004)

Nutriente (g)	Muslo de pollo	Pechuga de pollo
	Composición cada 100g de porción comestible	
Agua	75,81	74,76
Energía (kcal)	119	110
Proteína	19,65	23,09
Lípidos	3,91	1,24
<b>AGS</b>	1	0,33
<b>AGMI</b>	1,21	0,3
<b>AGPI</b>	0,97	0,28
Colesterol (mg)	83	58
Cenizas	0,96	1,02

Así se puede observar que la piel contiene la mayor proporción de grasa compuesta principalmente por triacilglicéridos. El contenido de lípidos de la pechuga es aproximadamente la mitad que en el muslo. Además, estos lípidos en la pechuga están constituidos en más de un 50% por fosfolípidos, mientras

que en el muslo están compuestos mayoritariamente por triacilglicéridos (Ratnayake et al., 1989; Cortinas et al., 2004; Lorenzo et al., 2011).

Tabla I.2 Contenido y clases de lípidos en pechuga, muslo y piel de pollo (Cortinas – Hernández, 2004)

Porción	Lípidos totales	Clases de lípidos (% de lípidos totales)		
	(% tej. crudo)	Triacilglicerol	Fosfolípidos	Colesterol
Pechuga	0,9-1,5	32-43	55-66	2-5
Muslo	2,2-2,3	63-83	16-33	1-5
Piel	30,3-31,5	100	0,36	--

La composición y contenido lipídicos de la carne de pollo pueden presentar variaciones debidas a la genética (Sandercock et al., 2009), edad (Perreaud & Leeson, 1992), sexo (Kubena et al., 1974), condiciones ambientales ( Lu et al., 2007) y factores nutricionales (Pinchasov & Nir, 1992; Sanz et al., 2000), entre otros. Dentro de los factores nutricionales se destacan el contenido energético y la composición lipídica de la dieta. Sobre este último tópico se hará una exhaustiva descripción más adelante.

En la tabla I.3. se muestra la composición en ácidos grasos (AG) de la fracción lipídica de la pechuga, muslo y piel

de pollos alimentados con una dieta estándar a base de maíz soja (Ratnayake et al., 1989). En estos tejidos, los AG mayoritarios fueron el oleico, seguido por el palmítico y el linolénico (LA). La pechuga presentó menos ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) que el muslo y más ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), sobre todo ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI CL  $\geq$  20 carbonos), siendo el ácido araquidónico (AA) el más abundante. En comparación con los tejidos musculares, la piel contiene niveles más elevados de oleico y palmitoleico.

El depósito lipídico en los tejidos animales puede tener dos orígenes: exógeno, es decir, procedente de la dieta y endógeno, sintetizado de novo por el animal. El tipo de depósito lipídico dependerá del balance entre la porción lipídica de origen endógeno y exógeno. Así, al administrar a las aves dietas bajas en grasa, la mayoría de los AG de los tejidos provendrán de la síntesis de novo a partir de los glúcidos, con lo que los AG mayoritarios son los AGS, principalmente el palmítico y esteárico y los AGMI, principalmente el oleico y palmitoleico (Ajuyah et al., 1991; Crespo-Alcarria & Esteve-Garcia, 2002).

La inclusión de grasa en la dieta produce una reducción de la actividad lipogénica hepática. Así, se establece un balance entre la contribución exógena y la síntesis endógena de lípidos, permaneciendo el contenido total de lípidos del

animal más o menos constante (Saadoun & Leclercq, 1986). La reducción en la lipogénesis endógena es el resultado, por un lado, de un menor contenido de almidón en la dieta como consecuencia de la inclusión de materia grasa, el cual produce un carencia de sustrato para la síntesis de AG; y por otro lado, de una inhibición directa sobre las enzimas lipogénicas por parte de los lípidos dietéticos (Mourot & Hermier, 2001). De manera que, la lipogénesis hepática aumenta cuando la energía de la dieta es aportada por la inclusión de glúcidos y la síntesis se reduce al adicionar fuentes lipídicas (Tanaka et al., 1983)

Tabla I.3 Perfil de ácidos grasos de pechuga, muslo y piel de pollos alimentados con una dieta estándar. (Ratnayake et al.,1989).

Ácido graso		Pechuga	Muslo	Piel
		% EM		
<b>AGS</b>		<b>33,5</b>	<b>32,2</b>	<b>30,7</b>
<b>16:0</b>	palmítico	23,8	22,6	24,0
<b>18:0</b>	esteárico	7,5	7,6	5,1
<b>AGMI</b>		<b>34,5</b>	<b>39,4</b>	<b>47,8</b>
<b>16:1n-7</b>	palmitoleico	4,5	6,3	7,8
<b>18:1n-9</b>	oleico	29,1	32,0	39,4
<b>20:1n-9</b>	eicosenoico	0,5	0,5	0,6
<b>22:1n-9</b>	erúcico	0,4	0,6	0,4
<b>AGPI</b>		<b>32,0</b>	<b>28,5</b>	<b>21,4</b>
n-6		27,4	25,1	19,7
<b>18:2n-6</b>	linoleico	7,8	8,3	18,2
<b>20:4n-6</b>	araquidónico	5,0	3,7	0,6
n-3		4,5	3,4	1,8
<b>18:3n-3</b>	linolénico	0,5	0,7	1,0
<b>20:5n-3</b>	eicosapentaenoico	0,7	0,6	0,4

---

<b>22:5n-3</b>	clupanodónico	0,9	0,5	0,1
<b>22:6n-3</b>	docosahexanoico	1,8	1,0	0,1

---

% EM: Porcentaje sobre ésteres metílicos.

Por otro lado, la inclusión de grasas saturadas en la dieta lleva a mayor deposición de grasa y menor deposición de proteína en el pollo en comparación a una dieta que contiene ácidos grasos insaturados (Sanz *et al.*, 2000 a, b).

La diferencia en la acumulación de grasa se debe a que las grasas insaturadas son más fácilmente oxidadas y utilizadas con fuente de energía que las grasas saturadas (Leyton *et al.*, 1987). En controversia, Crespo & Esteve-García, (2001) y Cortinas *et al.*, (2004), no encontraron efecto del grado de poliinsaturación de la dieta sobre el contenido de grasa total, aludiendo Cortinas *et al.*, 2004 que esta diferencia podrían deberse a diferencias metodológicas utilizadas en la estimación de los lípidos totales.

#### **I.1.4. Modificación del perfil lipídico de la carne de pollo a través de la dieta**

El hecho que la carne de pollo sea un producto de una elevada aceptabilidad por parte del consumidor, ha favorecido la experimentación con el objetivo de modificarlo y mejorarlo nutritivamente.

Ya en la década de los años '60 y '70 se comprobó que el perfil de AG de diferentes tejidos del pollo podía ser modificado mediante cambios de la dieta de estos animales (Marion & Woodroof, 1963; Miller & Robisch, 1969). Así, en los últimos 20 años, se han realizado numerosos trabajos encaminados a incrementar en nivel de ácidos grasos omega tres. Se han evaluado fuentes de origen vegetal ya sea suministradas como semillas o como sus aceites, dentro de ello se pueden nombrar el lino, la colza, la chia, el aceite de oliva, y fuentes de origen marino como algas y aceites de pescado (Ajuyah, *et al.*, 1991, Chanmugan *et al.*, 1992; Pinchasov & Nir 1992; Leskanich & Noble, 1997; Abril & Barclay, 1998; López-Ferrer *et al.*, 1999, 2001, Bou *et al.*, 2001; Sanz *et al.*, 2000 a Crespo & Esteve-García, 2001; Arts *et al.*, 2001; Ayerza & Coates, 2002; Cortinas *et al.*, 2004; Azcona *et al.*, 2008a, 2008b; Ponte *et al.*, 2008 a, b)

Si bien no hay duda sobre la incorporación de n-3 en la carne mediante la dieta, el grado de elongación y desaturación del ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA) ha sido discutido. Ajuyah *et al.* (1991), demostraron que la incorporación de semilla de lino o canola en la dieta producía un incremento de n-3 en la carne y que la presencia de cantidades apreciables de ácido eicosapentanoico (EPA), docosapentaenoico (DPA) y ácido docosahexanoico (DHA) indicaría la habilidad del pollo para desaturar y elongar el ALA. Años más tarde, varios trabajos

(López-Ferrer *et al.*, 2001; Cachaldora *et al.*, 2005a; DeBlas *et al.*, 2005a) demostraron que la retención de EPA y DHA dependía linealmente de la adición de AGPI n-3 en el pienso, pero también se aprecia que, en este caso, la fuente utilizada tenía una elevada influencia. La eficacia de retención se incrementó con las fuentes concentradas en DHA (algas marinas y algunos pescados), reteniéndose tal cual (en forma de DHA) en la yema de huevo o carne de pollo. Las eficacias más bajas se observaron, en cambio, con las fuentes que aportaban ALA (aceites de soja y lino) y EPA (algunos tipos de aceite de pescado). Por lo tanto, la cantidad de AG que se precisa añadir al pienso para conseguir una determinada concentración comercial de EPA + DHA en el huevo y la carne de pollo se reduce sensiblemente cuando se usan las fuentes más eficaces, es decir más concentradas en DHA. Estos resultados coinciden con lo reportado por Bourre *et al.* (1997) cuando estudiaron la deposición de EPA y DHA en diferentes tejidos y órganos en ratas alimentadas con dietas suplementadas con aceite vegetales y de pescado.

Además, Pan & Storlien (1993) y López-Bote *et al.* (1997) afirmaron que la modificación de los lípidos intramusculares estaría más limitada en cuanto al efecto de la fuente dietaría, ya que estos ácidos grasos forman parte de las membranas celulares y que las células deben mantener estas

características para asegurar la fluidez y permeabilidad de las membranas.

En cuanto al tiempo de suministro necesario para producir la modificación del perfil muchos trabajos establecen que la máxima deposición se alcanza con 21 días de alimentación con la fuente de omega-3 (Ayerza & Coates *et al.*, 2002; Azcona *et al.*, 2008b; Betty *et al.*, 2009). Por otro lado Gonzales-Esquerria (2000) trabajando con niveles de aceite inferiores al 1,5 % encontró que 7 días de alimentación con dichos aceites, antes de la faena, eran suficientes para modificar la composición grasa. El tiempo de suministro adecuado depende entonces del grado de incorporación de n-3 que se desee y del nivel de las fuentes de omega-3 que se adicionen a la dieta. En el 2013, Baeza *et al.* compararon la modificación del perfil lipídico en pollos de líneas comerciales vs el Label Rouge, usando como fuente de n-3 el lino, encontrando una mayor efectividad en la modificación en el perfil lipídico en los pollos comerciales respecto a los pollos Label Rouge.

Se ha descrito también el impacto de la dieta en aves ponedoras observándose un efecto significativo de los n-3 de la dieta sobre la composición de lípidos del huevo (Abril & Barclay 1998; Ayerza & Coates, 2000; Castillo-Badillo *et al.*, 2005; Cachaldora, *et al.*, 2005 a y b, Antruejo *et al.*, 2011).

## **I.2. Ácidos grasos n-3**

### **I.2.1. Ácidos grasos n-3 y la salud**

En este apartado se presentan algunos de los efectos y funciones de los ácidos grasos insaturados sobre la salud humana, sin pretender abordar dicha temática desde el punto de la medicina, sino de los efectos de la buena nutrición sobre el bienestar y la prevención de enfermedades.

Ya en la década de los años '50 numerosos investigadores habían estudiado los efectos de los aceites de maíz y pescado sobre la colesterolemia en pacientes con aterosclerosis (Ahrens *et al.*, 1954; 1959; Keys *et al.*, 1957 ). El aceite de maíz, rico en ácidos grasos poliinsaturados n-6 (AGPI n-6) no poseía olor, era límpido y se encontró que reducía el colesterol, particularmente cuando éste reemplazaba a la manteca o la grasa en la dieta. Por otra parte, el aceite de sardina, rico en ácidos grasos poliinsaturados n-3 (AGPI n-3), tenía efectos similares y además disminuía la concentración de triacilglicéridos en sangre (Keys *et al.*, 1957).

De este modo se atribuyen efectos similares y comunes a todos los tipos de ácidos grasos poliinsaturados. Así es como los aceites vegetales ricos en AGPI omega-6 desplazaron a otras grasas en la dieta de los norteamericanos y

eventualmente en la dieta de los europeos del oeste, por sus efectos hipocolesterolemiantes. Sin embargo, los AGPI omega-3, no fueron considerados como importantes en el control de la enfermedad cardiovascular, a pesar de la información experimental y clínica que hablaba de su importancia (Bronte-Stewart *et al.*, 1956; Worne & Smith, 1959; Nelson, 1972;) hasta que a finales de los 70' y en la década del 80' se empezó a estudiar su efecto antagónico sobre la inflamación, la trombosis y en general sobre la enfermedad cardiovascular. De este modo, esta serie de ácidos grasos volvieron a cobrar importancia (Simopoulos, 1991).

Hoy se sabe además juegan un rol importante en la prevención y manejo de afecciones coronarias (Burr *et al.*, 1989; De Logerli *et al.*, 1994; 1996); juegan un rol esencial en el desarrollo del cerebro en la niñez (Ruxton *et al.*, 2005), hipertensión (Appel *et al.*, 1953; Morris *et al.*, 1994), diabetes tipo 2 (Connor *et al.*, 1993; Raheja *et al.*, 1993), enfermedad renal, (De Caterina *et al.*, 1993; Donadio *et al.*, 1994), artritis reumatoidea (Kremer, 1996), colitis ulcerativa (Stenson *et al.*, 1992), enfermedad de Crohn (Belluzzi *et al.*, 1996) y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (Shahar *et al.*, 1994).

### **I.2.2. Elongación y desaturación de ácidos grasos n-3 y n-6**

Entre los AG insaturados se encuentran los monoinsaturados (AGMI) y los poliinsaturados (AGPI) y dentro de este último grupo se presentan las series n-3 y n-6. La distinción entre n-3 y n-6 se basa en la ubicación del primer doble enlace, contando desde el extremo metilo de la molécula de ácido graso (AG).

Los AG n-3 y n-6 son también conocidos como ácidos grasos esenciales (AGE), porque los seres humanos, como mamíferos, son incapaces de incorporar dobles enlaces en las posiciones n-3 y n-6 de los AG, dependiendo exclusivamente de su suministro en la dieta (De Blas *et al.*, 2005).

En la figura I.2 se muestra la estructura de diversos ácidos grasos de 18 átomos de carbono. En ésta, los ácidos grasos saturados (AGS) vienen representados por el ácido esteárico, los AGMI por el ácido oleico (puede ser sintetizado por todos los mamíferos, incluidos los seres humanos) y los AGPI n-6 están representados por el ácido linoleico (18:” n-6 AL) y los n-3 por el ácido linolénico (LAL).

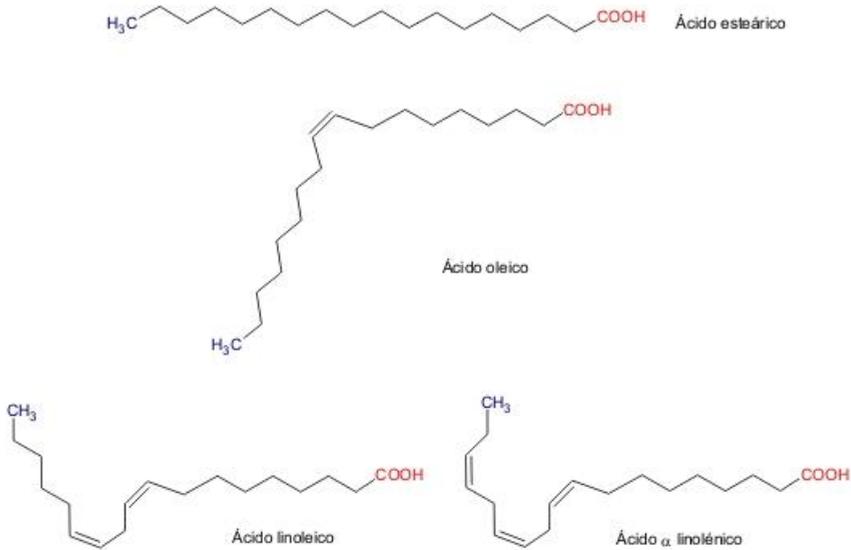


Figura I.2 Estructura de los ácidos grasos de 18 carbono (Primo-Yúfera, 2007)

El ácido linoleico (AL) abunda en la naturaleza y se puede encontrar en las semillas de la mayoría de las plantas, excepto en coco, cacao y palma. El ácido  $\alpha$ -linolénico (AAL), por su parte, se puede hallar en cloroplastos de plantas de hojas verdes. Ambos AGE son metabolizados a AG de cadena más larga de 20 y 22 átomos de carbono. El AL es metabolizado a ácido araquidónico (AA) y el ALA a ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) incrementando el largo de la cadena y el grado de insaturación por adición de dobles enlaces a la molécula, tal como se puede visualizar en la figura I.3.

Los seres humanos y la mayoría de los animales, excepto los carnívoros (leones y gatos) pueden convertir el AL a AA y el ALA a EPA y DHA (Gómez Dumm & Brenner, 1975). Esta conversión fue demostrada utilizando ALA deuterado (Emken *et al.*, 1989), encontrando que existe una competición entre los AGPI n-3 y n-6 por las enzimas desaturadas. Sin embargo, ambas desaturadas ( $\Delta 6$  y  $\Delta 5$ ) tienen preferencia por los AGPI de la serie n-3 en lugar de los de la n-6 (Innis, 1991, 2005) y su actividad se encuentra modulada por factores nutricionales (tabla I.4.) y hormonales (tabla I.5).

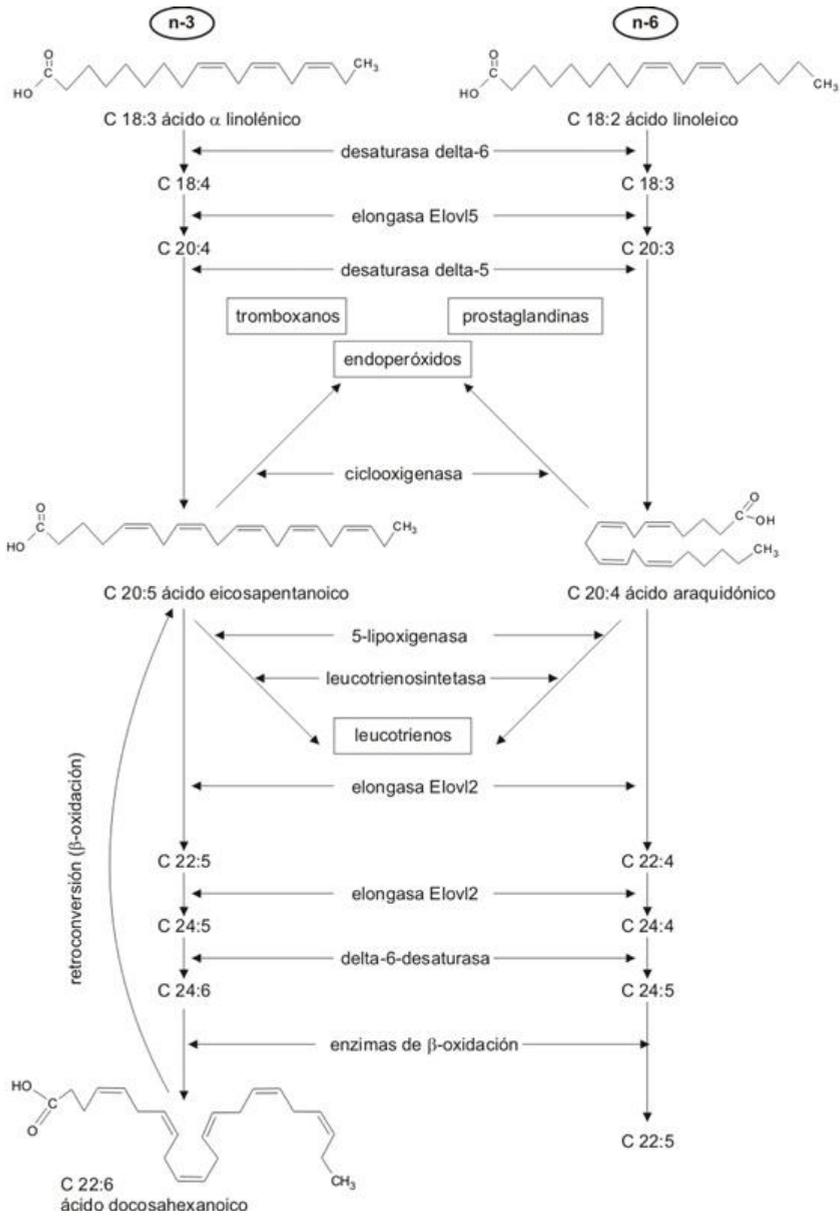


Figura I.3 Elongación de los ácidos grasos de la serie n-6 y n-3. (Komprda, 2012)

Existe evidencia que la  $\Delta 6$ -desaturasa decrece con la edad (Gómez Dumm & Brenner, 1975). Además, los niños prematuros (Carlson *et al.*, 1986), los individuos hipersensibles (Singer *et al.*, 1984) y algunos diabéticos (Honigmann *et al.*, 1982) están limitados en su habilidad de convertir ALA en EPA y DHA. Estos hallazgos son importantes y es necesario tenerlos en cuenta a la hora de realizar una recomendación dietaria. El EPA y DHA se pueden encontrar en el aceite de pescado, particularmente en aquellos grasos (Simopoulos *et al.*, 1986) El AA, por su parte, es predominante en los fosfolípidos de animales alimentados con granos.

El AL, ALA y sus derivados de cadena larga son componentes importantes en las membranas de las células animales y vegetales. En mamíferos y aves los AGPI n-3 son distribuidos selectivamente entre las diferentes clases de lípidos. El ALA se encuentra en triacilglicéridos, en ésteres de colesterol y en muy baja cantidad en fosfolípidos. El EPA se puede encontrar en ésteres de colesterol, triacilglicéridos y en fosfolípidos. En tanto que el DHA se encuentra mayormente en fosfolípidos y es uno de los componentes más abundantes en los lípidos estructurales del cerebro. Tanto el DHA como el EPA, pueden derivar directamente de la ingesta o bien por síntesis a partir del EPA o ALA (Emken *et al.*, 1989).

Tabla I.4 Factores nutricionales que afectan la desaturación en posición  $\Delta 6$  y  $\Delta 5$  en microsomas de hígado de rata (Bezard, 1994)

	Desaturasas	
	$\Delta 6$ -	$\Delta 5$ -
<b>Ácidos grasos dietarios</b>		
Deficiencia de ácidos grasos esenciales	+	+-
Ácido $\alpha$ -linolénico (n-3)	-	+
EPA y DHA	-	-
Ácido linoleico (n-6)	+	+
Ácido $\gamma$ -linolénico (n-6)	+ -	0
Ácido araquidónico	-	-
Ácido oleico	-	
Ácidos grasos <i>trans</i>	- 0	+ - 0
<b>Otros factores dietarios</b>		
Colesterol		
<i>In Vitro</i>	+	+
<i>In vivo</i>	-	-
Proteína		
Bajo consumo	-	-
Alto consumo	+	+
Glucosa, fructosa, glicerol	-	
Etanol	-	-
Deficiencia de Zn	+ 0	-
Alto consumo de NaCl	+ -	+ -
Ayuno	-	+ -

+ Estimulación; - Inhibición; 0 sin efecto.

Tabla I.5 Factores hormonales que afectan la desaturación en posición  $\Delta 6$  y  $\Delta 5$  en microsomas de hígado de rata (Bezard, 1994)

	Desaturasas	
	$\Delta 6$ -	$\Delta 5$ -
Diabetes	-	-
Diabetes + insulina	+	+
Glucagón	-	-
Epinefrina	-	-
ACTH	-	-
Glucocorticoides	-	-
Hipotiroidismo	-	-
Hipotiroidismo + tiroxina	+	+
Hipertiroidismo	-	-
Desoxicorticosterona o aldosterona	-	-
Estradiol (en hembras ovariectomizadas)	-	-

ACTH: Hormona adenocorticotropa; + Estimulación; - Inhibición.

### I.2.3. Evolución del consumo de lípidos y desbalance n-6/n-3

Estimaciones sobre la nutrición de los seres humanos desde el Paleolítico al día de hoy han demostrado que la dieta de las poblaciones cazadoras-recolectoras contenía menos AGS que la dieta actual (Eaton & Konner, 1985). A su vez, la dieta de aquel entonces contenía pequeñas cantidades de AGPI, que se repartía prácticamente en partes iguales entre las series n-6 y n-3 (relación 1/1 a 2/1) y muy poca cantidad de AG *trans*, en comparación a las dietas actuales (figura I.4) (Eaton &

Konner, 1985; Leaf & Weber, 1987; Simopoulos, 1995, 1998, 2000; Simopoulos *et al.*, 1999c).

Por millones de años existió un balance entre los AG de las series n-6 y n-3, que coincidió con la evolución del género *Homo*, ocurriendo cambios genéticos particularmente en respuesta a estas influencias dietarias (Eaton & Konner 1985, Simopoulos, 2000).

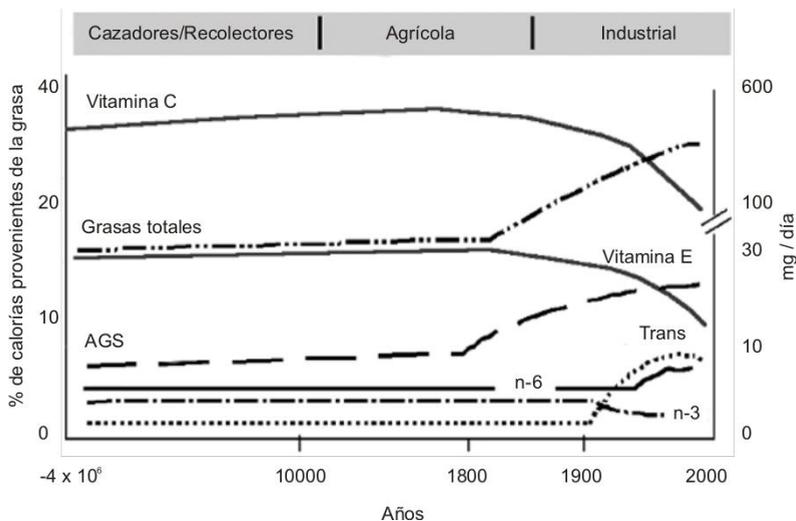


Figura I.4 Esquema hipotético del consumo de grasas y ácidos grasos y consumo de vitamina E y C. (Simopoulos, 2000)

Desde que apareció el *Homo sapiens*, hace aproximadamente unos 40000 años, su constitución genética prácticamente no ha cambiado. Diez mil años atrás, la agricultura comenzó a traer lentamente cambios en el consumo

de alimentos y desde la revolución industrial, estos han ocurrido de manera más abrupta. Los mismos se vieron reflejados en un incremento en el consumo de grasa animal proveniente de ganado alimentado con granos (ricos en AGPI n-6) que, asociado a un descenso del consumo de pescado, acarrió a un desbalance de la relación n-6/n-3. La relación que era de 1/1, en la actualidad se estima cercana a 20-25/1 (Simopoulos, 1998).

Al aumentar la relación n-6/n-3 en la dieta, (figura I.5.) la tasa de muerte por enfermedad cardiovascular aumentó (Weber, 1989), así como también se incrementó la prevalencia de diabetes tipo 2 (Raheja *et al.*, 1993).

Por otra parte, el aumento en la ingesta de AGPI n-6 llevó a un incremento de eicosanoides derivados del AA, específicamente prostaglandinas (PG), tromboxanos (TX), leucotrienos (LT), hidroxiácidos y lipoxinas que se vio reflejado en un incremento de la viscosidad de la sangre, vasoespasmos y vasoconstricción (Simopoulos, 2000), disminución del tiempo de sangrado (Renaud, 1990) y estimulación del sistema inmune (Endres *et al.*, 1989). Además, esta serie de AG favorece la oxidación del colesterol LDL (Abbey *et al.*, 1993; Reaven *et al.*, 1991) provocando la formación de placas ateromatosas.

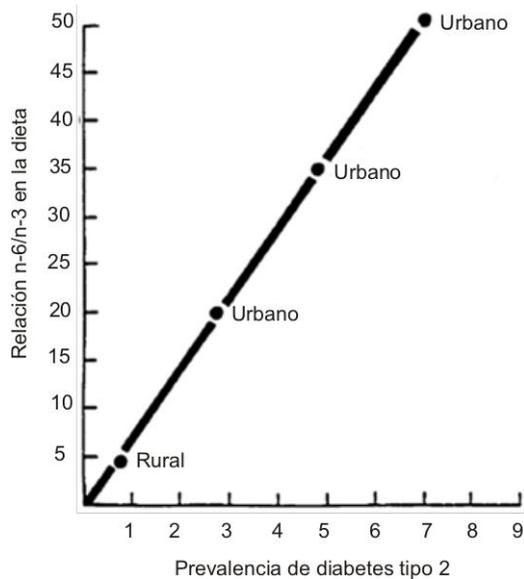


Figura I.5 Relación n-6/n.3 en los lípidos distarios y prevalencia de diabetes tipo 2 (Raheja, 1993)

#### I.2.4. Efectos biológicos y funcionales de los AGPI

El AL, ALA y sus derivados de cadena larga son componentes importantes de membranas celulares tanto vegetales como animales.

Cuando los seres humanos ingieren AGPI n-3, estos reemplazan parcialmente los AG de la serie n-6 en las membranas de prácticamente todas las células, sobre todo en plaquetas, eritrocitos, neutrófilos, monocitos y hepatocitos (Simopoulos, 1991). Como resultado, los AGPI n-3 regulan el

metabolismo de las prostaglandinas y disminuyen los triacilglicéridos, y en dosis altas, tienen efectos antitrombóticos y antiinflamatorios (Leaf & Weber, 1988; Burr *et al.*, 1989; Leaf, 1990; Weber y Leaf, 1991; Simopoulos, 2000).

Los efectos hipolipemiantes, antitrombóticos y antiinflamatorios de los AGPI n-3 han sido estudiados extensamente con modelos animales, cultivos de tejidos y en células (Weber & Leaf, 1991). Los primeros estudios se enfocaron a los mecanismos que involucran eicosanoides. Aunque recientemente, las investigaciones se están centrando en los efectos de los AG sobre la expresión génica. Así, a través de estudios moleculares, se ha encontrado que los AG alteran rápida y directamente la transcripción de genes específicos (Clarke & Jump, 1994). A su vez, los AGPI n-3 pueden actuar como segundos mensajeros, sustituyendo las rutas clásicas del AMP cíclico o inositol trifosfato o bien modularlas amplificando, atenuando o desviando la señal (Graber *et al.*, 1994).

Tal como mencionáramos anteriormente, tanto el ALA como el LA son considerados nutricionalmente como AGE. Sin embargo, todos los síntomas clásicos de la deficiencia de AG (dermatitis, retraso en el crecimiento e infertilidad) pueden ser revertidos sólo con AG de la serie n-6.

Según Lauritzen *et al.* (2001) estos síntomas están relacionados con las funciones biológicas de los AG de la serie n-6:

- el LA es un componente estructural en ceramidas que conforma en la piel una barrera al agua;
- el AA es un precursor de eicosanoides, los cuales son hormonas de acción local que participan en un sinnúmero de condiciones tanto fisiológicas como patológicas (ej. iniciación del parto, agregación plaquetaria, regulación renal de electrolitos, implantación del blastocisto y activación de células inmunes); y los AGPI n-6 posiblemente jueguen también un rol como segundos mensajeros en los procesos de transducción de señales a través de las membranas celulares.

Por otra parte, la deficiencia de LA se puede desarrollar como una condición secundaria a otros desórdenes tales como malnutrición energética o proteica y mala absorción de grasas o bien como consecuencia de nutrición parenteral con cantidades inadecuadas de LA.

En un primer momento se creyó que los AGPI n-6 podían sustituir, en parte, a los de la serie n-3, y disminuir los síntomas

de su deficiencia (ej. retardo en el crecimiento), pero actualmente se considera que estos tienen roles distintos.111

Los efectos biológicos de los AGPI n-3 dietarios en el organismo, según Lauritzen et al. (2001) son:

- proveer de energía y átomos de carbono;
- servir de precursor para “eicosanoides n-3”, sobre todo el EPA, con menor potencia que aquellos provenientes de los AGPI n-6;
- formar parte de la membrana fosfolipídica principalmente de células cerebrales y de la retina.

Deficiencias de AGPI n-3 conducen a la pérdida de DHA en los fosfolípidos de cerebro y segmentos externos de la retina con un reemplazo compensatorio realizado con 22:5n-6. Este cambio menor en la estructura de los fosfolípidos de membrana es suficiente para llevar a la pérdida de memoria, problemas en el aprendizaje y deterioro de la agudeza visual (Neuringer *et al*, 1994; Lauritzen *et al.*, 2001).

### **I.2.5. AGPI en las enfermedades crónicas**

Las enfermedades crónicas son enfermedades de larga duración y de progresión generalmente lenta. Las enfermedades crónicas, como las cardiopatías, los accidentes

cerebrovasculares, el cáncer, las enfermedades respiratorias crónicas y la diabetes, son la causa principal de la mortalidad en el mundo (OMS, 2013)

### ***1.2.5.1. Enfermedad cardiovascular***

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en todo el mundo. Cada año mueren más personas por enfermedad cardiovascular que por cualquier otra causa. Se calcula que en 2008 murieron por esta causa 17,5 millones de personas, lo cual representa un 30% de todas las muertes registradas en el mundo; 7,6 millones de esas muertes se debieron a cardiopatía coronaria, y 5,7 millones a accidentes cerebro-vasculares. Las muertes por enfermedad cardiovascular afectan por igual a ambos sexos, y más del 80% se producen en países de ingresos bajos y medios (OMS, 2010).

Estudios epidemiológicos y de intervención indican que los AGPI n-3 reducen la mortalidad debida a la enfermedad cardiovascular. Estos actúan a bajas dosis y el consumo de pescado 1 o 2 veces por semana es suficiente para proveer protección cuando se compara con la ausencia de consumo (Kris-Etherton *et al.*, 2001).

Tres mecanismos principales parecen estar involucrados en el efecto protector cardiovascular de los ácidos grasos: su acción antiarrítmica, su efecto antiinflamatorio y su efecto antitrombótico (López Farré & Macaya, 2006).

Elevadas dosis los AGPI n-3 tienen numerosos efectos benéficos (Kris-Etherton *et al.*, 2001), entre los que se pueden citar:

- actúan favorablemente sobre las características de la sangre, reduciendo la agregación plaquetaria y la viscosidad sanguínea,
- bajan los triacilglicéridos en sangre,
- exhiben efectos antitrómbicos y fibrinolíticos,
- reducen el daño celular producido por el efecto isquemia/reperfusión.

### ***1.2.5.2 Diabetes***

La diabetes tipo 2 es un desorden multigénico y multifactorial, caracterizado por hiperglucemia resistente a la insulina, hipertrigliceridemia y el desarrollo de complicaciones vasculares. Hombres y mujeres con diabetes de tipo 2 tienen 3 y 5 veces más mortalidad cardiovascular, respectivamente, que la población no diabética. (Shaw *et al.*, 1999).

En 1993, Bortman *et al.*, mostraron que la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina están inversamente asociadas a la cantidad de AG de 20 y 22 átomos de carbono en los fosfolípidos de membrana de las células musculares en pacientes con enfermedad cardiovascular y en voluntarios saludables.

La disminución de estos AG se puede deber a:

- bajo consumo de AG de 20 y 22 átomos de carbono,
- alto consumo de AG trans, quienes interfieren con la desaturación y elongación de AL y ALA, bajando las concentraciones de AA, EPA y DHA,
- defectos genéticos de las  $\Delta 6$ - y  $\Delta 5$ -desaturasas,
- defectos genéticos que interfieren con el transporte o fijación de AG de 20 y 22 átomos de carbono, como en la proteína fijadora de AG intestinal,
- alta ingesta de AL, lo que interfiere con la desaturación y elongación del ALA a EPA y DHA, o
- incremento del catabolismo de AA, que reduce el número de AG de 20 y 22 átomos de carbono.

El incremento de AGPI de 20 y 22 átomo de carbono (ej. AA, EPA, DHA), incrementa la fluidez de membrana, el número de receptores de insulina y la acción de esta última (Simopoulos, 1994 b; Yam *et al.*, 1996; Baur *et al.*, 1999).

Respecto de la diabetes tipo 1, se conoce que la concentración sérica de leptina (una hormona expresada y secretada en proporción a la masa adiposa) en pacientes con esta patología es influenciada por el tipo de grasas en la dieta

(Rojo-Martínez *et al.*, 2000). En particular se ha encontrado que los AGPI n-3 disminuyen la expresión del gen de leptina tanto *in vivo* como *in vitro*. Los efectos directos de los AGPI sobre la actividad promotora de la leptina indican una acción específica reguladora de los AG sobre la expresión de esta hormona (Reseland *et al.*, 2001).

### **1.2.5.3. Efectos antiinflamatorios**

Los efectos benéficos de los AGPI n-3 se deben, en parte, a su acción sobre el sistema inmune. El metabolismo del AA y del AL (serie n-6) y el del EPA y ALA (serie n-3) conducen a la generación de eicosanoides como las prostaglandinas (PG), tromboxanos (TX) y leucotrienos (LT). (López-Farre & Macaya, 2006)

Los eicosanoides derivados del AA y el EPA poseen una estructura molecular muy parecida pero marcadas diferencias en sus efectos biológicos. Por ejemplo, los eicosanoides derivados del EPA son, en general, débiles inductores de la inflamación, mientras que los que derivan del AA son más potentes. Consecuentemente, la predominancia de AGPI n-6 resultará en un estado proinflamatorio con producción de PGs de la serie 2 y LTs de la serie 4 (Simopoulos, 2002; Coronado Herrera *et al.*, 2006). Al aumentar la cantidad relativa de AGPI n-3, se producen más PGs de la serie 3 y LTs de la serie 5. Estos últimos eicosanoides son considerados menos inflamatorios (Shapiro, *et al.*, 1993) lo que explicaría el

mecanismo por el cual el aceite de pescado actuaría como antiinflamatorio (Meydani *et al.*, 1993).

Un papel importante de los AGPI n-3, EPA y DHA, es que sirven como precursores de potentes antiinflamatorios denominados resolvinas y protectinas. Las primeras ejercen sus acciones anti-inflamatorias mediante la resolución de la inflamación, de ahí su nombre (Serhan *et al.*, 2004; Coronado Herrera *et al.*, 2006).

#### **1.2.5.4. Artritis**

El metabolismo lipídico excesivo y el estrés oxidativo pueden contribuir a la artritis reumatoidea. Las citoquinas inflamatorias son conocidas por inhibir la proliferación de los condrocitos e inducir la degradación del cartílago. Parte de esta respuesta es mediada por PGE<sub>2</sub>. La suplementación de la dieta con AGPI n-3 puede modular la expresión y actividad de factores inflamatorios y destructivos que causan el deterioro del cartílago durante la artritis (Cleland *et al.*, 2003). La incorporación de AGPI n-3 en la membrana de los condrocitos del cartílago articular induce en el tejido una respuesta dosis-dependiente (Curtis *et al.*, 2000) con:

- reducción en la expresión y actividad de enzimas que degradan proteoglicanos (agrecanasas),

- reducción en la expresión de citoquinas inducidas por la inflamación (IL-1 $\alpha$  y TNF- $\alpha$ ) y COX-2, pero no la constitutiva (COX-1).

Estos hallazgos proveen evidencia de que la suplementación con AGPI n-3 puede afectar específicamente los mecanismos regulatorios envueltos en la transcripción de genes. Este mecanismo se suma a los efectos fisiológicos ya conocidos que la suplementación con este tipo de AG provoca sobre el alivio de algunos síntomas de la enfermedad (Geusen *et al.*, 1994).

#### ***1.2.5.5. Psoriasis***

La alteración en el metabolismo del AA juega un rol importante en la patogénesis de los desórdenes a nivel cutáneo. Se han hallado niveles anormalmente altos de AA y sus productos generados por la lipooxigenasa (LTB<sub>4</sub> y 12-HETE) en lesiones (placas) de pacientes con psoriasis. La administración intravenosa de AGPI n-3 causa reducción de dichas lesiones, las cuales se pueden relacionar con cambios en la generación de eicosanoides (Mayser *et al.*, 2002).

### ***1.2.5.6. Colitis ulcerativa***

El LTB<sub>4</sub> y la PGE<sub>2</sub>, ambos productos del metabolismo del AA, se incrementan en pacientes con colitis ulcerativa. En esta patología, el LTB<sub>4</sub> es un mediador importante de la inflamación y tiene la habilidad de reclutar neutrófilos adicionales desde la sangre a la mucosa, exacerbando el proceso inflamatorio.

El tratamiento de aquellos pacientes, que padecen esta enfermedad, con la suplementación de AGPI n-3 por un periodo de 4 meses, produjo una reducción en los niveles de LTB<sub>4</sub> en el recto, Además aumentaron de peso y se pudo reducir la dosis de prednisona (Stenson *et al.*, 1992).

### ***1.2.5.7. Depresión***

Las depresiones que se presentan durante el embarazo y después del parto, estarían asociadas a la falta de AGPI n-3. Así, durante el embarazo las reservas de este tipo de ácidos grasos pasan al feto, contribuyendo a la formación del cerebro y otras estructuras nerviosas. Esto podría provocar la depleción de las mismas durante la gestación y puerperio. La suplementación con AGPI n-3 ha demostrado ser eficaz para tratar la depresión, tanto en mujeres embarazadas como en otro tipo de pacientes. De este modo se puede aconsejar el consumo de estos AG durante el embarazo, con el fin de asegurar el correcto desarrollo del sistema nervioso del feto y

prevenir la depresión durante el embarazo y la lactancia (Bruinsma & Taren, 2000; Tapia, 2004).

Por otro lado, se ha observado que pacientes afectados por episodios de depresión, poseen bajos niveles de AGPI n-3 en los fosfolípidos plasmáticos, en los ésteres de colesterol, en las membranas de los eritrocitos y del tejido adiposo. Estos bajo niveles de omega-3 estarían asociados con el bajo consumo de alimentos que aportan estos AG (Frasure-Smith *et al.*, 2004; Peet *et al.*, 2004). A su vez, diversos autores (Puri *et al.*, 2001; Nemets *et al.*, 2002) han demostrado que las intervenciones en pacientes depresivos, mediante la suplementación con AGPI n-3, por cortos períodos, lograron mejoras significativas de los síntomas depresivos.

#### ***1.2.5.8. Cáncer***

Hasta el momento, el rol de los AG individuales en la prevención del riesgo de cáncer humano ha sido poco estudiado. Recientemente se ha divulgado, información epidemiológica y experimental que asocia altos consumos de AGPI n-6 y bajos de n-3, al incremento del riesgo de contraer cáncer de mamas, colon, y posiblemente de próstata (Calvani & Benatti , 2003).

Los AGPI n-6 estimulan la tumorigénesis y metástasis en animales experimentales, mientras que los AGPI n-3 pueden

inhibir el crecimiento de células cancerosas ya iniciadas, Fay *et al.* (1997).

También se ha probado el efecto del consumo de dietas ricas en grasas durante la gestación y se llegó a la conclusión que estas incrementaban la incidencia de carcinoma mamario en ratas. Además, en la misma prueba se ha demostrado que el consumo de grandes cantidades de AGPI n-6 durante la gestación incrementa el riesgo de desarrollo de carcinoma mamario, posiblemente por un incremento en la concentración de estrógeno circulante (Hilakivi-Clarke *et al.*, 1996,1997).

En un estudio poblacional, se encontró una relación inversa entre el alto consumo de AGPI n-3 y el desarrollo de cáncer colon rectal. (Caygill *et al.*, 1995,1997; Gaard *et al.*, 1996; Schloss *et al.*, 1997).

Por otro lado, se observó que una dieta rica en grasa estaba asociada con la aparición de cáncer de próstata agresivo y metastático. Por su parte los AGPI n-3 podrían retardar la progresión de este tipo de tumores (Rose, 1997).

En base a los hábitos dietarios de mujeres de edad media se cree que el riesgo de contraer cáncer de mama pueda ser “impreso” tempranamente en la vida uterina por un alto consumo de AGPI n-6 y estimulación estrogénica, resultando en un temprano ingreso a la pubertad y posteriormente en un mayor riesgo de contraer cáncer de

mama, como ha sido demostrado en roedores (Hilakivi-Clarke *et al.*, 1997).

Las grasas dietarias, más específicamente los AGPI n-6 y n-3, afectan una variedad de pasos en el proceso de carcinogénesis. Los efectos pueden ser directos o indirectos e incluyen:

- peroxidación de dobles ligaduras en AGPI, conducen a estrés oxidativo persistente y generación de productos de la PL (malondialdehído, 4-hidroxi-alquenos), los cuales pueden inducir daño en el ADN,
- conversión de AGE a eicosanoides, primariamente derivados del AL,
- interacción de AG con la transducción de señales alterando la expresión génica,
- efectos sobre enzimas unidas a la membrana como la citocromo P450 que regula el metabolismo de xenobióticos y estrógeno,
- cambios estructurales y funcionales en las membranas celulares que resultan en alteraciones en receptores hormonales y de factores de crecimiento.

Es necesario destacar que el efecto de los ácidos grasos sobre la depresión y cáncer es aún muy controvertido.

### **I.2.6. Conversión de Ácido $\alpha$ -linolénico dietario en EPA y DHA**

Una vez ingeridos, el ácido linoleico y el alfa linolénico son elongados a (AGPI) de cadena larga (Lopez Farré & Macaya, 2006). Los seres humanos de todas las edades, incluyendo bebés prematuros y fetos muy pequeños, convierten el ALA en DHA y EPA mediante el mecanismo de elongación descrito anteriormente (apartado 1.2.2.) (Billeaud *et al.*, 1997; Gerster, 1998; Brenna, 2002).

En cuanto a la eficiencia de conversión del ácido  $\alpha$ -linolénico en EPA y DHA se concluye que está afectada por el balance de los diferentes ácidos grasos que componen la dieta. Gerster (1998), después de una revisión sobre dicha temática, acabada concluyendo que la conversión de ALA en EPA y DHA es compleja y está afectada por numerosos factores, citando como el más importante la relación de n-6/n3, estimando, aproximadamente, una eficiencia del 6 y 3,8% para EPA y DHA.

Por otro lado, se ha observado que el consumo de EPA y DHA aumenta la concentración de los mismos en las diversas fracciones lipoproteínas (Egert *et al.*, 2009). También Simopoulos (1999b) concluye que el ALA no es equivalente, en sus efectos biológicos, a los ácidos grasos de cadena larga de origen marino (EPA y DHA). Este afirma que el EPA y el DHA son incorporados más rápidamente en el plasma y las

membranas lipídicas que el ALA. Graham y Clader (2006) en su revisión bibliográfica en base una serie de estudios en humanos, indican la existencia de una relación lineal entre el consumo de ALA y la concentración de EPA en los fosfolípidos del plasma, no observando la misma respuesta para DHA. Como existe una correlación lineal entre consumo de ALA y EPA, concluyen que se puede estimar con bastante precisión el porcentaje de conversión de ALA en EPA. Estos afirman que 1 g de ALA provee 0,05 g de EPA, en otras palabras el 5% del ALA es convertido en EPA. Aquí se visualiza como el rol del ALA en la nutrición humana comienza a ser importante en términos de consumo dietario.

Por otro lado, Williard *et al.* (2001) encontraron que a medida que las cantidades de DHA dietario crecían, la síntesis de éste se reducía, pero no se suprimía, incluso cuando el nivel de DHA dietario aumentaba a concentraciones muy elevadas. Esto sugiere que la síntesis de DHA a partir del ALA es un proceso constitutivo que se requiere para cumplir una función esencial en el cerebro. Pawlosky *et al.* (2003) concluyen que altos consumos de DHA inhiben la síntesis del mismo a partir del EPA por un mecanismo de retroalimentación negativa.

Si bien, los aceites vegetales no tienen ácidos grasos de cadena larga presentan la ventaja de tener alto contenido de vitamina E (Simopoulos, 1999a) y no producen problemas de alergia (Ayerza & Coates, 2006). En virtud de estas ventajas, y

aparición de estudios recientes sobre poblaciones vegetarianas que demuestran la falta de síntomas de deficiencia, (Kwok *et al.*, 2000) en estos ácidos grasos se está cambiando el concepto sobre las fuentes de AGPI n-3. Simopoulos (2000), recomienda una relación de n-6/n-3 de alrededor de 4 o menos para una óptima elongación del ALA a EPA.

### **I.2.7. Ingesta adecuada de AGPI n-3**

Se habla de ingesta adecuada (IA) y no de “recomendaciones diarias” cuando no existe suficiente evidencia científica para calcular un requerimiento diario promedio, por lo tanto se sugiere una IA como referencia. La IA es un valor basado en niveles de ingesta obtenidos experimentalmente o aproximaciones de medias observadas en las ingestas de un grupo o grupos de personas saludables. Se espera que la IA para niños y adultos alcance o exceda la cantidad necesaria para mantener un estado nutricional saludable. (ISSFAL 2007 y Simopoulos, 2006, 2009). En la tabla I.6. se puede observar las diferentes recomendaciones realizadas por distintos organismo que trabajan en salud humana.

Tabla I.6. Recomendaciones sobre el consumo de n-3 y relación n-6/n-3 para la ingesta de individuos adultos (Simopoulos et al, 1999, ISSFAL, 2007)

Fuente	Fecha	Relación n6/n3	Recomendaciones
Scientific Comittee of Canadá	1990	5:1 - 6:1	n-3 al menos 0,5 de la energía consumida
FAO/WHO comité expertos de grasas y aceites en nutrición humana	1994	5:1 - 10:1	
Comité UK sobre aspectos medicos de	1994	ninguna	200 mg de EPA+DHA
Simopoulos,	1999a	Menor 4	220 EPA+220 DHA
Conferencia Eurodietas de la Universidad de Grecia	2000	Ninguna	200 mg de EPA+DHA
AFFSA; CNERNA Y CNRS , Francia	2001	5:1	500mg EPA+DHA/día DHA min de 120 mg
Consejo de salud de los Países Bajos	2001	ninguna	200 mg de n-3 de cadena larga
Academia y Nacional de ciencia y Instituto de medicina US	2002	ninguna	130-260mg EPA+DHA
ISSFAL	2004	ninguna	500 mg n-3 de cadena larga
Gobierno de Australia y Nueva Zelanda	2005	ninguna	610 mg/día de n-3 de cadena larga para el hombre y 410 mg/día para la mujer
Consejo de Salud de los Países Bajos	2006	ninguna	450 mg de n-3 de cadena larga
Consejo Superior de salud de Bélgica	2006	ninguna	Min 0,3 de de EPA y DHA con repesco a la energía consumida
ANSES (Francia)	2010	ninguna	250 mg de DHA/día
EFSA (UE)	2012	ninguna	250 -500 mg de DHA/día

### **I.2.8. Fuentes de AGPI n-3**

Las fuentes de AGPI n-3 predominantes en la mayoría de las dietas son los aceites vegetales y el pescado a excepción de las dietas del Mediterráneo y su alto contenido de aceite de oliva y las de los esquimales de Alaska y Canadá, cuyas fuentes principales son el pescado y la grasa de mamíferos marinos. Los pescados de mar son la mayor fuente de EPA y DHA, mientras que los aceites vegetales lo son del ALA. Otras fuentes de AGPI n-3 que contribuyen colectivamente en la dieta son algunas nueces y semillas, vegetales de hoja verde, huevos, y carne de pollo, cerdo y bovina (figura I.6.).

Como se puede observar en la figura I.6 la chía es la semilla que posee el mayores porcentajes combinado de AGPI (ALA y LA) de todas las fuentes analizadas. Le siguen el lino, la colza canola y el girasol con 73, 73 y 72%, respectivamente. La diferencia entre la chía, la canola y el girasol es aún más significativa si se considera que estos dos últimos contienen cantidades mínimas de ALA. El aceite de oliva, presenta un gran contenido de ácido oleico (monoinsaturado) y menor contenido de AGPI (10%) comparado con el de la chía que tiene 78% de AGPI.

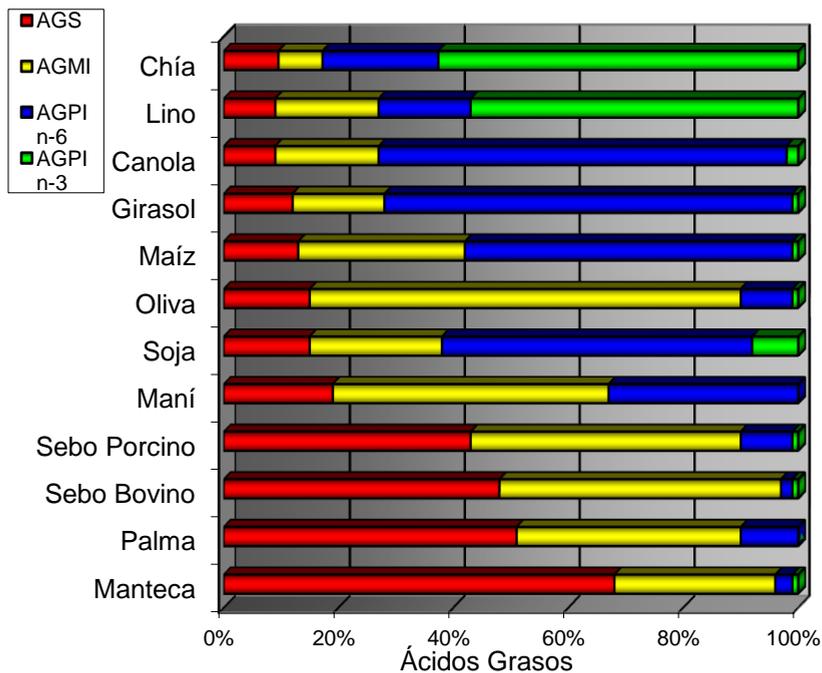


Figura I.6 Perfil de ácidos grasos de diferentes alimentos (Craig & Sons, 2004, Morris, 2007)

### I.3. Oxidación

Los principales efectos tecnológicos adversos asociados con la modificación de la composición cuantitativa en ácidos grasos de los lípidos de la carne son los originados en la modificación de su calidad organoléptica, como aroma y sabor anómalo, deficiente consistencia de la grasa (firme y friable o blanda), peor jugosidad, baja aceptabilidad. Los procesos de oxidación de los AGPI son la principal causa de la

modificación de las características organolépticas (Cherian, *et al.*,1996). El conocimiento de los factores que causan la peroxidación en los tejidos y de los mecanismos antioxidantes en el músculo permitirá estabilizar las características de la grasa y mejorar la calidad de la carne (Cobos *et al.*, 1994).

En los apartados siguientes se describirá el proceso de oxidación y los antioxidantes escogidos para evitar el mismo.

### **I.3.1. Proceso de oxidación**

La incursión en alimentos enriquecidos con ácidos grasos altamente insaturados nos conduce necesariamente a describir el proceso de oxidación y sus efectos sobre los alimentos.

Una de las paradojas de la vida en este planeta es que una molécula que sustenta la vida aeróbica, el oxígeno, esencial para el metabolismo energético y la respiración, pueda constituir el punto de partida para un daño de tipo celular conocido como estrés oxidativo. El mismo ocurre como consecuencia de un desequilibrio entre la producción de especies reactivas y los mecanismos de defensa antioxidantes. Este estrés es la base de una serie de daños oxidativos a nivel de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Todos los organismos aeróbicos están expuestos a cito toxicidad producida por especies reactivas del oxígeno (Montero, 1999).

De manera habitual, el oxígeno se encuentra en su forma estable,  $O_2$ ; sin embargo por reacciones puramente químicas, por acciones enzimáticas o por efecto de las radiaciones ionizantes, se pueden producir una serie de especies químicas o sustancias prooxidantes. Mayormente la toxicidad del oxígeno se atribuye a los radicales libres que se forman a partir de él, entendiéndose por radicales libres a las sustancias que poseen uno o más electrones desapareados. (Halliwell, 1994; Venero Gutiérrez, 2002)

Los radicales libres se producen continuamente a velocidades altas como subproductos del metabolismo aeróbico, pero también existen factores externos que forman radicales libres como la luz ultravioleta, la radiación ionizante, y sustancias químicas como pueden ser el humo de cigarrillo, el aire contaminado, y los gases radiactivos naturales. (López Díaz-Guerrero, *et al.*, 2005).

Además de los radicales libres, también hay otras especies no radicales que inciden en la oxidación lipídica como por ejemplo el peróxido de hidrógeno. De aquí surge el término: especies reactivas del oxígeno, (ERO), que tiene en cuenta tanto las especies radicales como las no radicales. Son más activas que el oxígeno en su estado basal de triplete y se originan como consecuencia de la reducción parcial del oxígeno. De todas las especies reducidas del oxígeno, sin duda la más dañina es el radical hidroxilo formado por las

radiaciones ionizantes sobre la molécula de agua (Halliwell,1994).



Las especies reactivas ejercen una importante función en diversos procesos esenciales para la vida como la destrucción de microorganismos por fagocitosis, la síntesis de mediadores inflamatorios o la detoxificación de muchos xenobióticos. En concentraciones bajas son benéficos e incluso indispensables, pero en cantidades excesivas son tóxicas por el daño que provocan en las moléculas. Se generan tanto a nivel intracelular como extracelular y son capaces de difundir por el citosol y a través de las membranas y deteriorar los distintos componentes celulares. Los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos constituyen su principal blanco de acción (Chihuailaf, *et al.*; 2002). Las principales especies reactivas se pueden visualizar en la tabla I.7.

Tabla I.7 Principales especies reactivas al oxígeno (Gutiérrez-Salinas, 2006)

Radicales	No radicales
Anión superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ )	Oxígeno singulete (forma 1D)
Hidroxilo ( $\bullet\text{OH}$ )	Peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )
Peroxilo ( $\text{ROO}\bullet$ )	Ozono ( $\text{O}_3$ )
Alcoxilo ( $\text{RO}\bullet$ )	Anión peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ )
Hidroperoxilo ( $\text{HO}_2\bullet$ )	Ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ )

Su alta toxicidad se debe a que posee una vida muy corta (10<sup>-9</sup> seg) y una alta reactividad, que le permite interactuar con todo tipo de sustratos. (Montero, 1999).

Estas sustancias se generan endógenamente durante los procesos fisiológicos naturales, como en la respiración mitocondrial en donde el 95% de O<sub>2</sub> es reducido a agua, pero un pequeño porcentaje (<5%) es convertido en estas especies semireducidas a través de una serie de transferencias monoeléctronica o debido a la actividad de ciertas enzimas. Su producción aumenta debido a la acción de pro-oxidantes exógenos provenientes de la contaminación ambiental como los agroquímicos, los desechos industriales o de las drogas terapéuticas, entre otros factores, así como también compuestos presentes naturalmente en alimentos como ciertas trazas de metales (Montero, 1996, Boveris, 2005).

En los alimentos la oxidación provoca una reducción del valor nutritivo debido a la destrucción de los AGPI, vitaminas liposolubles y aminoácidos, y altera las características organolépticas dando lugar a la aparición de sabores y olores desagradables que reducen la aceptabilidad del alimento por el consumidor (Frankel, 1991; Robey & Shermer, 1994)

### I.3.2. Peroxidación lipídica

La peroxidación lipídica es responsable del deterioro oxidativo de los lípidos poliinsaturados, produciendo alteraciones en el sabor, olor, color y textura (Gutteridge, 1995)

#### I.3.2.1. Peroxidación no enzimática - reacción en cadena de los radicales libres

La oxidación por radicales libres de los ácidos grasos poliinsaturados tal como se muestra en el siguiente esquema, es una reacción en cadena de radicales en la que se distinguen las fases de propagación, multiplicación y terminación. (Belitz & Grosch 1997)

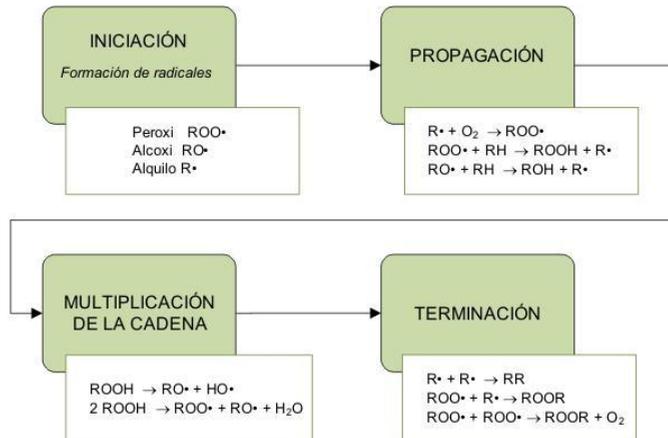


Figura I.7 Descripción del proceso de oxidación (Nawar, 1993)

### ***1.3.2. Peroxidación enzimática***

Las enzimas ciclo-oxigenasa y lipo-oxigenasa catalizan la peroxidación controlada de ácidos grasos para dar hidroperóxidos y endoperóxidos que son estereoespecíficos y tienen importantes funciones biológicas. No obstante, los procesos oxidativos que se producen en los alimentos y afectan sus características nutricionales y organolépticas son principalmente, los derivados de la vía no enzimática (Cortinas-Hernández, 2004)

### **1.3.3. Sistemas antioxidantes**

La amenaza continúa del daño que causan los radicales libres a la célula, los tejidos y en general a los organismos mamíferos, es contrarrestada por la existencia de sistemas de defensa celular. Esencialmente, la defensas antioxidantes se dividen en dos grandes grupos: los enzimáticos (antioxidantes secundarios) y los no enzimáticos (antioxidantes primarios). Dentro del primer grupo se pueden citar: la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutathion peroxidasa (GPX) y para el segundo grupo se pueden citar algunas vitaminas y ciertos minerales. Ejemplos de antioxidantes primarios son: la vitamina E en las formas de tocoferoles y tocotrienoles, en especial el alfa-tocoferol, la vitamina C (ácido ascórbico), los carotenoides, de los cuales el beta-caroteno y la

luteína son los más abundantes en aves. Otros atrapadores de radicales libres son la albúmina, los flavonoides, y las proteínas secuestrantes que unen iones metálicos de tal forma de que sean incapaces de acelerar las reacciones con las especies reactivas del oxígeno.

Las enzimas antioxidantes requieren metales como cobre ( $\text{Cu}^{+2}$ ), hierro ( $\text{Fe}^{+2}$ ), manganeso ( $\text{Mg}^{+2}$ ), zinc ( $\text{Zn}^{+2}$ ) o selenio ( $\text{Se}^{+2}$ ) como cofactores para su acción, por esta razón se los denomina metales antioxidantes. (Belitz & Grosch, 1997). Las sustancias antioxidantes se modifican al reaccionar con los radicales libres y deben reemplazarse o reciclarse porque se consumen. (Montero, 1996).

Ante la presencia de radicales libres (figura I.9) como el anión superóxido, peróxido, las superóxido dismutasas ( $\text{Cu-Zn}^{+2}$  SOD y  $\text{Mn}^{+2}$  SOD) actúan eliminando el anión radical transformándolo en peróxido de hidrógeno, por otro lado la glutatión peroxidasa y la glutatión S-transferasa (se las indica en conjunto ya que la transferasa recicla a la GPX) actúan sobre el peróxido de hidrógeno en conjunto con la catalasa evitando la acumulación de  $\text{H}_2\text{O}_2$  transformándolo en  $\text{H}_2\text{O}$  (Weydert & Cullen, 2010)

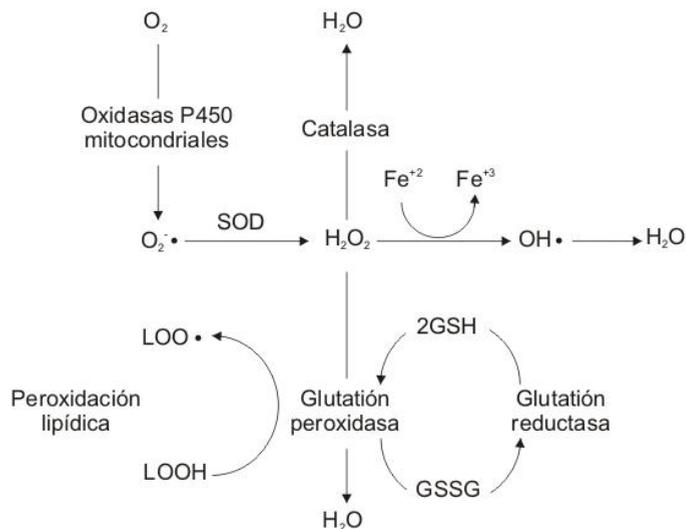


Figura 1.8 Acción del complejo enzimático ante la presencia de radicales libres (Weydert y Cullen, 2010)

La ubicación de la CAT y GPX es similar, pero sus mecanismos de regulación son diferentes. La GPX y la glutatión reductasa (GRd) se encuentran formando parte de un sistema antioxidante (GPX/GRd), y la CAT de otro (SOD/CAT). Se ha observado que ambos sistemas no actúan a la par; la CAT actúa en presencia de altas concentraciones de  $H_2O_2$  y la GPX lo hace a concentraciones bajas, lo que demuestra una correlación inversa en la actividad de ambas enzimas. (Prego, *et al.*, 1997).

La acción protectora de la superóxido dismutasa y de la catalasa está probablemente favorecida por el ácido ascórbico,

el glutatión y la vitamina E, que aceptan fácilmente electrones y pueden ejecutar una función de apoyo eliminando radicales libres. (Sahmi, 1995)

La GPX es seleno-dependiente y junto con la glutatión transferasa poseen un requerimiento absoluto del donante de GSH para poseer actividad catalítica. La GPX precisa GSH y no otros tioles. El GSH se regenera por reducción del glutatión oxidado GSSG, aquí entra en juego la enzima glutatión reductasa (GRd), la cual es NADPH dependiente (Halliwell *et al.*, 1995). El nivel de Se dietario de los vertebrados afecta la actividad de la GPX y las deficiencias dietarias en selenio normalmente disminuyen su actividad.(Brigelius-Flohé,1999)

La deficiencia en la enzima GPX puede compensarse por la degradación de  $H_2O_2$  por parte de la catalasa y de los ROOH por la enzima glutatión transferasa (GST).

Estos sistemas antioxidantes pueden operar en varios niveles dentro la célula ya sea por a) prevención de la formación de radicales b) interceptando los radicales cuando son formados c) reparación del daño oxidativo causado por los oxidantes y d) incrementando la eliminación de las moléculas dañadas (Gutteridge, 1995). Así la superóxido dismutasa (SOD) acelera la conversión del  $O_2^{\bullet-}$  a peróxido de hidrógeno, el cual posee una menor reactividad. Las catalasas presentes en los peroxisomas convierten el peróxido de hidrógeno en

agua y oxígeno. Además las células poseen un sistema enzimático muy importante la glutatión peroxidasa que elimina el peróxido de hidrógeno y se convierte en glutatión reducido. Otro sistema antioxidante importante es el relativo a los metales de transición (hierro y cobre) presentes en el músculo esquelético. Estos metales son capaces de formar radicales libres y esta actividad está controlada por la formación de complejos estables con las proteínas. El hierro se encuentra unido a proteínas formando la ferretina y el cobre formando carnosina (Frankel,1998).

#### **I.3.4. Antioxidantes liposolubles e hidrosolubles**

En los fluidos extracelulares no hay catalasas ni peroxidasas y la SOD es muy baja. Sin embargo, la lista de reductores extracelulares es amplia e incluye a proteínas con capacidad de prevenir reacciones catalizadas por iones metálicos, al unirse a metales y complejos metálicos biológicos de hierro y cobre. Las sustancias que escapan a las enzimas antioxidantes pueden ser secuestradas por los antioxidantes liposolubles o hidrosolubles. Los agentes de bajo peso molecular de mayor importancia son: ácido ascórbico (vitamina C); glutatión (GSH); proteínas antioxidantes (bilirrubina y ácido úrico) y aminoácidos (Sahmi, 1995; Stocker *et al.*, 1987). También se ha demostrado la acción antioxidante de algunos dipéptidos como la carnosina, anserina y ciertos aminoácidos libre (Hui-Chun *et al.*, 2003).

En condiciones metabólicas normales, existe un balance entre los eventos oxidativos y los sistemas de defensa, manteniendo la homeostasis celular. Cuando este balance no se mantiene, ya sea por una pérdida o disminución del sistema protector o por el aumento en la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO), o por ambos eventos simultáneamente, se dice que el tejido está en un estado de estrés oxidativo. Si se mantienen las células bajo estrés oxidativo, se puede tener como resultado severas disfunciones metabólicas. (López Díaz-Guerrero, 2005).

### **I.3.5. Evaluación de la oxidación lipídica en la carne.**

Dado que la oxidación lipídica es un proceso dinámico, en función del momento en que se lleva a cabo la determinación de la oxidación lipídica y del método, los resultados pueden ser muy variables (Ahn *et al.*, 1998).

Existe un amplio abanico de técnicas para determinar la oxidación lipídica de la carne, entre las más utilizadas están las que valoran los compuestos de oxidación primaria como son los hidroperóxidos y aquellas que determinan los compuestos de la oxidación secundaria como el malondialdehído (MDA), los óxidos de colesterol y los compuestos volátiles. Respecto de la valoración de los primeros, las técnicas para la evaluación de peróxidos presentan una baja sensibilidad y son difíciles de

adaptar al análisis de importantes cantidad de muestras (Grau *et al.*, 2001a). Sobre la determinación de compuestos de la oxidación secundaria podemos decir que la técnica del ácido tiobarbitúrico (TBA) es una de las formas de medir la oxidación más antigua y más frecuentemente usada, es un método simple que valora el MDA. No obstante, esta técnica presenta algunas limitaciones cuando se usa para muestras liofilizadas o conservadas por largo tiempo en congelación debido a la reducción del MDA como consecuencia de la polimerización de los productos de la oxidación secundaria. Así el MDA reacciona con un amplio rango de compuesto e incluso entre si formando dímeros y trímeros de MDA, los cuales presentan una reactividad reducida. (Gutterdige, 1975; Esterbaur *et al.*, 1991; Aubourg, 1993). Otros compuestos de la oxidación secundaria son los óxidos del colesterol (COPs) (Chen, *et al.*,1993, Ahn, *et al.*,1998). En lo que respecta a los óxidos del colesterol Paniangvait *et al.*, (1995) afirmaron que existen aproximadamente 74 productos de la oxidación del colesterol y que la cantidad de los mismos es aproximadamente un 10% del colesterol producido por el animal.

La determinación que cada día cobra más importancia está relacionada con la determinación de los compuestos volátiles. De los más de 40 compuestos detectados durante la oxidación lipídica, los aldehídos son los que se encuentran en mayor proporción. Los diferentes compuestos volátiles se

clasifican en función de su umbral de detección, lo cual indica la concentración necesaria del compuesto para ser detectado por los consumidores. De esta forma el hexanal, nonanal y 2-4 decadienal son los más importantes, debido a su elevada concentración y su bajo umbral de detección (De Winne & Dirinck, 1996). En tal sentido López-Bote (2003) sugirió la medida del hexanal como una manera más precisa de determinar la oxidación lipídica. En este punto deberá tenerse en cuenta y diferenciarse claramente la determinación de estos compuestos en la materia prima cruda, o lista para consumir, ya que las pruebas de aceptabilidad requieren de una cocción o procesamiento (o ambas) de la carne antes de ser consumidas.

Por lo tanto es importante remarcar que en la carne cruda (estado basal de oxidación) podrá estimarse el balance de oxidación/antioxidantes que tiene la misma previamente a ser sometida a un tratamiento para consumo, y que este balance en el estado basal podrá determinar o no (según el tipo de proceso que sufra el producto ya que el congelado y descongelado, picado, filetes o etc. pueden inducir oxidación) el comportamiento de la misma cuando se ofrece al consumidor (Brannan & Erickson, 1996).

La existencia de tal diversidad de compuestos relacionados con el proceso de oxidación de los lípidos (tabla

l.8.) provoca que sea difícil recomendar rangos o niveles máximos de oxidación lipídica en alimentos.

Tabla 1.8 Valores de oxidación lipídica obtenidos por diferentes métodos analíticos para muestras de muslo cocido (Grau *et al.*, 2001 a b)

Determinación analítica (mg/kg)	Fuente de grasa dietética (6%)			
	Sebo	Ac. girasol	Ac. girasol oxidado	Ac. lino
<b>Hidroperóxidos lipídicos</b>	154,7 c	162,2 bc	153,8 b	181 a
<b>TBA</b>	2,554 c	3,186 bc	3,562 b	6,57 a
<b>Productos totales de oxidación Colesterol</b>	3,71 a	3,59 a	3,31 a	2,45 b
<b>Colesterol 5<math>\beta</math>,6 <math>\beta</math>-epóxido</b>	0,61 a	0,58 a	0,56 ab	0,38 b
<b>7 <math>\beta</math>-hidroxicolesterol</b>	1,48 a	1,49 a	1,27 b	0,94 b
<b>Colestanetriol</b>	0,09	0,12	0,12	0,09
<b>7-ketocolesterol</b>	0,90 a	0,91 a	0,79ab	0,55 b
<b>25 hidroxicolesterol</b>	0,1	0,11	0,11	0,12

Dado que el contenido de los compuestos volátiles está directamente relacionado con la presencia de olores y sabores rancios que son detectados por el consumidor la determinación de los mismos es cada vez de mayor importancia. Igualmente la técnica de TBA es ampliamente utilizada por su simplicidad y

su elevada correlación con los compuestos volátiles. (Bou et al., 2001)

Diversos trabajos basándose en la correlación entre los compuestos volátiles y TBA han sugerido un valor umbral de TBA 800 µg/kg para la detección de olores y sabores extraños (O'Neill 1998; Bou et al., 2001) .Por otro lado Coetze & Hoffman (2001) proponen la siguiente escala de relación entre valores de TBA y la escala sensorial (tabla I.9.)

Tabla I.9 Escala aproximada para la interpretación de los valores de TBAs (mg/kg) en carne y subproductos (Coetzee & Hoffman, 2001)

Valores de TBA	Interpretación
<0,2	Calidad Buena
0,2-0,5	Tolerable
0,5-1,5	Algo oxidada
1,5 -5,0	Oxidada
>5	Rancio –incomestible

### I.3.6. Factores que influyen en la oxidación de la grasa

La estabilidad de las membranas celulares del tejido muscular está afectada por varios factores como lo son la naturaleza cualitativa del agente iniciador de la peroxidación, el contenido de ácidos grasos poliinsaturados de la membrana, la tensión de oxígeno, la presencia de hierro y la activación de enzimas que pueden desencadenar la cadena de reacción (Venereo Gutiérrez, 2002). En general, tanto la concentración

de fosfolípidos, triglicéridos u otros prooxidantes como el hierro y los AGPI entre otros juegan un papel muy importante en el potencial oxidativo de los diferentes tejidos (Higgins,1998 y 1999). No obstante, los fosfolípidos son los que presentan una mayor influencia en la oxidación lipídica.

En el pollo los tejidos presentan diferencias en cuanto a su susceptibilidad a la oxidación lipídica. Las fibras blancas (tipo II<sub>b</sub>) con metabolismo glucolítico presentes en la pechuga son utilizadas en actividades vigorosas que se desarrollan en un corto periodo de tiempo, mientras que las fibras rojas (tipo I y II<sub>a</sub>) de metabolismo oxidativo presentes en el muslo se utilizan para actividades sostenidas. Las fibras rojas tienden a ser más pequeñas, contienen más mitocondrias, mioglobinas y lípidos, además tienen un sistema vascular más desarrollado que las fibras blancas. Todas estas diferencias provocan diferencias en la estabilidad oxidativa de los tejidos. En este sentido el potencial oxidativo de los diferentes tejidos presentes en las aves sigue el siguiente orden: hígado>muslo>pechuga>piel (Erickson, 1998). Años más tarde, Descalzo *et al.* (2006); reportaron mayores valores de TBA en pechuga que en muslo coincidiendo con los resultados de Erickson (1998).

Pese que el rol de los triglicéridos en la oxidación de la carne es menor que el atribuido a los fosfolípidos algunos autores han demostrado que la composición de los primeros es

importante para determinar el desarrollo de la oxidación y utilizan una fórmula para calcular el índice de oxidación de esos lípidos (Rymer & Givens, 2010b)

La oxidación lipídica ha sido correlacionada, además, con el contenido en hierro, humedad y proteína de la carne (Ang, 1988; Hidalgo, *et al.*, 1992). El agua únicamente actúa como solvente para disolver el oxígeno y los metales catalíticos (Ang., 1988), mientras que el hierro tanto en estado libre como unido al grupo Hemo es considerado como un fuerte prooxidante. (Ang, 1992). Las proteínas pueden formar diversos tipos de compuestos mediante enlaces no covalentes o covalentes con los lípidos peroxidados generando grupos carbonilos, polímeros de proteínas y péptidos, que le confieren a la carne sabores atípicos y alteraciones en el color (Hidalgo *et al.*, 1992, Xiao *et al.*, 2011)

También se ha demostrado que en los procesos de cocción aumenta la oxidación de los lípidos. Así, Maraschiello *et al.* (1999) observaron que en términos de valores de TBARS éstos se multiplicaron aproximadamente por 10 tras el proceso de cocción. Para carne cruda hallaron valores alrededor de 1 ( $\mu\text{g}$  de malonaldehído/g de tejido de músculo) y en carne cocida valores entre 8 y 12 ( $\mu\text{g}$  de malonaldehído/g de tejido de músculo). Además estos autores indican que la adición de vitamina E conllevó que los valores para carne cocida no superasen el valor de  $4\mu\text{g}$  de malonaldehído/g.

Tanto la presencia de antioxidantes, como el tipo de perfil lipídico son dos de los factores más determinantes en el desarrollo de la rancidez oxidativa. Pese a la diferencia en los tipos de fibra algunos autores no han encontrado diferencias en la oxidación de carne de pollo refrigerada proveniente de muslo y pechuga, afirmando por lo tanto que su estabilidad dependía del contenido de antioxidantes. Jensen *et al.*(1995 y 1997) observaron que la estabilidad oxidativa estaba altamente relacionada con el grado de insaturación de los lípidos y el contenido de vitamina E.

### **I.3.7. Relación entre el Perfil lipídico de la carne de pollo y la susceptibilidad a la oxidación**

Tal como ya se ha comentado en capítulos anteriores, el perfil lipídico de la carne de pollo puede ser modificado mediante cambios en los componentes de la dieta, sobre todo la fuente de lípidos

En ese sentido, como puede observarse en la tabla I.10., la inclusión de fuentes de grasas con un elevado contenido de AGPI como el aceite de pescado o de lino provoca un aumento en la susceptibilidad a la oxidación.

Tabla I.10 Efecto de diferentes fuentes dietarias sobre el desarrollo de MDA

<b>Autores</b>	<b>Tejido</b>	<b>Fuente de Grasa (%)</b>	<b>MDA<sup>2</sup></b>
Ahn et al. 1995	Muslo crudo	Aceite linolénico	0 0,2a
			2.6 0,7b
Cherian <i>et al.</i> 1996	Muslo crudo	Aceite palma	1,6b
		Aceite de girasol	1,6b
		Aceite de lino	3.5 1,6b
		Aceite de pescado	2a
O'Neill et al., 1998	Muslo crudo	Sebo	6 4,0a
Maraschiello <i>et al.</i> , 1999	Muslo crudo	Aceite de oliva	6 3,2b
		Manteca	1
Ruiz et al., 1999	Muslo crudo	Aceite de girasol	1.1
		Aceite de oliva	1.2
		Manteca	6 0.06
		Aceite de girasol	0.1
		Aceite de oliva	0.06
Surai & Spark, 2000	Hígado crudo	Aceite de maíz	3 9,3
		Aceite de atún	17,3a
Grau <i>et al.</i> , 2001 a,b	Muslo Crudo	Sebo	0,2b
		Aceite de girasol	6 0,4b
		Aceite de lino	1,4a
Jeun-Horng <i>et al.</i> , 2002	Muslo Pechuga		0 0.23
		Aceite de pescado	2 0.21
			4 0.24
Bou <i>et al.</i> , 2004	Muslo Pechuga	Aceite de	1.3 0.2
		pescado	2.5 0.3

<sup>1</sup> Nivel de inclusión de la fuente dietaria

<sup>2</sup> mg de MAD/kg de tejido

Esto se debe a que los AGPI son más fácilmente atacados por los radicales libres que los AGMI y AGS. Paralelamente, la susceptibilidad de los AGPI no es igual para todos ellos sino que aumenta con el nivel de insaturación. Así, se ha establecido que la susceptibilidad de los tres AG insaturados mayoritarios en la dieta es: Oleico < Linoleico << LNA con una relación 1:10:30 (Kanner *et al.*, 1987).

Como se ha mencionado anteriormente existen beneficios en la salud al aumentar el consumo de alimentos con mayor contenido de ácidos grasos insaturados pero debe tenerse en cuenta que cuando esto se realiza deben tomarse medidas para evitar la oxidación de estos lípidos insaturados.

### **I.3.8. Presencia de Antioxidantes**

Las células del músculo esquelético poseen una serie de componentes que de forma natural evitan los procesos oxidativos. Estos sistemas intrínsecos de las células dejan de ser eficaces cuando esta muere, así una vez sacrificado el animal se inactivan la mayor parte de los mecanismos que permiten controlar los procesos oxidativos, produciéndose reacciones de oxidación que en pocos días provocan alteraciones en la carne. En este sentido, la oxidación avanza rápidamente cuando se rompe la estructura de la carne, ya que todos los componentes de las células se ponen en contacto,

quedando los fosfolípidos expuestos al oxígeno, enzimas e iones metálicos (Frankel, 1998).

Para proteger a la carne frente a los procesos oxidativos se han evaluado diferentes estrategias. La más estudiada en los últimos años ha sido la utilización de antioxidantes, los cuales añadidos al alimento protegen en diferentes grados a los lípidos de la oxidación. Se han evaluado el ácido ascórbico (Maestro Duran & Padilla 1993; Laurdisen *et al.*, 1997b, Bou *et al.*, 2001, Grau *et al.*, 2001a), el beta caroteno (Barroeta & King, 1991, Ruiz *et al.*, 1999, 2001.; Ball, 2004); la carnitina (Lien *et al.*, 2001), la carnosina (O'Neill *et al.*; 1999; Hui-Chun *et al.*, 2003), extractos de plantas como el romero (López-Bote *et al.*, 1998), la salvia (Mielnik *et al.*, 2003), el orégano (Botsoglou *et al.*, 2002, 2003b) y concentrado de tomate (Goñi *et al.*; 2007; Brenes *et al.*, 2008). Sin duda, los antioxidantes más estudiados en la producción avícola en los últimos años han sido la Vitamina E y el selenio, razón por la cual se discutirá este tema profundamente en los próximos apartados.

En la figura I.9. se esquematiza la acción de los antioxidantes sobre los lípidos y su impacto sobre la carne.

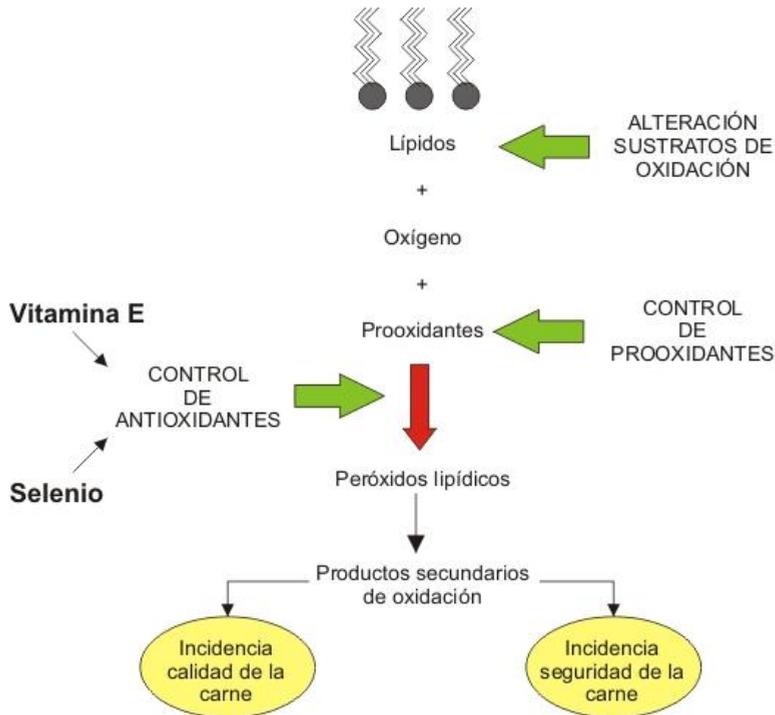


Figura I.9 Estrategias de control de la peroxidación lipídica (Carreras – Ferrer, 2004)

## I.4. Vitamina E

La vitamina E o  $\alpha$ -tocoferol es sintetizada sólo por las plantas y por lo tanto es hallada principalmente en productos derivados de ellas, siendo las fuentes más importantes de este compuesto los aceites vegetales (Combs, 1992). En los mismos están presentes los cuatro isómeros de los tocoferoles y

tocotrienoles. Por otro lado, el d-alfa-tocoferol libre o esterificado, es la forma más abundante en la mayoría de los alimentos de origen animal. Las fuentes fundamentales de vitamina E son los aceites de soja, maní y girasol; el trigo, la avena integral, el huevo y la manteca (Pita-Rodríguez, 1997).

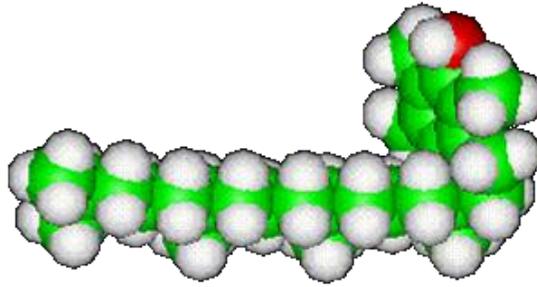
La vitamina E fue descubierta en el año 1922 por Evans & Bishop tras observar que una dieta semipurificada, pobre en grasas, producía incapacidad reproductiva en ratas.

La vitamina E es uno de los constituyentes lipídicos de las membranas celulares y lipoproteínas. Desempeña varias funciones, actúa como modulador en la respuesta inmune (Niu *et al.*, 2009) y expresión génica (Machlin *et al.*, 1980), y como protector de las proteínas que poseen selenio (Patnaik *et al.*, 1977). Su principal acción es prevenir el ataque por radicales libres de los tejidos, estando ésta relacionada con su capacidad de secuestrar radicales libres (Burton & Ingol, 1986; Ingol *et al.*, 1986) y oxígeno singlete (Sies, 1993). El segundo rol de la vitamina E es estabilizar la estructura de las membranas formando complejos que estabilizan moléculas, al mismo tiempo que previenen disturbios en el balance anfipático dentro de la estructura (Pita-Rodríguez, 1997; Fukuzawa, 2008), contribuyendo a la capacidad de retención de agua de la carne (Jensen *et al.*, 1998).

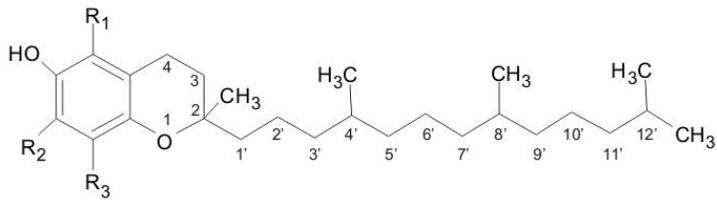
### I.4.1 Estructura, propiedades y función de la vitamina E

En la definición de vitamina E se incluyen 8 compuestos activos muy afines entre sí, que se dividen en dos grupos, los denominados tocoferoles ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -) y los tocotrienoles ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -) (figura I.10). Todas las formas comparten una estructura básica formada por un anillo 6-cromanol y una cadena lateral o cola fitol isoprenoide en la posición 2. En el caso de los tocoferoles la cadena isoprenoide es saturada, mientras que los tocotrienoles presentan 3 insaturaciones en los carbonos 3', 7' y 11' de la cadena (Pennock, 1964). Las clases  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ - de los tocoferoles y tocotrienoles difieren en el número y posición de los grupos metilo unidos al anillo de benceno. Cuando todos los residuos osnmetilados, el tocoferol y el tocotrienol tienen la forma  $\alpha$ . Las formas  $\beta$  y  $\gamma$  tienen dos grupos metilo y las formas  $\delta$  tienen uno.

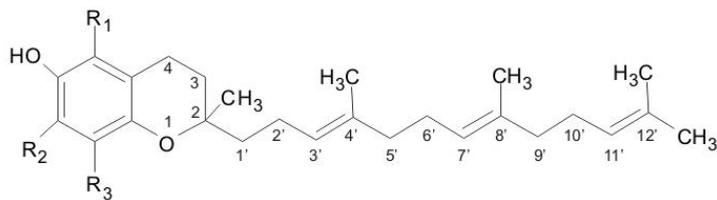
Los tocoferoles de fuentes naturales tienen los grupos metilo en un mismo plano y se denominan 2R, 4R, 8R- $\alpha$ -tocoferol o RRR- $\alpha$ -tocoferol (Mayer *et al.*, 1963).



a) Tocol



b) Tocotrienol



Tocoferol / Tocotrienol	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
α-	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
β-	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>
γ-	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
δ-	H	H	CH <sub>3</sub>

Figura I.10 Estructura química del tocol y tocotrienol (Wang & Quinn, 1999)

Las fuentes sintéticas de la vitamina E son mezclas racémicas obtenidas en el laboratorio a partir de los 8 estereoisómeros posibles del  $\alpha$ -tocoferol y se denominan  $\alpha$ -tocoferol *all-rac* o dl- $\alpha$ -tocoferol. De todos los compuestos activos que se compone la vitamina E, el RRR- $\alpha$ -tocoferol es el que tiene mayor actividad biológica, y por lo general es utilizado como estándar para establecer la misma. El orden de actividad de los tocoferoles es  $\alpha > \beta > \gamma > \delta$  (Combs, 1992). La actividad biológica de la vitamina E en los suplementos dietéticos se suele expresar en unidades internacionales (UI). Una unidad internacional se define como la actividad biológica de 1 mg de acetato de  $\alpha$ -tocoferol-*all-rac*. Comparando con eso, 1 mg de  $\alpha$ -tocoferol-*all-rac* equivale a 1,1 UI, 1 mg de  $\alpha$ -tocoferilo-RRR equivale a 1,36 UI (Scherf *et al.*, 1996) Como unidad internacional (UI) se utiliza el antes llamado d,l  $\alpha$ -tocoferol acetato, ahora denominado 2RS- $\alpha$ -tocoferol acetato, que equivale a 0,66 mg de RRR  $\alpha$ -tocoferol (Combs, 1992). En la tabla I.11 se puede observar la actividad relativa de los distintos estereoisómeros del  $\alpha$ -tocoferol.

Tabla I.11 Actividad relativa de los estereoisómeros del  $\alpha$ -tocoferol (Weiser & Vecchi, 1982)

Estereoisómeros de $\alpha$ -tocoferol	Posición de los grupos metilos			Actividad relativa (%)
	C-2 anillo	C-4 cola fitol	C-8 cola fitol	
<b>RRR <math>\alpha</math>-tocoferol</b>	R	R	R	100
<b>RRS <math>\alpha</math>-tocoferol</b>	R	R	S	90
<b>RSS <math>\alpha</math>-tocoferol</b>	R	S	S	73
<b>RSR <math>\alpha</math>-tocoferol</b>	R	S	R	57
<b>SSS<math>\alpha</math>-tocoferol</b>	S	S	S	60
<b>SRS <math>\alpha</math>-tocoferol</b>	S	S	R	37
<b>SRR <math>\alpha</math>-tocoferol</b>	S	R	R	31
<b>SSR <math>\alpha</math>-tocoferol</b>	S	S	R	21

#### I.4.2. Recomendaciones dietarias de vitamina E para humanos

Según Hernández Triana (2004) las recomendaciones nutricionales desde 1968 a 2002 oscilan entre 15 mg a 20 mg de RRR alfa tocoferol (30-10 UI) por día.

Hay una marcada diferencia en el consumo de vitamina entre los diferentes países. En Japón, Nueva Zelanda y Finlandia el consumo se encuentra entre los 8-10 mg/hab/día. Por otro lado, Francia, Grecia y España tienen consumo de 20-25 mg/hab/día. Esta variación se debe principalmente a los diferentes tipos de aceite que consumen las poblaciones. Por ejemplo, el aceite de girasol contiene 49 mg/100g de  $\alpha$ -tocoferol mientras que el aceite de soja tiene sólo 10 mg/100g.

La deficiencia de vitamina puede ocurrir por un inadecuado consumo o por una mala absorción. Pero en realidad hay muy poca evidencia clínica de deficiencia de vitamina en humanos, excepto en ciertas condiciones en que el metabolismo de la vitamina E está alterado (FAO & WHO, 2002).

### **I.4.3. Absorción, digestión y metabolismo de la Vitamina E**

La absorción de la vitamina E, por ser una molécula liposoluble, está ligada a la absorción de compuestos lipídicos de la dieta como los triacilgliceroles (Liu *et al.* 1995). Esta vitamina se absorbe principalmente en la parte alta del intestino delgado por difusión pasiva, en donde el tocoferol es previamente hidrolizado a tocoferol libre. Para que esto ocurra son imprescindibles la secreción biliar y la solubilización micelar (Gallo-Torres, 1970; Combs, 1992). En este sentido, las sales biliares procedentes del hígado y segregadas al intestino delgado favorecen la emulsión de las grasas y facilitan la acción de las lipasas pancreáticas sobre los lípidos con la posterior formación de micelas (Krogdahl, 1985; Osorio & Flores, 2011). (figura I.11)

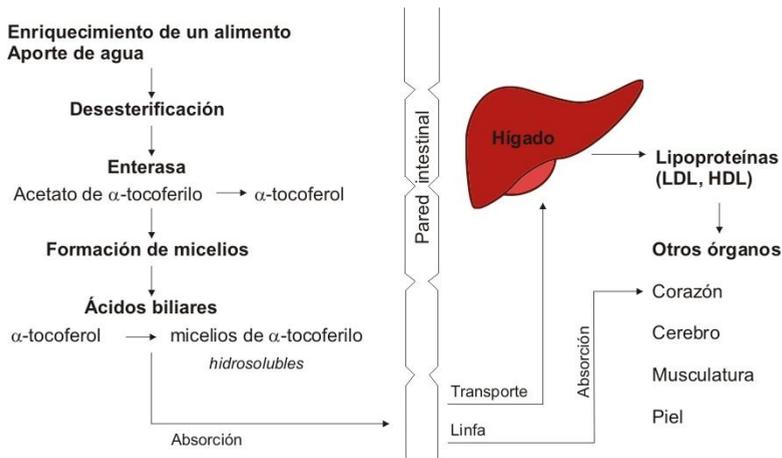


Figura I.11 Absorción y transporte de la vitamina E (BASF, 2014)

En cuanto al ingreso del tocoferol al enterocito existen discrepancias en cuanto a su mecanismo, Traber & Seis (1996) indicaron que el ingreso es por un mecanismo de difusión pasiva, años después otros autores afirmaron (Reboul *et al.*, 2006 y Mandalari *et al.*, 2013) afirman que además de la difusión pasiva existe un mecanismo mediado por la proteína SR-BI.

En general, la inclusión de grasa en la dieta mejora la absorción de esta vitamina (Gallo-Torres, *et al.*, 1971.). En principio, el hecho de aumentar los AGPI en la dieta mejora la absorción de los lípidos, y por lo tanto, mejoraría la de vitamina E. Existen estudios que respaldan esta teoría donde se observó que la presencia de AGPI de cadena larga incrementó la absorción de vitamina E tanto en ratas (Tijburg *et al.*, 1997)

como en pollos (Villaverde *et al.*, 2004). Por otro lado, Gallo-Torres *et al.* (1971) demostraron que la presencia de AGPI en la dieta reduce la absorción de esta vitamina. Pita Rodríguez (1997) aduce que este efecto negativo se debería a la interacción química del tocoferol y los AGPI o sus productos de oxidación en el lumen intestinal; probablemente debido a que los AGPI ocupan relativamente más espacio en las lipoproteínas y así desplazan a los tocoferoles o impiden su unión a éstas.

Luego de absorbida, en la pared intestinal, la vitamina E pasa a formar parte de los quilomicrones para su secreción a la linfa en mamíferos, o de los portomicrones para su circulación portal en las aves. Su transporte y distribución en medios acuosos se realiza en lipoproteínas en forma conjunta a otros lípidos (Traber & Arai, 1999). La absorción del  $\alpha$ -tocoferol es considerablemente elevada para concentraciones dietéticas bajas, mientras que disminuye a medida que aumenta el nivel de suplementación de  $\alpha$ -tocoferol (Villaverde *et al.*, 2004). Además varía dependiendo del tipo de éster de  $\alpha$ -tocoferol que se utilice en la dieta, si es acetato de  $\alpha$ -tocoferol la absorción aparente es de 71% y si es succinato de tocoferol la absorción es del 58% (Jensen *et al.*, 1999).

Una vez en el hígado, la vitamina es secretada preferentemente como componente de las VLDL, pero también puede ser secretada sin ninguna modificación en

portomicrones. Tanto las VLDL como los portomicrones pueden ser hidrolizados por la lipoproteína lipasa. Del catabolismo de estas estructuras, una parte de la vitamina E es captada por el tejido subyacente, mientras que el resto puede regresar al hígado en forma de remanentes de portomicrones o puede ser transferida a las HDL y a las LDL. La lipoproteína lipasa también puede actuar sobre las HDL y LDL para que la vitamina E pueda acceder a los tejidos (figura I.12.)

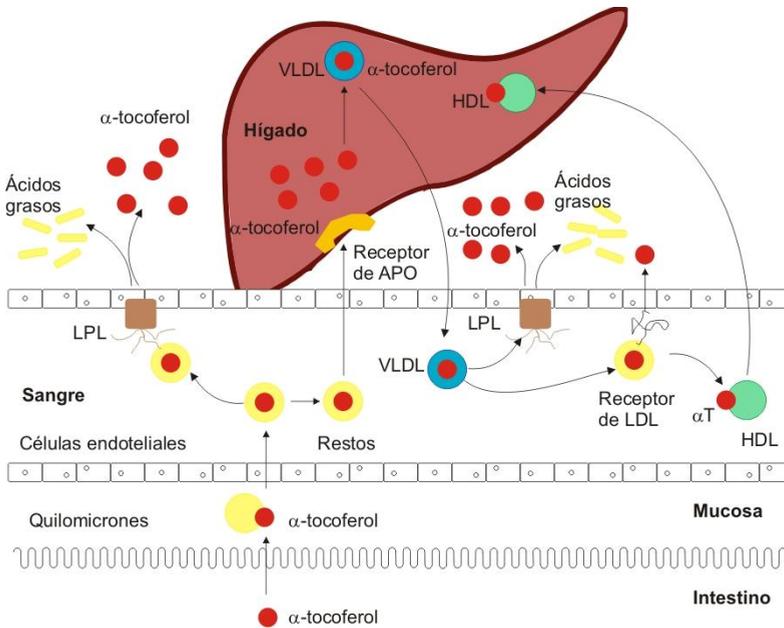


Figura I.12 Transporte de  $\alpha$ -tocoferol (Biesalski & Grimm, 2007)

Existe en el hígado una proteína citosólica, la proteína transportadora de  $\alpha$ -tocoferol ( $\alpha$ -TTP), de 30-35Kda (Sato *et al.*, 1993) que media el transporte del  $\alpha$ -tocoferol entre microsomas y liposomas unidos a la proteína que se dirigen a la circulación, evitando, de esta manera, su eliminación por vía biliar. Esta proteína posee afinidad selectiva por los distintos isómeros del tocoferol en el orden  $\alpha=\beta>\gamma>\delta$ . (Traber & Arai, 1999). Por el momento esta proteína ha sido aislada del hígado de ratas (Yoshida *et al.*, 1992; Traber & Arai, 1999;) y de humanos (Kuhlenkamp *et al.*, 1993). Algunos trabajos han demostrado una incorporación preferencial del isómero  $\alpha$ -tocoferol a tejidos de pollos y pavos tras la administración de una dieta con una mezcla de isómeros de tocoferoles (Cherian *et al.*, 1996; Surai *et al.*, 1999). Por lo tanto es factible pensar que esta proteína se encuentre en las aves.

La ingesta dietaria de vitamina E ha sido examinada en detalle en ratas. Cuando se suplementó la dieta con vitamina E (1g/kg de dieta) la concentración de  $\alpha$ -tocoferol en el plasma alcanzó un nivel máximo luego de 48 horas, y el hígado fue el principal órgano donde se acumuló la vitamina. Luego de 6 semanas se fueron incrementando los niveles en riñón, corazón, músculo y cerebro (Zhang *et al.*, 1996). Las fracciones subcelulares que poseen la mayor concentración de vitamina E son las membranas del aparato de Golgi y liposomas (Buttris &

Diplock, 1988). Los niveles de vitamina E sólo descendieron cuando se retiró el suplemento dietario.

La principal vía de eliminación es la biliar, mientras que sólo una pequeña parte es eliminada por vía urinaria (Surai, 2002a).

En el organismo existen dos pools de reserva. Estudios de cinética química han demostrado que existe un pool lábil (rápido recambio) y uno fijo (lento recambio) Los pools lábiles se encuentran predominantemente en el plasma y el hígado, mientras que los pools fijos se hallan en el tejido adiposo (Combs, 1992).

#### **I.4.4. Mecanismos moleculares de la acción antioxidante**

Debido a que la vitamina E es lipofílica se la encuentra en ambientes hidrofóbicos (depósitos de grasa, órganos almacenadores). El anillo cromanol es el encargado de esta función, mientras que la cola es la que aporta las características de liposolubilidad y es la responsable de su posición a nivel de las membranas celulares (Burton & Traver, 1990). El  $\alpha$ -tocoferol reacciona con el radical peroxilo antes de que este sea capaz de atacar el sustrato lipídico blanco tanto por transferencia de hidrógenos o mediante transferencia de

electrones; luego el protón es transferido en forma de hidroperóxido lipídico y radical tocoferilo. (figura I.13.)

La oxidación lipídica es una cadena de reacciones de radicales libres, que sigue el mecanismo descrito anteriormente (punto I.3.1). Específicamente la misma se inicia cuando un ácido graso, presente en los fosfolípidos de la membrana, pierde un hidrógeno al reaccionar con un radical libre, de manera que el propio ácido graso se transforma en un radical libre que reacciona con el oxígeno molecular dando lugar a un radical libre peroxilo (L-OO). A su vez, este radical libre puede interactuar sobre otros ácidos grasos poliinsaturados, lo que iniciaría de nuevo el proceso y daría lugar a la cadena de peroxidación. La cadena de reacciones de radicales libres se rompe cuando el  $\alpha$ - tocoferol presente en la membrana transfiere un hidrógeno a un radical peroxilo, transformándose en hidroperóxido (L-OOH) y dando lugar a un radical tocoferilo que luego puede reaccionar con otros compuestos donantes de electrones, como la vitamina C o el Glutathion que es catalizado por una isoenzima específica de la membrana. También pueden regenerar el tocoferol, la hidrógeno glutatión peroxidasa (Kamal – Eldin & Appleqvist, 1996) y la coenzima Q (Ingol *et al.*, 1993).

La eficiencia antioxidante del tocoferol se amplifica mediante la regeneración del mismo a partir de sus productos de oxidación. Esto se denomina ciclo redox del  $\alpha$ -tocoferol y se

cree que es importante en la función antioxidante del mismo (Liebler, 1983).

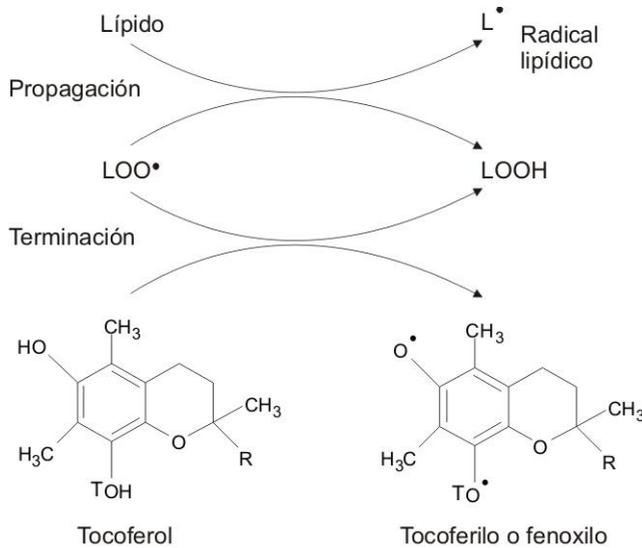


Figura I.13 Reacciones secuestrantes del  $\alpha$ -tocoferol (Wang & Quinn, 1999)

La medición *in vitro* de la velocidad relativa de propagación en cadena y de la velocidad de inhibición producida por el  $\alpha$ -tocoferol indicó que el mismo secuestra los radicales peroxilos con una velocidad considerablemente más elevada que con la que los radicales peroxilos reaccionan con el lípido sustrato. Las membranas contienen sólo alrededor de una molécula de  $\alpha$ -tocoferol por cada 2000 fosfolípidos, pero a pesar de eso es extraordinariamente efectivo ya que los radicales peroxil reaccionan 10000 veces más rápido con la vitamina E que con los AGPI (Bramley *et al.*, 2000). En síntesis, el  $\alpha$ -tocoferol inhibe la oxidación por dos mecanismos. Uno por

lado elimina los radicales libre producidos durante la peroxidación, inhibiendo de esta manera la reacción en cadena de la oxidación, y por otro lado, actúa como quelante del oxígeno singulete (Kamal – Eldin &Applevist, 1996).

### I.4.5. Efecto antioxidante en la carne de pollo

En la tabla I.12. se puede visualizar el efecto antioxidante de la vitamina E en carne de pollos.

Tabla I.12 Resultados sobre la reducción de la oxidación de los lípidos en carne de pollo cuando se adicional vitamina E

Autores	Tejido	Vit E Adicionada <sup>1</sup> mg/kg	Reducción de la oxidación <sup>2</sup> (%)
Voljcs <i>et al.</i> , 2001	pechuga cruda	0	
		200	68
Botsoglou <i>et al.</i> , 2002	muslo crudo	0	
		200	50
Lanari <i>et al.</i> , 2003	pechuga cruda	0	
		100	50
Brenes <i>et al.</i> , 2008	pechuga cruda	0	
		200	43
Avanzo <i>et al.</i> , 2001	pechuga cruda	0	
		100	43

<sup>1</sup>Vitamina E (mg de acetato all-rac- $\alpha$ -tocoferol/kg de alimento)

<sup>2</sup>Reducción de los valores de TBA (%)

Tabla I.12. Resultados sobre la reducción de la oxidación de los lípidos en carne de pollo cuando se adicional vitamina (continuación)

Autores	Tejido	Vit E adicionada <sup>1</sup> mg/kg	Reducción de la oxidación <sup>2</sup> (%)
De Winne y Dirinck, 1996	muslo crudo	0	
		200	93
Galvin <i>et al</i> , 1997	muslo crudo	30	
		200	57
Lopez-Bote <i>et al</i> , 1998	muslo crudo	0	
		200	20
O'Neill <i>et al</i> , 1998b	muslo crudo	30	
		200	45
Ruiz <i>et al.</i> , 1999	muslo crudo con piel	0	
		200	44-60
Grau <i>et al.</i> , 2000 a	muslo crudo con piel	0	
		75	34
		150	37
		225	48
Maraschiello <i>et al.</i> , 1999	muslo crudo	0	
		200	60-82
Grau <i>et al.</i> , 2001a,b	muslo crudo con piel	0	
		225	84

<sup>1</sup>Vitamina E (mg de acetato all-rac- $\alpha$ -tocoferol/kg de alimento)

<sup>2</sup>Reducción de los valores de TBA (%)

### **I.4.6. Modificación del contenido de $\alpha$ -tocoferol de los tejidos de pollos**

El depósito tisular de  $\alpha$ -tocoferol en los tejidos de las aves puede verse afectado por el tipo de tejido y por aspectos relacionados con composición de los alimentos.

#### ***I.4.6.1. Tipo de Tejido***

El depósito de  $\alpha$ -tocoferol en los tejidos de pollos alimentados con dietas suplementadas con  $\alpha$ -tocoferol sigue el siguiente orden: corazón  $\geq$  pulmón > hígado > tejido adiposo > muslo > pechuga > cerebro (Sheehy, 1991; Cherian, *et al.*, 1996). Se han observado marcadas diferencias en la concentración de vitamina E en la carne de pollo, encontrándose una relación positiva entre la concentración del acetato presente en la ración y los tejidos (Sheehy *et al.*, 1991; Klauss *et al.*, 1995, Jensen *et al.*, 1998; Flachowky *et al.*, 2002).

Sheehy *et al.*(1991) con el agregado de 5, 25, 65, y 180 mg/kg de acetato de  $\alpha$ -tocoferol y Klauss *et al.*, (1995) suplementando la ración con 0, 10 y 100 mg/kg de acetato  $\alpha$ -tocoferol observaron una elevada correlación de 0,99 y 0,91 respectivamente entre las concentraciones de vitamina E presentes en la dieta y los tejidos. Galvin *et al.* (1997) quienes utilizaron 0, 30 y 200 de acetato de  $\alpha$ -tocoferol suplementario,

encontraron un aumento de 28 veces respecto al nivel inferior de suplementación. O' Neill *et al.* (1998) evaluaron el agregado de 30 y 200 mg de acetato de  $\alpha$ -tocoferol en la ración, encontrando que la concentración en músculo fue de 8 a 30 mg de acetato de  $\alpha$ -tocoferol cuando se usó aceite de oliva y de 7 a 23 mg de acetato de  $\alpha$ -tocoferol cuando se utilizó sebo como fuente energética. Estos investigadores utilizaron concentraciones no superiores a 500 mg de acetato de  $\alpha$ -tocoferol/ kg de la ración. Por otro lado, Flachowsky *et al.* (2002), usaron concentraciones de 0-20000 mg de acetato de  $\alpha$ -tocoferol/kg de ración y observaron una saturación en el tejido de muslo y pechuga en concentraciones superiores a 10000 mg de acetato de  $\alpha$ -tocoferol y concluyeron que la transferencia adicional de vitamina E del alimento a los productos de origen animal varía entre 0,2 y 2 %, para 100 y 20000 mg de acetato de  $\alpha$ -tocoferol respectivamente.

#### ***1.4.6.2. Tiempo de suministro***

Dado que la vitamina E es un nutriente de elevado costo, es preciso establecer una recomendación sobre el nivel y tiempo de suministro de la misma. Bartov y Frigg (1992) estudiando los niveles de vitamina E en suero de pollos encontraron que las mayores concentraciones se evidenciaron cuando las aves consumieron durante el periodo 0-7 semanas vs. las primeras 3 semanas. Por otro lado, Morrissey *et al.*, (1997) observaron que la suplementación con 200 mg de

acetato de  $\alpha$ -tocoferol durante tres semanas antes del sacrificio produce una concentración de 17,3 mg de acetato de  $\alpha$ -tocoferol en suero similar a la detectada en pollos que recibieron el mismo nivel de suplementación durante 5 semanas. Grau *et al.*, (2000a) recomiendan dosis mayores, por lo menos 190 mg de acetato de tocoferol en los últimos 32 días, haciendo hincapié en elevar la concentración en el último período de crianza del animal para asegurar la calidad de la carne.

#### ***1.4.6.3. Composición de los lípidos de la dieta***

Los niveles de suplementación recomendados por el NRC (1994) varían en función del tipo y cantidad de grasa presentes en la dieta. Así, los AGI presentan mayor susceptibilidad a la oxidación, y por lo tanto utilizan más  $\alpha$ -tocoferol para poder controlar los procesos oxidativos, quedando menos disponible para poder depositarse en los tejidos. Por lo tanto, las necesidades de  $\alpha$ -tocoferol aumentan a medida que aumenta el nivel de insaturación de los alimentos, ya que se ha estimado que los requerimientos de vitamina E necesarios para 1 g de ácido graso con 2, 3, 4, 5 y 6 dobles enlaces son de 0,6; 0,9; 1,2; 1,5 y 1,6 mg (RRR- $\alpha$ -tocoferol equivalentes), respectivamente (Muggli, 1994).

De esta forma, los requerimientos de vitamina E dependen de la longitud y el grado de insaturación de los AG presentes en la dieta, los cuales vendrán definidos por nivel y tipo de grasa añadido. Existen autores que observaron una reducción en el contenido  $\alpha$ -tocoferol de los tejidos de pollo al adicionar aceites insaturados a la ración (Applegate & Sell, 1996; Surai & Parks, 2000), mientras que otros no observan este efecto (Cherian *et al.*, 1996; Grau, 2000).

Jensen *et al.* (1997) estudiaron el efecto del nivel de oxidación de los lípidos de la dieta sobre la acumulación en el músculo. En su estudio utilizaron aceite de colza fresco y oxidado (los cuales poseían 1 vs 156 meq  $O_2$ /kg, respectivamente) incluido al 9%. Los resultados obtenidos evidenciaron una mayor acumulación de vitamina E en el músculo cuando la grasa adicionada a la dieta no estaba oxidada. Estos resultados indican que la acumulación de vitamina está indirectamente relacionada con el grado de insaturación, ya que cuanto mayor es el grado de insaturación más propenso a oxidarse es el ácido graso y por lo tanto el organismo va a consumir más vitamina E para protegerse contra la oxidación. Además, los autores mencionados encontraron que los niveles de vitamina en la pechuga fueron de 8,01 y 4,67  $\mu\text{g/g}$ , cuando se usó aceite fresco y oxidado, respectivamente. Por otro lado, para el corte muslo los valores fueron de 16,8 y 8,78  $\mu\text{g/g}$  respectivamente. Cuando estudiaron

la progresión de la oxidación en los dos cortes, observaron mayores valores de TBA en el muslo. Los autores explican que no sólo debe tenerse en cuenta el contenido de vitamina E sino también la cantidad de grasa en el corte y la presencia de prooxidantes. Kubo *et al.* (1997), trabajando con ratas alimentadas con una dieta con niveles crecientes de DHA, encontraron que los mismos produjeron una disminución de vitamina E en suero y tejido de riñón e hígado. La mayor acumulación de vitamina E en el corte de pata también fue reportada por Cortinas Hernández (2004).

El efecto que posee la vitamina E sobre el contenido de ácidos grasos insaturado es discutido, Ajuyah *et al.* (1993), Cherian *et al.* (1996); Surai & Parks (2000) y Bou *et al.* (2004) afirman que la vitamina E agregada mejora las concentraciones de omega tres en carne, tanto en la fracción de triglicéridos como en la de fosfolípidos. Por otro lado Lin *et al.* (1989) y O'Neill *et al.* (1998) no encontraron efecto alguno al suplementar con vitamina E. Se debe destacar que estos dos autores usaron aceites de sebo, oliva y soja hidrogenada, en cambio los primeros autores usaron aceites más insaturados como el de lino y el de arenque, que son más propensos a oxidarse y por lo tanto a consumir vitamina E.

Por todo lo anteriormente citado es que en los últimos años el nivel de vitamina E en las dietas de pollos ha aumentado, llegando a superar los valores recomendados por

el NRC (1994) de 10 UI o 15 mg de acetato de alfa tocoferol. Concretamente las raciones en la actualidad contienen tres veces más vitamina E que las recomendadas por la NRC.

#### ***1.4.6.4.- Procesado de la carne de pollo***

En el apartado de oxidación lipídica (1.3) se han detallado los mecanismos que se desencadenan en la carne de las aves durante la conservación y procesado térmico. Así, es fácil entender que los cambios que se producen alteren la estructura y la estabilidad celular provocando un aumento del estado oxidativo.

La administración de vitamina E en concentraciones elevadas ha sido amplia y eficazmente utilizada para mejorar la calidad de la carne (Bartov & Borstein, 1977; Galvin *et al.*, 1997; Sheehy *et al.*, 1993; Ahn *et al.*, 1995, Cherian *et al* 1996; De Winne & Drink, 1996; Lauridsen *et al.*,1997b; Morrissey *et al.*, 1997; Jensen *et al.*, 1998; Ahn *et al.*, 1998; Lopez -Bote *et al* ,1998; O'Neill *et al.*,1998; Ruiz *et al.*, 2001; Lanari *et al.*, 2003). Se ha demostrado que la vitamina E acumulada en los tejidos permanece en los mismos durante su conservación y procesado, mejorando las propiedades tecnológicas de la carne como: el color, jugosidad, evitando la desecación, disminuyendo la presentación de olores y sabores extraños. Un ejemplo de la importancia del uso de vitamina E fue el trabajo

de Rymer & Givens (2010a), quienes encontraron en un estudio sensorial que la inclusión aceite de pescado a niveles de 4% combinado 100 mg de vitamina E por kg de ración, en la carne de pechuga produjo una concentración de n-3 de cadena larga 1931 mg/ kg de pechuga y que esta carne fue aceptada por los panelistas que realizaron el análisis sensorial.

Está claro que la suplementación dietética con vitamina E mejora la calidad y estabilidad de la carne de las aves sometida a procesos de cocinado y conservación, sin embargo la integridad de la molécula de vitamina E puede verse afectada por el procesado. Trabajos recientes indican que la misma se degrada muy poco durante el procesado y su papel antioxidante se ejerce todavía en los productos finales, retrasando su deterioro oxidativo durante la conservación (Kim *et al.*, 1995; Ruiz *et al.*, 1999; Kennedy *et al.*, 2005). La concentración final en los productos procesados depende de la temperatura a la que se cocina el producto, de la velocidad a la cual se alcanza la temperatura de cocción, del tiempo de procesado y del tipo de atmósfera que esté en contacto con la carne. Todos estos factores serán determinantes para definir el estado oxidativo de la carne y la percepción sensorial del producto. En carne de pavo, el agregado de la vitamina E (30-400 µg/g) inhibió la oxidación lipídica y proteica, pero no tuvo efecto sobre la estabilidad del color (Mercier *et al.*, 1998). En 2011, Voljc *et al.*, evaluaron el efecto antioxidante de  $\alpha$ -

tocoferol en carne cocida y cruda de pechugas de pollos alimentados con una dieta con 7,5 % de aceite de lino. La carne cruda presentó valores de MDA 2,47 nmoles/g de carne, mientras que los valores subieron a 21,39 nmoles /g de carne en carne cocida. La inclusión de vitamina E redujo los niveles de MDA a 8 nmoles/g de carne.

#### ***1.4.6.5. Interacción y comparación de la vitamina E con otros compuestos***

Bartov *et al.* (1997) estudiaron el efecto de la combinación de vitamina A y E, no hallando una mejora en el status oxidativo cuando se combinaron ambas vitaminas. Surai *et al.* (1998) evaluaron el efecto de la suplementación de vitamina A combinado con Vitamina E en dieta de gallinas ponedoras sobre la concentración de vitamina E en el hígado, yema y embrión. En este estudio se demostró que las mayores concentraciones de vitamina A produjeron una reducción en la concentración de vitamina E tanto en el hígado materno como en la yema y en el embrión.

En el 2001, Bou *et al.*, compararon la efectividad de la vitamina E (0-225 mg/kg de acetato alfa-tocoferol) combinada con el ácido ascórbico (0 -110 mg/kg) sobre el status oxidativo y la calidad sensorial de carne de pollos con diferentes grados de instauración en su lípidos. El agregado de ácido ascórbico

no mejoró la aceptabilidad y el sabor de la carne de pollo, pero se mejoró la aceptabilidad de carne cocida con el agregado de vitamina E. Los autores afirman que las muestras con valores de TBA de 1933  $\mu\text{g}$  MDA/kg de carne tuvieron sabor a rancio, mientras que las muestras que presentaron valores iguales e inferiores a 785  $\mu\text{g}$  MDA/kg de carne fueron aceptadas. Tres años más tarde, Bou *et al.* (2005), evaluaron el efecto de la vitamina E en pollos alimentados con dieta que contenía aceite de pescado (1,25 - 2,5 %), vitamina E, acetato all-rac  $\alpha$ -tocoferol, (70-140 mg/kg) y zinc (0-200 mg/kg). La suplementación con vitamina E aumentó el contenido de la misma en la carne cocida (2,06 a 2,81mg/100 g porción comestible), mientras que la adición de aceite de pescado y zinc no afectó el contenido de vitamina E y el Zn tampoco tuvo efecto sobre el mismo. No se observó efecto del Zn dietario sobre los contenidos de Zn en la carne (0,89 vs 0,90 mg/100 g de carne). El agregado de Zn no tuvo efecto sobre los valores de TBA y aceptabilidad. Tampoco se encontró relación entre los valores de TBA y aceptabilidad. Los valores de aceptabilidad fueron en promedio de 4,2 en una escala de 1 a 9, siendo 9 muy malo, por otro lado la dieta con 1,25 % aceite de pescado produjo valores de MDA/kg de 810 y la dieta con 2,5% de aceite de pescado condujo a valores de 1231  $\mu\text{g}$  de MDA/kg en carne cocida roja. Comparando ambos trabajos puede entenderse porque no se observó ninguna relación entre valores de TBA ( $\mu\text{g}$  de malonaldehído /kg de carne) y

aceptabilidad en esta última experiencia. La falta de relación fue debida a que ambas dietas produjeron valores altos de TBA que afectaron negativamente la aceptabilidad de la carne. Grau *et al.* (2001c) también encontraron que la suplementación de vitamina C no fue efectiva cuando se combinó con vitamina E, mientras que cuando se utilizó sola produjo mayores niveles de oxidación en aves alimentadas con dietas que contenían aceite de girasol y lino 6%.

Botsoglou *et al.* (2003a) evaluaron el efecto antioxidante de la vitamina E (200 mg/kg) vs de aceite esencial de orégano (50 y 100 mg/kg) en un dieta con harina de arenque. La carne fue almacenada por un período de 9 meses a -20 °C. La efectividad para impedir la oxidación fue: vitamina E >100 mg de orégano >50 mg de orégano >control. También encontraron que el muslo fue más susceptible a la oxidación que la pechuga y que la vitamina E bajo su contenido a medida que pasó el tiempo de almacenamiento.

Guo *et al.* (2003) estudiaron la combinación de 100 mg de vitamina E/kg suplementaria de ración con óxido de Mg y proteinato de magnesio, encontrando la mejor protección para la oxidación cuando usaron el proteinato de magnesio (2% en la dieta) con la vitamina E.

Las conclusiones de todos estos trabajos en conjunto indican que gracias al agregado de vitamina E en la dieta de pollos:

- Se cubren las necesidades biológicas para este nutriente.
- Se obtiene carne con mayor contenido de vitamina E.
- Se acumula más vitamina E en la pata que en la pechuga.
- Se obtiene mejor estabilidad oxidativa de la carne.

## **I.5. Selenio**

El selenio forma parte de los elementos trazas y, a pesar de encontrarse en poca cantidad, juega un rol importante en todos los animales. Es un componente esencial en la dieta humana en pequeñas cantidades, ya que si el consumo es excedido en cantidades relativamente pequeñas se convierte en perjudicial para el organismo (Lyonss et al., 2007). El primer claro indicio de que el selenio juega un rol vital en el metabolismo de los animales fue obtenido en 1957 cuando Schwartz y Foltz hallaron un compuesto en la levadura de cerveza, al que llamaron factor 3, capaz de reemplazar la vitamina E en la prevención de necrosis de hígado en ratas y pollos. Otro paso importante fue en 1970 cuando se descubrió

que el selenio formaba parte de la enzima glutatión peroxidasa (GPX), enzima que posee acción antioxidante al reducir los niveles de hidroperóxidos en las células. Casi al mismo tiempo se reporta que la GPX tiene cuatro átomos de selenio por mol (Rotruck, 1972).

El contenido de selenio en los tejidos animales es el reflejo del consumo de alimentos con selenio. Así, los animales que consumen alimentos con bajo contenido de selenio depositan relativamente bajas concentraciones de este elemento en sus tejidos y sus productos, como en el huevo y la leche, mientras que otros animales que consumen altas concentraciones depositan mayores cantidades del mismo. Los órganos contienen generalmente más selenio que otros tejidos, tales como el músculo. La principal forma en que se encuentra el selenio en el músculo es como selenocisteína y selenometionina (Lyons et al., 2007).

Desde el momento en que el selenio es ingerido la distribución en el cuerpo de humanos y animales, su absorción y excreción dependen de varios factores. Particularmente se deben a la forma química, como también a la cantidad total del selenio en la dieta. Además, el consumo puede ser afectado por la presencia de otros componentes del alimento, como el azufre, metales pesados y vitaminas. También, otros factores como el sexo, la edad, las condiciones de salud y el status

nutricional pueden afectar la absorción y la biodistribución del mismo en el cuerpo (Reilly, 2006).

### **I.5.1. Estructura, propiedades y función del selenio**

Como elemento químico posee propiedades similares a las del azufre. Reacciona con metales y no metales, formando con los primeros compuestos como  $\text{Al}_3\text{Se}_2$  y  $\text{Na}_2\text{Se}$ . Varios de estos compuestos son notorios por su fuerte olor y toxicidad. Naturalmente, los estados de oxidación en su forma elemental y combinados son -2 (ej. selenuro de sodio,  $\text{Na}_2\text{Se}$ ), +4 (ej: selenito de sodio;  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) y +6 (ej. selenato de sodio;  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ). Los selenuros metálicos están ampliamente distribuidos en la naturaleza y son la forma mineral más común de este elemento. Los compuestos orgánicos del selenio presentan propiedades similares a los compuestos orgánicos del azufre (Ursini & Bindoli, 1978). Después de los años '70, cuando se descubrió el selenio como constituyente de la GPX, otros hallazgos fueron realizados. Así, además de la actividad antioxidante presenta funciones en la síntesis de hormonas tiroideas, homeostasis (Thomson, 2004), inmunidad (Arthur *et al.*, 2003) y fertilidad (Aitken, 2009). También, se ha demostrado que tiene propiedades anticancerígenas, actúa como factor de crecimiento y juega un rol importante en la síntesis de leucotrienos, tromboxanos y prostaglandinas y otras

funciones metabólicas (Imai *et al.*, 1998; Thomsom, 2004). Por otro lado, Zhang *et al.* (2010) en su revisión presentan una extensa evidencia sobre diferentes trabajos que muestran el importante rol de las selenoproteínas en el mantenimiento de las óptimas funciones del cerebro vía regulaciones de las reacciones redox.

Todas las funciones biológicas atribuidas al selenio son mediadas por selenoproteinas. El selenio es incorporado en la estructura primaria de estas proteínas como el aminoácido selenocisteina. Más de 40 selenoproteinas han sido identificadas, entre ellas se encuentran al menos seis tipos diferentes de GPX, tres hormonas tiroideas, tres tioredoxin reductasas. En todos los casos el selenio se encuentra como selenocisteina en el sitio activo de la enzima. (Reilly, 2006).

En las aves una dieta deficiente de selenio y con bajos niveles de suplementación de vitamina E, produce enfermedades. Entre ellas podemos citar la diátesis exudativa, la encefomalacia y la atrofia pancreática nutricional (Bunk & Combs, 1981; Whitacre *et al.*, 1987). Esta última presenta 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 b y c). 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 & Combs, 1984).

También se ha demostrado que aumentando la concentración de selenio dietario se mejora la conversión y el emplume. También se observó una disminución en las pérdidas por goteo (Choct & Naylor, 2004).

El NRC (1994) recomienda en dietas para parrilleros una concentración mínima de 0,15 mg/kg y para ponedoras concentraciones de 0,05 a 0,3 mg/kg para un apropiado crecimiento y producción de huevo. El rango de concentraciones de selenio para producir deficiencia o toxicidad es más estrecho que otros minerales, reportando que concentraciones mayores de 10 mg/kg de ración son tóxicas (Kim *et al*, 2010).

### **I.5.2. Metabolismo del Selenio**

La absorción del selenio ocurre principalmente en la parte final del intestino delgado. Todas las formas del selenio, ya sea orgánico e inorgánico, son fácilmente absorbidas. Se estima que alrededor de un 80% de selenio consumido es absorbido. Existen sin embargo, diferencias entre los niveles de absorción y utilización de las diferentes formas químicas del elemento. En general, los compuestos orgánicos como la

selenometionina son absorbidos más eficientemente que las formas inorgánicas, particularmente el selenito. La selenometionina es absorbida en un 90%, mientras que el selenito es absorbido en un 60%. Shi & Spalholz (1994) reportaron diferencias en la absorción tomando 100% como referencia la del selenito, observaron que la del selenato fue del 98%, la carne cruda 127% y la carne cocida 139%, siendo estas dos últimas las formas orgánicas del selenio.

Las diferentes formas químicas también afectan el tiempo de retención del compuesto en el organismo. Por ejemplo, la selenometionina es retenida más eficientemente que el selenito o selenato. Por otro lado, la selenometionina es mejor retenida en los tejidos que la selenocisteína, ya que es incorporada dentro de las proteínas reemplazando a la metionina (Thomson, 1998).

La absorción de los selenatos parece estar mediada por un mecanismo de transporte activo vía sodio dependiente compartido con el azufre, mientras el selenito es absorbido por difusión pasiva. Ambas formas inorgánicas compiten con el S por su absorción. Esta puede ser afectada por un gran número de factores dietarios, además de la forma química del elemento. Es aumentada por la presencia de proteínas, vitamina E y vitamina A. Por otro lado, la presencia de azufre, arsénico, mercurio y vitamina C disminuyen su absorción (Wolffram *et al.*, 1985). La absorción más rápida ocurre en el

íleon, siendo el selenato absorbido más rápido que el selenito. Además la mayor absorción del selenio inorgánico se realiza en el duodeno y la parte anterior del íleon. La absorción de la selenometionina es activa usando el mismo transportador enzimático para la metionina y su seleno análogo (Pesti & Combs, 1976).

El rol primario de la mayoría del selenio absorbido en el tracto gastrointestinal es ser incorporado en las proteínas, tales como diferentes selenoenzimas o proteínas no específicas. El selenio, como elemento inorgánico y sin acomplejarse, no se encuentra en el organismo. El mecanismo por el cual el selenio es incorporado en las selenoproteínas es complejo y algunos mecanismos aún permanecen sin aclarar, como así también la función de algunas selenoproteínas (Zhang *et al.*, 2010). El selenio orgánico (selenometionina), que es hallado en granos y plantas, es metabolizado como la metionina transportado activamente y acumulado de esta forma en los músculos e hígado de los animales (Lyons *et al.*, 2007).

La eficiencia de la retención del selenio en los órganos y tejidos parece depender principalmente de su forma química y uso subsiguiente. La selenometionina es absorbida y retenida más eficientemente que el selenato y el selenito. Sin embargo esto no es suficiente para mantener el status de selenio. La razón de esto es que, si bien la selenometionina es retenida en el músculo y otras proteínas tisulares en mayor extensión que

otras formas, esta retención es no específica y el selenoaminoácido es inmediatamente usado como sustituto de metionina en las proteínas estructurales o como componente de proteínas funcionales (Thomson, 1998).

El selenio absorbido es transportado en la sangre unido principalmente a proteínas. Puede ser eliminado del organismo por tres rutas, vía renal, vía intestinal y vía respiratoria. La excreción depende de la cantidad de Se dietario y de la forma en que se encuentre. La mayor parte del selenio que ingresa al cuerpo es eliminado vía renal en 24 horas (Reilly, 2006).

En la sangre el selenio se encuentra en un 75% en el plasma y el suero. Los niveles del mismo están relacionados con el consumo diario de selenio y la concentración reportada en suero de adultos saludables es de 0.046-0.146  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (Lyengar & Woittiez, 1998), mientras que en niños los valores se encuentran entre 30-90  $\mu\text{g}/\text{L}$  (Feliu et al., 2005). En el músculo se reportaron concentraciones de 1,70-0,06  $\mu\text{g}/\text{g}$  (Reilly, 2006).

### **I.5.3. Recomendaciones dietarias de selenio para humanos**

La deficiencia de selenio en el hombre es rara, pero se ha observado que la enfermedad de Keshan (caracterizada por miocardiopatía crónica), y la osteoartritis endémica se

presentaban en individuos que vivían en regiones de China con muy bajo contenido de selenio en los suelos. También se han observado que ciertas enfermedades crónicas como cáncer, cardiopatías, asma, entre otras (Rayman, 2000; Brown & Arthur, 2001; Suárez de Ronderos & Michelsen Rueda, 2004) han sido relacionadas con bajos niveles de Se en el organismo.

En poblaciones normales existe una amplia variabilidad en cuanto a los requerimientos diarios de selenio reportados (Rayman, 2000; Thomson, 2004). El rango oscila entre 30 y 85 mg/día (tabla 1.13).

En medicina intensiva y en nutrición clínica el rol biológico del selenio reside en dos propiedades fundamentales, la optimización de la respuesta inmune celular y humoral mediante la mejoría de los fenómenos de fagocitosis, la actividad de las células “natural killer”, la proliferación de los linfocitos T y la síntesis de las inmunoglobulinas (Brown *et al.*, 2000; Manzanares Castro, 2007).

Tabla I.13 Recomendaciones dietarias de Se realizadas por diferentes organizaciones de salud ( $\mu\text{g}/\text{día}$ ) (Rayman, 2000; Thomson, 2004)

Organismo	Recomendación	Hombre	Mujer
<b>Australia</b> Truswell et al,1990	RDI	85	75
<b>USA and Canadá (standing</b> <b>Comitte on Evaluation of</b> <b>dietary Referente Intakes</b> <b>2000</b>	RDA	70	55
<b>United Kingdom (Department</b> <b>of Health, 1991)</b>	RNI	75	60
<b>World Health Organization</b> <b>(WHO/FAO/IAEA,</b> <b>1996)</b>	NR	40	30
<b>Europe (Scientific</b> <b>Committee</b> <b>For Food,1993)</b>	PRI	55	55
<b>Germany, Austria,</b> <b>Switzerland (German</b> <b>Nutrition Society et al, 2000)</b>	RNI	30-70	30-70

RDI: Recommended dietary intake; RDA: recommend dietary allowance; RNI: reference nutriente intake; NR: normative requeriment estimate; PRI, population reference intake.

#### **I.5.4. Mecanismos moleculares de la acción antioxidante del Selenio**

Como se explicó en la sección anterior el selenio es un componente de la enzima glutatión peroxidasa. Esta enzima tiene al menos seis isoenzimas (GPX1 a GPX6) descriptas y están localizadas en distintos compartimientos de la célula (Reilly, 2006). (Figura I.14) La clásica glutatión peroxidasa

(GPX-c o GPX1), intracelular, está distribuida ubicuamente. La GPX2 y la GPX3 son las glutatión peroxidasas conocidas como extracelulares o plásmaticas (GPX-p). La GPX 4 es la denominada glutatión hidroperóxido (PH-GPX). (Prego, 1997)

La gastrointestinal GPX2 o GI-GPX es la que está más estrechamente relacionada con la clásica glutatión peroxidasa (GPX) y sólo se expresa en el tracto gastrointestinal. Ella es la barrera contra los hidroperóxidos derivados de la dieta o del metabolismo derivado de la ingesta de xenobióticos. (Brigelius-Flohé, 1999).

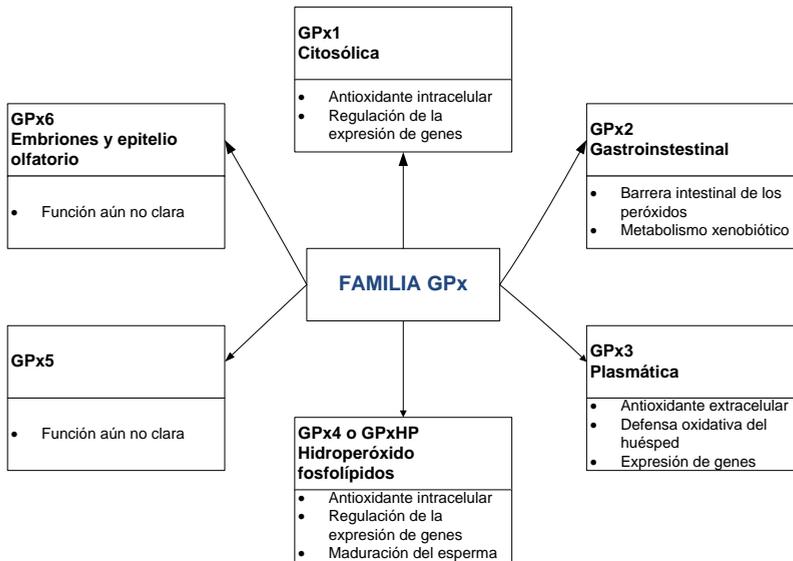


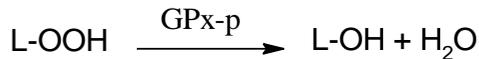
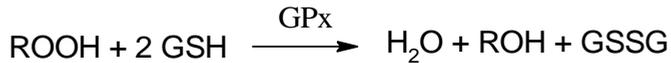
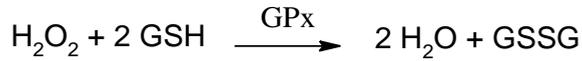
Figura I.14 Subclasificación de la glutatión peroxidasa, ubicación y funciones biológicas (Kühn & Borchet, 2002)

La GPX, como parte del mecanismo de defensa antioxidante, evita la oxidación de los L-OOH, reduciéndolos en presencia de GSH. Esta reacción produce hidróxidos que son elementos potencialmente dañinos y que al oxidarse se convierten en radicales alcoholóxidos, para los que no se conoce enzima que los metabolice.

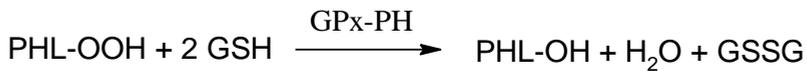
La GPX-c tiene mayor afinidad por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que por los L-OOH, en tanto la GPX-p tiene una afinidad semejante para los 2 sustratos. La GPX-c y la GPX-p utilizan como sustratos los H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y los L-OOH; sin embargo, no son capaces de utilizar

los fosfolipoperóxidos (PHL-OOH) que son los sustratos principales para la GPX-PH. (Prego, 1997)

La GPX-c y la GPX-p catalizan las reacciones siguientes:



La GPX-PH cataliza la reacción siguiente:



### **I.5.5. Efecto Antioxidante del selenio en la carne de pollo**

Un sistema integrado antioxidante ha sido descrito en el tejido de las aves. Se ha sugerido que la primera línea de defensa de la célula contra la oxidación está basada en tres enzimas, la superóxido dismutasa (SOD), la glutatión peroxidasa (GPX) y la catalasa (CAT). La deficiencia de selenio

y vitamina E afectan adversamente el sistema antioxidante del animal, si bien esta última está implicada en mayor magnitud (Avanzo *et al.*, 2001).

Surai (2002b) afirma que, como los niveles de los principales antioxidantes naturales (vitamina E y carotenoides) declinan después del nacimiento, las enzimas antioxidantes son críticas en el sistema de antioxidantes. Por lo tanto, aumentar la actividad de GPX mediante la suplementación de Se orgánico debería ser considerado un medio efectivo para aumentar la viabilidad del pollito recién nacido.

El embrión necesita cantidades elevadas de selenio y las mismas pueden ser transmitidas desde la reproductora mediante dietas con mayores contenido de selenio (Papazyan *et al.*, 2006). El tejido embrionario contiene alta proporción de ácidos grasos poliinsaturados en su fracción lipídica, por lo tanto necesita de una defensa antioxidante en su máxima expresión (Surai, 1999). Es bien aceptado que la composición de la dieta maternal es el principal determinante en el desarrollo del sistema antioxidante durante la embriogénesis y el desarrollo temprano neonatal (Papazyan *et al.*, 2006; Pappas *et al.*, 2006). Durante la incubación los antioxidantes son transferidos para el desarrollo embrionario de los tejidos, principalmente durante la última semana de incubación. Solamente la vitamina A es transferida al hígado más tempranamente que la vitamina E y los carotenoides (Surai,

1999). Si bien el selenio es transferido, no está claro aún en qué etapa del desarrollo embrionario esto tiene lugar. Parece ser que este elemento, pasa de la albúmina al embrión durante las dos primeras semanas, mientras que su liberación la yema al embrión tiene lugar en la última semana de incubación (Papazyan *et al.*, 2006).

En los últimos años, han aparecido en el mercado diversos productos, de origen orgánico, cuyos efectos benéficos en la producción de parrilleros vienen siendo evaluados. Diversas investigaciones han sido realizadas para comprender las diferencias entre el selenio orgánico y el inorgánico de las dieta (Deniz, *et al.*, 2005; Peric *et al.*, 2009; Upton *et al.*, 2009).

El sistema digestivo de los animales, incluyendo el de las aves, se adaptó durante su evolución a la metabolización del selenio orgánico proveniente de las plantas. Por lo tanto, la inclusión de selenito o de selenato en la dieta no es una situación natural, y diferencias en la asimilación, metabolización y/o acumulación dependen de la fuente de selenio (Papazyan *et al.*, 2006). Los mismos autores afirman que el selenito de sodio es pro-oxidante y en combinación con hierro o zinc podría estimular la oxidación lipídica y causar daños al enterocito con disminución de la absorción de diferentes nutrientes, incluyendo antioxidantes. Por otro lado, afirman que la selenio metionina (forma natural del selenio), contribuye a las reservas

del organismo proveyéndole mejores chances al animal para responder ante situaciones de estrés por la síntesis adicional de selenoproteínas.

Sin embargo la mayoría de las investigaciones han sido realizadas con selenio inorgánico y por lo tanto muchos de los procesos fisiológicos y repuestas reproductivas deben ser re-evaluadas usando fuentes naturales de selenio.

### **I.5.6. Efecto del selenio sobre los parámetros productivos**

Deniz *et al.* (2005) estudiaron la suplementación de la dieta, en pollos parrilleros con 0,3 mg/kg de selenio inorgánico vs orgánico sobre los parámetros zootécnicos y la pérdida de agua por goteo (drip-loss). No encontraron diferencias significativas en ganancia de peso y consumo entre las dos fuentes de selenio, pero si observaron mejor conversión y menor pérdida por goteo en los tratamientos con selenio orgánico.

Sevcikova *et al.* (2006) evaluaron el efecto de suplementar una dieta con diferentes tipos de selenio orgánico, uno proveniente de levadura y otro de algas (chorella), sobre los parámetros zootécnicos y la característica de la carcasa. Los niveles finales de selenio en las dietas fueron de 0,13 mg/kg, 0,44 mg/kg y 0,39 mg/kg en la dieta control, la dieta con Se-levadura y la dieta con Se-alga, respectivamente. Estos

autores observaron un mayor peso final en la aves que comieron las dietas suplementadas con Se, independientemente del origen. No vieron diferencias significativas en conversión, peso y rendimientos de carcasas entre los tratamientos. Por otro lado en el 2008, Wang *et al.* estudiaron el efecto de la suplementación de selenio en la dieta agregando selenio inorgánico y selenio orgánico (0,2 mg/kg) vs una dieta sin suplementar cuyo nivel basal de selenio era de 0,08 mg/kg. Los autores observaron que la conversión alimenticia fue mejor cualquiera fuera la fuente de selenio adicionada cuando se comparó con la dieta sin suplementar, no habiendo diferencias entre el selenito y el selenio orgánico. El peso final y la tasa de ganancia diaria no difirieron entre las fuentes.

Peric *et al.*, (2009) evaluaron el efecto del selenio orgánico sobre los parámetros productivos, emplume de las aves y características de calidad de la carne de pechuga del pollo. Se realizaron 4 tratamientos: 0,3 mg/kg de selenito de sodio, 0,2 mg/kg de selenio inorgánico ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) más 0,1mg/kg de selenio metionina; 0,1mg/kg de selenio inorgánico más 0,2 mg/kg de selenio orgánico (Sel-Plex) y el último tratamiento 0,3 mg/kg de selenio orgánico. No se observaron efectos en los parámetros zootécnicos de los diferentes tratamientos, existiendo sólo una leve tendencia hacia una mejor conversión en el tratamiento cuatro. El emplume fue mejor en todos los

tratamientos que incluyeron selenio orgánico hasta los 21 días, pero no así a los 42 días donde no hubo diferencias significativas. La pérdida de agua (drip-loss) fue significativamente menor también en este tratamiento. No hubo diferencias en lo que respecta al pH. Además, no se encontró correlación entre pérdida de agua y pH del músculo de pechuga.

### **I.5.7 Modificación del contenido de selenio en músculo**

El aumento de selenio en el alimento conlleva a una mayor concentración de este elemento en los tejidos de las aves. Wang, *et al.* (2008) confirmaron este supuesto cuando evaluaron diferentes niveles y tipos de selenio en la dieta de pollo (0,08 vs 0,28 mg/kg). El contenido de selenio aumentó en pechuga, patas, hígado y plumas cuando se incorporó selenio orgánico, observando una mayor deposición en las aves alimentadas con la dieta con seleno-levadura. En el caso de la pechuga la concentración fue de 52 mg/kg en las aves que comieron la dieta sin suplementar vs 217 mg/kg y 123 mg/kg para las aves que comieron seleno-levadura y seleno-algas respectivamente.

Además se ha estudiado el efecto de diferentes fuentes y niveles de selenio en dietas en ponedoras. Reis *et al.* (2009)

evaluaron el efecto del selenito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) vs selenio orgánico en forma de Zn-L-Se metionina en niveles de 0,15 y 0,30 mg/kg en la dieta. No se encontró efecto sobre la producción pero si sobre el contenido de selenio en el huevo, dependiendo el mismo del nivel de suplementación y del tipo de fuente usada, siendo mayor cuando la fuente fue orgánica (0,16 vs 0,27 mg/kg). Los resultados coincidieron con el trabajo realizado por Chantiratikul *et al.* (2008) quienes compararon selenito de sodio vs Zinc-L-seliometionina

### **I.5.8. Efecto antioxidante del selenio en la carne**

Uptun *et al.* (2009) evaluaron el efecto del selenio orgánico vs inorgánico (0 - 0,2 mg/kg) cuando se incorporaba en la dieta grasa previamente oxidada (0,3 y 6 meq. de peróxidos/kg de alimento) en pollos de 21 días de edad, sobre la actividad de la glutatión peroxidasa. La dieta basal tenía 0,115 mg/kg de Se. La GPX mostró mayor actividad cuando se agregó selenio orgánico u inorgánico. También el agregado de 0,3 meq de peróxidos produjo una mayor respuesta de la actividad de GSH-Px que cuando se incluyó 0,6 meq de peróxidos. Los autores atribuyen que se puede inhibir el sistema de GSH-Px cuando existen factores estresantes oxidativos elevados. Cuando se compara la fuente orgánica de selenio vs la inorgánica la repuesta de la glutatión peroxidasa fue mayor en los pollos que recibieron la dieta con selenio-metionina. Ellos concluyen que el organismo manipula de

manera diferente el selenio orgánico. El selenio inorgánico es eliminado asociado con los grupos tioles y es fácilmente eliminado por el organismo en condiciones de estrés. Por otro lado, la seleno-metionina es incorporada a la estructura de las proteínas. En el recambio proteico, la seleno-metionina está disponible como aminoácido libre y es reciclada en selenoproteína, sintetizándose nuevamente proteínas estructurales.

Ryu *et al.* (2005) trabajaron con diferentes niveles de selenito de sodio (1, 2, 4 y 8 mg/kg combinado con 100 UI de vitamina E) y una dieta basal con sólo 20 UI de vitamina E y 0,17mg/kg de selenito de sodio. Los resultados obtenidos demostraron que la vitamina E tiene un efecto mucho más marcado en la protección de la oxidación de los lípidos. Así, comparando un tratamiento control con 10UI de Vit. E vs. el tratamiento con 100 UI de vitamina E, se observó que durante los primeros 10 días de conservación a 4 °C de diferentes cortes, no hubo diferencia entre el tratamiento con solo vitamina E y el tratamiento con el máximo contenido de vitamina E y selenio. En el día doce en cambio la combinación de Selenio 8 ppm y 100 de vitamina E protegió mejor al músculo de la oxidación que el tratamiento sólo con 100 UI de vitamina E. También estudiaron la formación de los ésteres de colesterol y vieron que éstos no fueron reducidos por el agregado de selenio pero sí cuando compararon 20 UI vs. 100

UI de vitamina E. A su vez Kim *et al.*, (2010) estudiando el efecto de la combinación de diferentes niveles de vitamina E suplementaria (0, 50, 100 y 200 UI , 3 mg/kg de selenio inorgánico y una combinación de 3 mg/kg de Se y 100 UI de vitamina E ) sobre carne de pollo almacenada a 4 °C por diferentes períodos de tiempo observaron que el máximo nivel de vitamina E evaluado (200 UI) o la combinación de Vitamina E a niveles de 100 UI y Se fueron los tratamientos más efectivos para prevenir la oxidación de los lípidos.

En base a la revisión realizada se concluye que:

- Las dietas en base a maíz soja deben ser suplementadas con selenio.
- El selenio se acumula en todos los tejidos y responde a la concentración en la dieta.
- Las fuentes orgánicas de Selenio presentan mayor disponibilidad para el animal.
- Selenio mejora el status oxidativo del músculo

# CAPÍTULO II



## **II. Objetivos y Plan de trabajo**

### **II.1. Objetivos**

En la revisión bibliográfica de la presente memoria de tesis se ha puesto de manifiesto que es posible modificar el perfil lipídico de la carne de pollo en vistas a incrementar la proporción de ácidos grasos poliinsaturados omega 3, obteniendo de esta forma una carne con propiedades beneficiosas para la salud. Pero como se ha indicado en el capítulo I, el incremento en ácidos grasos insaturados conlleva a una mayor oxidación de los lípidos y esta a la alteración de la calidad sensorial de la carne de pollo.

Por lo tanto, para evitar o por lo menos minimizar la alteración de las propiedades organolépticas de la carne es fundamental incluir sustancias antioxidantes en la dieta, como la vitamina E y el selenio. También se ha prestado atención a la forma de presentación de este último. Se ha observado, además, que se puede potencializar la protección antioxidante mediante la combinación de ambas sustancias y que su efecto en conjunto actuaría para contrarrestar la oxidación lipídica.

### **II.1.1. Objetivo general**

Por lo tanto en base a lo anteriormente mencionado, el objetivo general de la presente tesis es desarrollar un producto cárnico funcional con características sensoriales aceptables por el consumidor a partir de aves alimentadas con diversas fuentes de n-3 con el agregado de vitamina E y Se.

### **II.1.2. Objetivos parciales**

Para conseguir el objetivo general anteriormente indicado se plantearon los siguientes objetivos parciales:

Determinar el efecto de diferentes fuentes de n-3 (aceite de lino y de pescado y sus combinaciones) en la dieta de las aves sobre el perfil lipídico de diferentes cortes de carne de pollo.

Evaluar el status oxidativo en los diferentes cortes de carne de pollo cocida.

Determinar si la presencia de la vitamina E en los diferentes cortes de carne, se asocia a la prevención del desarrollo de oxidación.

Evaluar el comportamiento del panel sensorial ante los diferentes cortes de carne.

Evaluar el contenido de Vitamina E en la carne de pollo en los diferentes tratamientos.

## **II.2. Plan de trabajo**

El de trabajo seguido en la presente tesis constó de tres fases (figura II.1.) las cuales se describen brevemente a continuación.

### **FASE 1: Formulación y evaluación de las dietas**

En esta primera fase del trabajo se formularon diferentes dietas para las distintas etapas de crecimiento de los pollos objeto del estudio: alimento iniciador, alimento de crecimiento (22 a 35 días) y alimento de terminación (36 a 49 días).

Todas las dietas contenían como ingredientes base harina de maíz y soja. Como fuente de ácidos grasos n-3 se les adicionó aceite de lino y/o pescado. Los componentes antioxidantes usados fueron vitamina E y selenio.

Las dietas, una vez formuladas y preparadas, se evaluaron según los siguientes parámetros: materia seca, humedad, proteínas, energía metabolizable, perfil lipídico (de los aceites), concentración de selenio y concentración de vitamina E con el objetivo de determinar si su valor nutricional se ajustaba a lo determinado en la formulación teórica.

Para determinar la estabilidad de los ácidos grasos incorporados a las dietas se analizaron los parámetros

indicadores de estabilidad oxidativa (rancidez y acidez) a diferentes tiempos, según la dieta considerada.

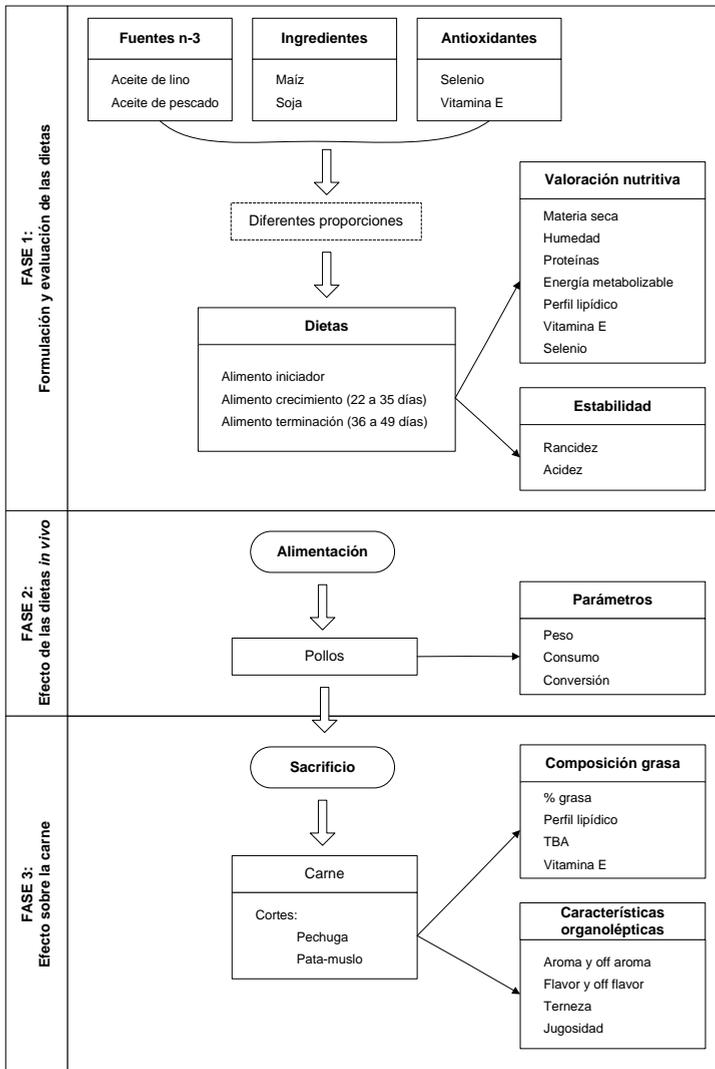


Figura II.1 Plan de trabajo

**FASE 2: Efecto sobre el animal vivo**

En esta fase se evaluó el efecto de la ingestión de las distintas dietas testadas sobre el animal in vivo en base a los siguientes parámetros zootécnicos: peso, consumo y conversión.

**FASE 3: Efecto sobre la carne**

Una vez sacrificados los pollos se evaluó el efecto del tipo de dieta sobre la composición grasa (% de grasa, perfil lipídico con especial mención a los ácidos grasos n-3, TBA y contenido de vitamina E) y características organolépticas de la carne (aroma, off aroma, flavor, off flavor, terneza y jugosidad). Estas determinaciones se realizaron sobre diferentes cortes (pechuga y muslo) y tras un tratamiento término.

# CAPÍTULO III



### **III. Materiales y Métodos**

#### **III.1. Metodología**

A continuación se describe la metodología utilizada en la presente tesis en base a las tres fases especificadas en el plan de trabajo (apartado II.2.)

##### **III.1.1. Fase I. Formulación de las dietas**

En esta primera fase se establecieron cuatro tipos de dietas o tratamiento: una dieta control sin adición de ácidos grasos n-3 y tres dietas enriquecidas en n-3 mediante la adición de aceite de lino y/o pescado.

Por otro lado, el tipo de alimentación suministrada a las aves varió en función de la fase de desarrollo de las mismas. Así, desde el día de su nacimiento hasta los 21 días las aves recibieron una dieta estándar comercial. A partir del día 22 los pollos fueron alimentados con las diferentes dietas en dos fases: crecimiento (de los 22 a 35 días de vida) y terminación (de los 36 a 49 días de vida). Por lo tanto los distintos tipos de alimentos utilizados en este estudio fueron: alimento iniciador (pre-experimental), alimento de crecimiento y alimento terminador.

En la tabla III.1. se muestran los distintos tipos de alimentos formulados dependiendo del tipo de dieta y de la fase de desarrollo de las aves.

Esta primera fase fue realizada en la Estación Experimental Agropecuaria de Concepción del Uruguay del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EEA INTA Concepción del Uruguay).

Las dietas utilizadas fueron formuladas con el software N-utrition 2.0 (programación lineal a mínimo costo) para cubrir las recomendaciones de Cobb (2004) y de proteína ideal (Rostagno *et al.*, 2005). Los principales ingredientes utilizados fueron maíz (Acopio AFA, Pergamino, BA; Argentina), poroto de soja desactivado (Metrive, Salto, BA, Argentina), harina de soja (Kruger, Pergamino, BA, Argentina), harina de carne (Insuma, Concepción del Uruguay; Argentina), aceite de girasol (Molinos Cañuelas, Cañuelas, BA, Argentina), sal (Dos Anclas, Salinas de Bebedero, Argentina), DI-metionina (Rhodimet NP99, Adisseo, Jardim, San Paulo, Brasil), L-lisina HCl (L-Lisina; Ajinomoto; Pederneiras, Brasil) L-treonina (L-Threonine, Tongliao, Mongolia, China); coccidiostato (Lonomicin M, Vetanco, Vicente López, BA, Argentina); Colina (Colina HCl, DSM, Tortuguita, BA, Argentina); conchilla (Vaheer, Lomas de Zamora, BA, Argentina).

Tabla III.1 Resumen de los diferentes tipos de alimentos utilizados en función del tipo de dieta y fase de desarrollo.

Dieta	Descripción	Abreviatura	Tipo de alimento	Abreviatura
1	Maíz Soja (control)	MS	Alimento iniciador (*)	I
			Alimento de crecimiento	C-MS
			Alimento de terminación	T-MS
2	Aceite de Lino	AL	Alimento iniciador (*)	I
			Alimento de crecimiento	C-AL
			Alimento de terminación	T-AL
3	Aceite de Lino y Pescado	ALP	Alimento iniciador (*)	I
			Alimento de crecimiento	C-ALP
			Alimento de terminación	T-ALP
4	Aceite de Pescado	AP	Alimento iniciador (*)	I
			Alimento de crecimiento	C-AP
			Alimento de terminación	T-AP

(\*) el alimento iniciador fue el mismo independientemente de la dieta seguida

Como fuente de ácidos grasos n-3, para suplementar las dietas, se utilizaron aceites de lino y/o pescado en diferentes proporciones. El aceite de lino fue adquirido de una firma aceitera de la provincia de Entre Ríos (Green Lake, Lucas Gonzales, ER, Argentina). El aceite de pescado fue provisto por

una firma de Mar del Plata, provincia de Buenos Aires (Omega Sur, Mar del Plata, Argentina).

A todas las dietas se les agregó un complejo de vitaminas y minerales (Premix-Parrillero, DMS). Cada kg de núcleo vitamínico mineral (Premix) aportó: vitamina A, 5300000 UI; vitamina D3, 1560000 UI; vitamina E, 15000 mg; vitamina B1 (tiamina), 1000 mg; vitamina B2 (riboflavina), 4000 mg; vitamina B3 (niacina), 26000 mg; vitamina B5 (ácido pantoténico), 6500 mg; vitamina B6 (piridoxina), 2000 mg; vitamina B8 (biotina), 50 mg; vitamina B9 (ácido fólico), 600 mg; vitamina B12 (cianocobalamina), 10 mg; vitamina K3 (menadiona), 1700 mg; colina, 60000 mg; Cu, 4000 mg; Fe, 30000 mg; I, 400 mg; Mn, 50000 mg; Se, 140 mg; Zn, 40000 mg; exp. csp 1000g. El mismo núcleo vitamínico –mineral fue utilizado en todas las raciones.

Además, en el caso de los alimentos de crecimiento y terminación se realizó un aporte suplementario de vitamina E (Rovimix®50) (DSM, Kaiseraugst, Switzerland) y selenio orgánico (Selplex) (Alltech, Lexington, USA). Se debe considerar que el total de vitamina E en el alimento fue de 230 y 222 UI para la fase de crecimiento y terminación respectivamente. El núcleo vitamínico aportó (30-22 UI), y el adicional de vitamina E (200 UI). El total de selenio en el alimento, considerando el aporte del premix (0,28-0,21 mg/kg)

más el selenio orgánico 0,2 mg/kg, fue de 0,48 mg/kg (alimento de crecimiento) y de 0,41 mg/kg (alimento de terminación).

Para aumentar el contenido de ácidos grasos n-3, se incorporó aceite de lino y/o aceite de pescado, tanto a los alimentos de crecimiento como a los de terminación. Los tratamientos con aceite de lino y de pescado se formularon isonutritivos con el control (salvo los AG) y se adicionaron en diferentes cantidades de manera no superar el 1,5% de ALA en la dieta.

Las dietas se suministraron a los animales en forma de harinas. La elaboración de las mismas se llevó a cabo en la planta de fabricación de alimentos balanceados de la Sección Avicultura del INTA EEA Pergamino.

Las dietas utilizadas fueron evaluadas en base a los siguientes parámetros: materia seca, energía metabolizable, perfil lipídico de los aceites de lino y pescado, contenido de vitamina E y contenido de selenio.

Además, también se procedió a evaluar la estabilidad de los AG n-3 presentes en los distintos alimentos utilizados en la presente tesis en base a los siguientes parámetros: rancidez y acidez, tanto al inicio como al final de cada etapa de alimentación.

### **III.1.2. Fase II. Efecto de las dietas “in vivo”**

Las aves utilizadas fueron pollitos BB machos de la línea comercial Cobb. Las mismas se criaron en lotes a piso, en un galpón convencional, hasta la edad de faena, alimentados con comederos tolva, mientras que el agua fue suministrada por medio del sistema de nipples. Se usaron 20 aves para cada tratamiento. Desde el nacimiento hasta el día 21 se criaron 100 aves alimentadas con la dieta comercial. El día 21 se pesaron todas las aves y se distribuyeron en 4 lotes de manera que los mismos tengan similar peso promedio y desviación estándar. Cuando se realiza esta distribución se descartan los extremos de la distribución de peso de manera de quedarnos con aves más homogéneas en cuanto a peso. Semanalmente todas las aves fueron pesadas individualmente y se registró el consumo de alimento de cada lote. Durante toda la crianza se mantuvieron las aves a las temperaturas recomendadas por el manual Cobb. También se llevó un registro diario de la mortalidad.

Para evaluar el efecto de las dietas “in vivo” sobre el animal se utilizaron los siguientes parámetros zootécnicos: variación de peso, consumo e índice de conversión.

La unidad experimental, para todas las determinaciones relevantes en esta tesis fue el pollo y solo se usó el promedio del peso de lote para estimar los promedios del mismo; consumo y conversión de los animales y poder visualizar algún

compartameitno anómalo de los tratamientos. No es el objetivo de la presente tesis evaluar el desempeño animal.

### **III.1.3. Fase III. Efecto sobre la carne**

Al final de la crianza, todas las aves fueron sacrificadas según la normativa vigente (SENASA, 2010). Las aves fueron identificadas y pesadas antes del sacrificio. Posteriormente se procedió a pelarlas manualmente, eviscerarlas y extraerle las patas y cabeza. Los cortes utilizados en la tercera fase del trabajo fueron las pechugas y las pata-muslos. Todas las muestras fueron envasadas individualmente y conservadas en refrigeración hasta el final de la faena. Posteriormente fueron congeladas (-18°C) y enviadas mediante el mismo sistema de conservación a los respectivos laboratorios para su posterior análisis. Se escogieron seis aves de cada tratamiento para el análisis de humedad, grasa y perfil de lípidos, TBA (como indicador de oxidación) y vitamina E. Por otro lado, diez aves de cada tratamiento se tomaron para realizar el análisis sensorial. Dos pechugas por tratamiento se utilizaron para determinar el contenido de selenio en músculo.

El análisis sensorial y el perfil lipídico de la carne, su contenido de TBA y el de vitamina E fueron realizados en el Instituto de Tecnología de Alimentos del INTA (Castelar, Provincia de Buenos Aires). El contenido de selenio se

determinó en la Comisión Nacional de Energía Atómica; Ezeiza, Argentina. El contenido de grasa y humedad se realizó en el laboratorio de EEA, Concepción del Uruguay.

## **III.2. Determinaciones**

### **III.2.1. Determinaciones analíticas en las dietas/alimentos**

Los parámetros evaluados a nivel de dietas/alimentos fueron: valoración nutricional, materia seca, proteína y energía metabolizable y se realizaron en la EEA INTA de Concepción del Uruguay.

Además, también se evaluó el perfil lipídico de los aceites utilizados para la suplementación de los alimentos en ácidos grasos n-3 (donde).

También se determinó rancidez y acidez a las dietas, tanto al inicio como al final de cada etapa de alimentación. La vitamina E se determinó en el ITA (Instituto de Tecnología Alimentaria, INTA Castelar), sobre la dieta sin premix, la dieta con el premix vitamínico y sobre las dietas con premix más vitamina E.

### **III.2.1.1. Perfil lipídico de los aceites**

Los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAME) fueron preparados de acuerdo al protocolo descrito por Pariza *et al.* (2001). Una muestra alícuota de 1 mg de aceite fue transesterificada con una solución de ácido clorhídrico 4% (v/v) en metanol. Los metil ésteres de los ácidos grasos fueron cuantificados utilizando un cromatógrafo de gases con un detector de ionización de llama Chrompack CP900S (Chrompack International – Middelburg, Países Bajos). En el mismo se utilizó una columna capilar modelo CP-SIL 88 (Chrompack International – Middelburg, Países Bajos) de 50m x 0,25mm de diámetro interno recubierta y nitrógeno como gas de transporte. La temperatura fue programada a 70°C por 4min, luego se incrementó a 170 °C a 13 °C.min<sup>-1</sup>, de 170 °C a 200°C la temperatura subió 1 °C.min<sup>-1</sup>. La temperatura del inyector y del detector fue mantenida a 250 °C. Los ácidos grasos fueron identificados por comparación con los tiempos de retención de los ácidos grasos estándares (PUFA-3 Animal Source, Supelco, Bell Fonte, PA, USA). Los resultados se expresan como porcentaje del total de ácidos grasos por 100 g de grasa utilizando estándar externo.

### **III.2.1.2. Materia seca**

La determinación de materia seca se realizó empleando el método de AACC 44-16.01. Se pesaron aproximadamente 2

g de alimento por duplicado. Se procedió a secar las muestras en estufa a 105 °C por 24 hs. Luego fueron enfriadas en un desecador durante 20 minutos y posteriormente pesadas. El cálculo de humedad se realizó por diferencia de peso.

### **III.2.1.3. Proteínas**

Para determinar el contenido de proteínas se utilizó el método AACC 46-12.01. El método de Kjeldahl calcula la proteína bruta que es equivalente a la materia nitrogenada total mediante una digestión ácida ( $H_2SO_4$ ), por lo tanto el nitrógeno presente es convertido a sal de amonio, que es destilado y transformado en amoníaco (digestión alcalina), que también se destila y cuantifica por medio de una titulación indirecta del ácido sulfúrico que queda sin reaccionar. Para su determinación se pesaron 0,1 g de muestra que se colocaron en un tubo de digestor con 4ml de  $H_2SO_4$  concentrado y una mezcla reactiva de  $K_2SO_4$ ,  $CuSO_4$  y Se. Dicho tubo fue calentado en un block digestor (Foss Hüganäs, Suiza) eléctrico a 320°C por 1h y posteriormente fue puesto en una unidad de destilación (Foss, Hüganäs, Suiza). El amoníaco fue capturado en una solución de ácido bórico al 2%, siendo titulado con  $H_2SO_4$  0,05N. Se utilizó una solución indicadora de rojo de metilo-azul de metileno en etanol.

El porcentaje de nitrógeno se calculó en base a la ecuación 1:

$$\%N = \frac{(V_1 - V_2) * \text{meq N} * \text{Norm H}_2\text{SO}_4}{M} * 100 \quad (\text{ecuación 1})$$

Donde:

%N: porcentaje de nitrógeno;

V<sub>1</sub>: volumen en ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gastados en la muestra;

V<sub>2</sub>: volumen en ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gastados en el blanco;

meq N: miliequivalentes de nitrógeno;

Norm H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: normalidad de la solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para la titulación;

M: masa de la muestra en gramos.

Los resultados se reportaron como porcentaje de proteína, usando el valor de 6,25 como factor de conversión de porcentaje de nitrógeno a porcentaje de proteínas.

#### **III.2.1.4. Energía metabolizable**

Los valores de energía metabolizable verdadera fueron determinados utilizando gallos adultos siguiendo la metodología descrita por Sibbald (1976). Las aves fueron

alojadas en jaulas individuales y ayunadas durante 24hs para asegurar el vaciado del tracto gastrointestinal. Transcurrido este tiempo, a un grupo de aves se les suministró 40 g de material a analizar, mientras que otro grupo siguió en ayunas para calcular la pérdida de energía de origen endógeno. Las excretas de sendos grupos, recolectadas durante 48 hs, fueron secadas en una estufa Dalvo (Ojalvo S.A. – Santa Fe, S. F., Argentina) a 60°C durante 48-72 hs. Posteriormente, se determinó la energía bruta de los ingredientes y de las excretas con una bomba calorimétrica isoperibólica Parr 1261 (Parr Instrument Company – Moline, IL, USA) acorde a lo expresado en el método estándar ASTM D2015-85 y se calculó el contenido de energía metabolizable verdadera según la ecuación 2:

$$EMV = \frac{EBa - (EBexc - EBend)}{AC} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde:

EMV: energía metabolizable verdadera en, kcal/kg;

EBa: energía bruta alimento en kcal/kg;

EBexc: energía bruta excretas en kcal/kg;

EBend: energía bruta endógenos en kcal/kg;

AC: alimento consumido en kilogramos.

### III.2.1.5. Selenio

El selenio se determinó en las dietas sin el premix, la dieta con el premix vitamínico mineral y la dieta con el premix vitamínico mineral más el selenio orgánico en el Centro Atómico Ezeiza de la Comisión Nacional de Energía Atómica (Ezeiza, Argentina)

La determinación de selenio se realizó utilizando la técnica de análisis por activación neutrónica con separación radioquímica (Reznisky *et al*, 1999). Las muestras, junto con un patrón de comparación de selenio, fueron irradiadas por e horas en el reactor RA-3 del Centro Atómico Ezeiza (8 Mw de potencia, flujo neutrónico térmico nominal de  $3 \times 10^{13}$  neutronES cm<sup>-2</sup> seg<sup>-1</sup>). El patrón de comparación de Se de 40 µg/g fue preparado a partir de una solución patrón Merck (Darmstadt, Alemania). La separación radioquímica se basó en la co-precipitación de selenio con sulfuro de mercurio (HgS). Después de un tiempo de decaimiento de 30 días, las muestras fueron medidas durante 8 – 10 hs utilizando un detector de HpGe (eficiencia 20%, resolución 1,8 KeV, para el pido de 1322 KeV de Co60) acoplado a un analizador multicanal. El selenio fue determinado a través de su nucleido <sup>75</sup>Se (período de semidesintegración 120 días), utilizándose los picos de 136.0, 264.7 y 400.8 KeV.

### III.2.1.6. Contenido de vitamina E

Las vitaminas  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol se determinaron por cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC), de acuerdo a la metodología modificada de Butriss & Diplock (1984) y aplicada para carnes según Descalzo *et al.*, 2006. Se tomaron muestras de músculo de pechuga y pata-muslo que fueron picadas y homogeneizadas con buffer fosfato de potasio pH 7,2 con la adición de pirogalol al 1% en etanol con un homogeneizador Ultra-Turrax<sup>®</sup> T-25 (IKA Works Inc. – Wilmington, NC, USA) por 2 min a 3000 rpm. Luego se pesó 1 g de homogenato en un tubo de vidrio de 25 ml con tapa a rosca y se adicionaron 2 ml de pirogalol al 1% en etanol. Las muestras se atemperaron por 30 segundos a 70 °C. Luego se agregaron 0.9 ml de hidróxido de potasio 10 N. Posteriormente, se llevó a cabo la saponificación por 30 min a 70 °C con hidróxido de potasio 10 N. Después de enfriar se agregó 1 ml de agua destilada a todos los tubos más 5 ml de n-hexano y se agitaron durante dos minutos con vórtex a fin de facilitar la extracción de los compuestos liposolubles en la fase orgánica. Posteriormente, las fases orgánicas se juntaron en un tubo de vidrio y fueron evaporadas a sequedad bajo flujo de nitrógeno, resuspendidas en 500  $\mu$ l de etanol absoluto y filtrado previamente a la inyección con una jeringa a través de una membrana de nylon de 0,45  $\mu$ m de tamaño de poro. Las muestras fueron analizadas en un HPLC de fase reversa

equipado con una bomba cuaternaria modelo P4000 (Thermo Separation Products Inc. – Piscataway, NJ, USA) con un desgasificador y un bucle de inyección manual de 20  $\mu$ l y conectado a una columna Alltech<sup>®</sup> Alltima<sup>®</sup> C18 (250mm x 4,6mm) y tamaño de partícula 5 $\mu$ m. El detector electroquímico Decade (Antec Leyden – Zoeterwoude, Países Bajos) fue equipado con una célula de flujo con Ag/AgCl y carbón cristalino como electrodos de referencia y trabajo respectivamente. La fase móvil para la detección electroquímica fue modificada de acuerdo a la técnica descrita por Rijke *et al.* (1997). El flujo fue de 1 ml/min y las células de referencia fueron programadas a +700mV. La recuperación de  $\alpha$ - y  $\gamma$ -tocoferol rondó el 98%. Se trazaron curvas de calibración con estándares de DL- $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol (Sigma, Saint Louis, USA) diluidos en etanol absoluto.

### **III.2.1.7. Acidez libre y rancidez (índice de peróxidos)**

Tanto para la determinación de acidez libre como para la de la rancidez se utilizaron las metodologías descritas en el Código Alimentario Argentino (CAA) (1985). Se pesaron en un erlenmeyer aproximadamente 30 g de muestra, se extrajeron los lípidos en frío con 50 ml de cloroformo, filtrando a través de papel de filtro (Whatman N° 4, Schleicher & Schuell, Dassel; Germany). El filtrado se dividió en dos alícuotas iguales, sobre

una de ellas se determinó contenido de grasa y luego acidez, sobre la otra alícuota se determinó rancidez.

### **Acidez:**

La alícuota escogida para acidez se llevó a estufa 100 °C, 60 minutos, se colocó en desecador por 20 minutos y se pesó. Este residuo se disolvió en 60 ml de la mezcla de etanol-éter, neutralizado hasta viraje de fenolftaleína con NaOH, diluido. Se agitó continuamente y tituló con solución de NaOH 0,1N valorada.

Se informó la acidez libre en g de ácido oleico por 100 g de aceite (PM ácido oleico: 282,4) por 100 g de grasa (ecuación 3).

$$\text{Acidez} = \frac{V \text{ NaOH} * N \text{ NaOH} * 28,2}{\text{Peso (grasa)}} \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde

V= ml de hidróxido de sodio para la titulación

N= normalidad del hidróxido de sodio

### **Rancidez:**

La segunda alícuota de filtrado se disolvió en 50 ml de cloroformo y 30 ml de ácido acético. A la mezcla se agregaron

2 ml de solución de IK al 20% y posteriormente se tituló con solución de tiosulfato de sodio, 0,01N

Los resultados se expresaron como miliequivalente de oxígeno/kg de grasa según la ecuación 4.

$$IP = \frac{(V - B) * N * NaS_2O_3 * 1000}{\text{Peso muestra}} \quad (\text{Ecuación 4})$$

Donde:

IP. Índice de Peróxido

V= ml de tiosulfato de sodio en la muestra

B= ml de Na S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> en el blanco

N: normalidad del tiosulfato de sodio

### **III.2.2. Determinaciones en animales vivos (parámetros zootécnicos)**

#### **III.2.2.1. Peso:**

Las aves se pesaron individualmente usando una balanza precisión (Precisa Modelo 2200C, Oelikon, Switzeland). Las aves fueron ayunadas por 8 hs antes de pesarse a los 34 y 49 días.

### **III.2.2.2. Consumo de alimento**

El consumo del lote se determinó por la diferencia entre oferta y sobrante de alimento. Se usó una balanza LT Ingeniera, Modelo 15C, Buenos Aires, Argentina. El consumo por ave se estimó dividiendo el consumo por el número de aves al día de la pesada.

### **III.2.2.3. Conversión**

La conversión se calculó dividiendo el consumo de alimento del ave por el peso promedio del lote.

## **III.2.3. Determinaciones analíticas en carne**

### **III.2.3.1. Grasa intramuscular**

Para la determinación de grasa intramuscular se utilizó la metodología propuesta por la AOAC 991.36. Una alícuota de 10 g de pechuga y pata-muslo fue secada a 60 °C por 72 hs, molida en un molinillo a cuchillas y extraída en un equipo Soxhlet por 5 hs, utilizando éter de petróleo en ebullición como solvente de extracción.

$$\text{Grasa (\% m/m)} = \frac{P_1 - P_0}{P_M} * 100 \quad (\text{Ecuación 5})$$

Donde:

P<sub>1</sub>: peso balón + grasa

P<sub>0</sub>: peso balón

P<sub>M</sub>: Peso muestra

### **III.2.3.2. Perfil de ácidos grasos**

Los lípidos totales fueron extraídos con cloroformo: metanol (2:1, v/v) mediante una adaptación del procedimiento de Folch et al. (1957). A partir de muestras alícuotas del extracto de cloroformo se determinaron la composición en ácidos grasos utilizando la metodología descrita en el apartado III.2.1.1.

### **III.2.3.3. Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBA)**

La determinación de TBA se realizó por triplicado según el método de extracción ácida (Descalzo *et al.*; 2005). Se tomaron alícuotas de 2,5g de carne picada y se colocaron en bolsas que contenían 12,5ml de una solución de ácido tricloroacético, TCA (10% p/v). Las muestras se homogeneizaron durante 3 minutos en un homogeneizador Stomacher Lab Blender 400 (Seward Medical – Londres, UK). Posteriormente se realizó el filtrado de la muestra en papel Whatman N°2 (Schleicher & Schuell, Dassel; Germany) Se mezclaron iguales cantidades de sobrenadante y solución de ácido 2-tiobarbitúrico (ICN Biomedicals Inc, Ohio, USA) en una concentración de

0,02M incubándose luego las mismas durante toda la noche hasta el desarrollo de un color rosado. Se determinó el desarrollo de color a 530nm en un espectrofotómetro UV-Visible Lambda Bio-20 (Perkin Elmer Corp. – Norwalk, CT, USA) y los valores se compararon con los de una curva estándar realizada con 1,1,3,3 tetraepoxipropano, TEP (Sigma, Stéinheim, Germany). Los resultados fueron expresados en mg de malonaldehído, MDA/kg de carne fresca.

#### **III.2.3.4. Contenido de vitamina E**

Las vitaminas  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol se determinaron por cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC), de acuerdo a la metodología modificada de Butriss & Diplock (1984) y aplicada para carnes por Descalzo *et al.* (2005) tal y como se describe en el apartado III.2.1.6. para las dietas/alimentos.

#### **III.2.3.5. Contenido de selenio**

El contenido de selenio se determinó sobre el corte de pechuga. La muestra fue previamente secada en estufa 72 h a 60 °C. La metodología empleada fue la explicada en la sección III.2.2.5. para las dietas/alimentos.

### **III.2.3.6. Evaluación sensorial**

Para la evaluación sensorial se utilizaron 10 pollos por tratamiento. Estos fueron congelados inmediatamente tras el sacrificio en freezer a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de la evaluación, luego fueron descongelados en heladera a  $4 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , por 48hs . Una vez descongelados se separaron los cortes pechuga y pata-muslo. Luego de retirarles la piel y el hueso, las muestras fueron cocinadas durante siete minutos en una grilladora de plancha doble contacto eléctrica precalentada lo cual equivale a una temperatura interna final de  $71\text{ }^{\circ}\text{C}$  según los lineamientos generales de AMSA (1995). Luego de retirar los bordes y la grasa, cada muestra fue cortada en cubos de  $1\text{cm} \times 1\text{cm}$  y fue inmediatamente servida a un panel de ocho jueces entrenados quienes los evaluaron siguiendo los lineamientos generales de AMSA (1996) y la normativa general de IRAM para análisis sensorial.

Los extremos de las escalas correspondieron a la intensidad del atributo. Se evaluó el aroma, off-aroma, flavo, off flavor, terneza y jugosidad. En figura III.1. Se puede visualizar la planilla que usaron los evaluadores que conformaron el panel sensorial.

Se realizó un perfil sensorial de las muestras provenientes de los cuatro tratamientos para lo cual se llevó a

cabo un análisis descriptivo cuantitativo (QDA) en la que se aplicó el siguiente modelo estadístico descrito en la ecuación 6.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j(i) + \gamma_k + (\alpha\gamma)_{ik} + (\gamma\beta)_{kj(i)} + \varepsilon_{j(ik)} \quad (\text{ecuación 6})$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = es el  $j$ ésimo evaluador de la  $i$ ésima repetición al  $k$ ésimo tratamiento

$\mu$  = media general

El término  $\gamma$  es el efecto de tratamiento fijo. Los términos  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $(\alpha\gamma)$ ,  $(\gamma\beta)$  y  $\varepsilon$  son variables aleatorias normales con medias 0 y varianzas apropiadas.

Se efectuaron dos pruebas independientes, una para cada corte.

### ***Planilla de Evaluación Sensorial***

Nombre:

Fecha:

Aroma

\_\_\_\_\_

Extremadamente Débil Intenso Extremadamente fuerte

Aromas Extraños (off aromas)

\_\_\_\_\_

Extremadamente Débil Intenso Extremadamente fuerte

Aromas Extraños

Muestra	Descripción

Flavor

\_\_\_\_\_

Extremadamente débil Intenso Extremadamente fuerte

Sabores extraños

\_\_\_\_\_

Extremadamente débil Intenso Extremadamente fuerte

Flavors Extraños

Muestra	Descripción

Terneza

\_\_\_\_\_

Extremadamente duro Extremadamente tierno

Figura III.1 Planilla de evaluación sensorial

### III.3. Tratamiento de datos

Cada uno de los parámetros químicos determinados en el caso de las dietas fue analizado utilizando análisis de varianza (ANOVA) a una vía y considerando el tipo de dieta como fuente de variabilidad. En los casos que se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) se utilizó la prueba a posteriori de comparaciones múltiples de Duncan.

Los datos obtenidos a partir de los análisis químicos realizados sobre la carne de pollo se evaluaron utilizando análisis de varianza, a una o dos vías según el parámetro. En el caso del ANOVA a una vía se estudió el tipo de tratamiento como fuente de variabilidad. Para el ANOVA de dos vías, las fuentes de variabilidad fueron el tipo de corte y el tratamiento. En los casos que hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) se utilizó la prueba a posteriori de comparaciones múltiples de Duncan. Cuando hubo pérdida de datos se aplicó el procedimiento de modelos lineales generalizados (generalized linear model, GLM) y en los casos que hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) se utilizó la prueba a posteriori de comparaciones múltiples Tukey. Para estimar las correlaciones entre distintos parámetros se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson.

Todos los datos fueron expresados como medias y en cada variable analizada se indicó el coeficiente de variación del ensayo.

Los programas informáticos utilizados para la recopilación e interpretación de datos fueron, respectivamente, Excel 2007 y los paquetes estadísticos SAS/STAT® Software, versión 9.1 y R Development Core Team (2012). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

# CAPÍTULO IV



## **IV. Resultados y Discusión**

### **IV.1. Formulación y evaluación de las dietas/alimentos**

En la primera fase del presente trabajo se formularon diferentes tipos de alimentos (iniciador, de crecimiento y de terminación) destinados a la alimentación de pollos con diferentes tipos de dietas: dieta control a base de maíz y soja y dietas enriquecidas con aceites de lino y/o pescado tal como se indica en la tabla III.1. (apartado III.1.1.). Posteriormente, los alimentos formulados fueron evaluados nutricionalmente.

También se determinó el contenido en selenio, en el alimento de terminación de la dieta patrón con la finalidad de averiguar si las estimaciones en este micronutriente se correspondían con el contenido real. Además, se valoró el contenido en tocoferoles (alfa y gama) para verificar que todas las dietas contenían concentraciones similares y poder asegurar que todas estaban protegidas al mismo nivel.

Finalmente, se determinó la estabilidad oxidativa durante el periodo de uso de los alimentos formulados.

Previamente a la formulación de los alimentos, se realizó un análisis del perfil lipídico de los dos tipos de aceites utilizados para enriquecer las dietas en ácidos grasos n-3.

### **IV.1.1. Evaluación del perfil lipídico de los aceites de lino y pescado**

Los resultados del perfil lipídico de los aceites de lino y pescado utilizados para enriquecer las dietas en ácidos grasos n-3 se muestran en la tabla IV.1.

Como puede observarse en dicha tabla, el aceite de pescado presentó mayores valores de ácidos grasos de cadena larga como el EPA Y DHA. Por otro lado, el aceite de lino mostró niveles más elevados respecto a los ácidos grasos n-3 linolénico (ALA) y n-6 linoleico (AL). El contenido de omega-3, ALA, en el aceite de lino fue menor a los valores del 45-60% reportados por Cunanne *et al.* (1995) y Jimenez *et al.* (2013), pero muy similares a los valores reportados por Antruejo *et al.* (2011) que fue de 34%, usando aceite de lino de origen argentino. El valor de EPA mas DHA en el aceite de pescado fue similar al reportado por López-Ferrer *et al.* (1999) que usaron aceite de pescado comercializado en Alemania por la firma Nagel Co. Se debe considerar que existe una alta variabilidad en la composición de los ácidos grasos dependiendo el tipo de aceite de pescado utilizado, de su origen y de la alimentación que el pez haya tenido ( Mourente *et al.*, 2005; Menoyo *et al.*, 2005; Cornejo *et al.*, 2008; Ozöğul & Ozöğul, 2007).

Tabla IV.1 Perfil lipídico de los aceites de lino y de pescado.

Ácidos grasos	Ácidos grasos (%)	
	Aceite de pescado	Aceite de lino
C14:0	7,87	0,04
C15:0	1,12	0,02
C16:0	22,95	8,88
C16:1	10,08	0,09
C17:0	1,05	0,07
C17:1	1,29	ND
C18:0	5,27	5,9
C18:1	25,37	21,96
C18:2 n-6 AL	2,29	27,96
C18:3 n-3 ALA	7,37	34,26
C20:0	1,48	0,13
C20:3 n-6	0,11	ND
C20:4 n-6	0,89	ND
C20:5 EPA	6,32	ND
C22:5 DPA	0,63	ND
C22:6 DHA	4,76	ND

ND: no detectado

#### IV.1.2. Formulación de las dietas/alimentos

Los alimentos utilizados (iniciación, crecimiento y terminación) para los cuatro tipos de dietas testadas (control, con aceite de lino, con aceite de pescado y con ambos tipos de aceites) fueron formulados para cubrir las recomendaciones nutricionales del manual de crianza para pollo parrillero de la línea Cobb (2004) y de proteína ideal (Rostagno *et al.*, 2005), de manera de permitir al animal manifestar todo su potencial de desarrollo. Además, los aceites de lino y/o pescado se incorporaron en diferentes cantidades para no superar 4-5% de inclusión en la dieta (Cherian *et al.*, 1996; Chanmugan *et al.*, 1992; Surai & Park, 2000; Jeung-Horng *et al.*, 2002; Bou *et al.*, 2004; Rymer & Givens, 2010), dado que niveles superiores han

sido discutidos por su susceptibilidad a la oxidación con la consecuente aparición de sabores extraños (Lopez-Ferrer *et al.*, 1999; Bou *et al.*, 2001). La inclusión de aceites ricos en n-3 en los niveles señalados permite bajar la relación n6/n3 a valores inferiores a 4-5, en las dietas formuladas y lograr así carne con similar relación, las cuales han sido recomendadas como óptimas para la salud humana (Simopoluos, 1999a; ISSFAL, 2000; AFFSA, 2001).

Para la formulación de las dietas se utilizó el software Nutrition 2.0, los resultados obtenidos se muestran en las tablas IV.2., IV.3. y IV.4.

En la tabla IV.2. se muestra la composición del alimento iniciador también llamado alimento pre-experimental, esta fue la misma independientemente de la dieta seguida por los pollos.

Tabla IV.2 Formulación del alimento iniciador (I) utilizado en los cuatro tipos de alimentación testadas.

<b>Ingredientes</b>	<b>(%)</b>
Maíz	49,58
Soja poroto vapor	10,00
Harina de Soja 40	17,92
Harina de girasol 29	13,30
Harina de carne 45	5,63
Aceite de girasol	2,00
Conchilla	0,31
Sal	0,34
DL-Metionina	0,26
L-Lisina HCl	0,33
L-Treonina	0,03
Núcleo Vit.Min.	0,20
Coccidiostato	0,05
Colina HCl	0,05

Este alimento se suministró durante los primeros 21 primeros días de vida de las aves. Como se puede observar el componente mayoritario fue el maíz (aproximadamente el 50% de la composición) seguido de la soja (aproximadamente 28% del alimento).

Cabe destacar que la fuente de aceite generalmente empleada en Argentina es el aceite de girasol por su bajo costo y buena digestibilidad. La fórmula utilizada corresponde a dietas típicas usadas en el país en base a maíz y complejo soja. La dieta iniciadora debido a su alto contenido proteico (23%), fósforo y calcio requirió de una mayor proporción de harina de carne a expensas de la fuente de soja, que es usada en mayor cantidad en las otras fases de la alimentación.

En la tablas IV.3. y IV.4 están indicadas las formulaciones para los alimentos utilizadas en las fases propiamente experimentales de crecimiento y terminación de los pollo para las distintas dietas evaluadas. La variación en las dietas estuvo principalmente marcada por la inclusión de diferentes fuentes de aceite. En las demás materias primas solo se presentaron leves modificaciones para ajustarse a las necesidades de las aves en lo que respecta principalmente energía, proteína, minerales y vitaminas. En su etapa inicial de desarrollo (1-21días), las aves requieren mayor concentración protéica, luego la misma baja y sube la energía (NRC, 1994).

Tabla IV.3 Formulación de los alimentos de crecimiento (C) para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP).

Ingredientes (%)	Alimentos/dietas (nº dieta)			
	C-MS (1)	C-AL (2)	C-ALP (3)	C-AP (4)
Maíz	53,22	51,46	51,44	53,18
Harina Soja 45	31,41	33,01	33,01	31,42
Harina Trigo	4,51	4,51	4,52	4,51
Harina Carne	4,48	4,45	4,45	4,48
Aceite de lino	-	4,03	3,04	-
Aceite de pescado	-	-	2,00	4,00
Aceite de soja	4,76	1,00	-	0,80
Conchilla	0,70	0,70	0,70	0,70
Sal	0,33	0,33	0,33	0,33
Metionina	0,23	0,21	0,21	0,23
Lisina	0,05	0,00	0,00	0,05
Núcleo Vit. Min	0,20	0,20	0,20	0,20
Treonina	-	-	-	-
Coccidiostático	0,05	0,05	0,05	0,05
Colina	0,05	0,05	0,05	0,05

Tabla IV.4 Formulación de los alimentos de terminación (T) para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP).

Ingredientes (%)	Alimentos/dietas (nº dieta)			
	T-MS (1)	T-AL (2)	T-ALP (3)	T-AP (4)
Maíz	57,50	57,13	57,07	57,46
Harina Soja 45	27,38	27,69	27,69	27,39
Harina Trigo	4,42	4,42	4,47	4,42
Harina Carne	4,25	4,24	4,24	4,25
Aceite de lino	-	4,03	3,04	-
Aceite de pescado	-	-	2,00	4,00
Aceite de soja	4,96	1,00	-	0,99
Conchilla	0,68	0,68	0,68	0,68
Sal	0,33	0,33	0,33	0,33
Metionina	0,22	0,22	0,22	0,22
Lisina	0,03	0,02	0,02	0,03
Núcleo Vit. Min	0,15	0,15	0,15	0,15
Treonina	-	-	-	-
Coccidiostático	0,05	0,05	0,05	0,05
Colina	0,03	0,03	0,03	0,03

### **IV.1.3. Valoración nutricional de las dietas/alimentos**

Los alimentos formulados en el apartado anterior (IV.1.2.) fueron evaluados nutricionalmente tanto teóricamente, en base a tablas nutricionales provistas por el programa utilizado en la formulación (N-utrition 2.0), como experimentalmente, mediante la determinación de la materia seca, energía metabolizable, contenido en proteína y perfil lipídico, siguiendo la metodología descrita en el apartado de materiales y métodos (III.2.1.).

En la tabla IV. 5. viene indicada la valoración nutricional teórica para el alimento de iniciación.

El alto contenido de ácido graso linolenico en el aceite de girasol (FEDNA) hace que la relación omega 6/ omega 3 en la dieta haya sido también alta

Los nutrientes presentes, teóricamente, en los distintos alimentos de crecimiento y terminación, vienen indicados en las tablas IV.6. y IV.7., respectivamente. Como se puede observar, las dietas fueron formuladas considerando que tenían que ser isocalóricas e isoproteicas y que el contenido graso tenía que ser lo más similar posible, considerando que las fuentes lipídicas diferían en función de la dieta.

Tabla IV.5 Valoración nutricional teórica para el alimento iniciador (I) utilizado en los cuatro tipos de alimentación testadas.

<b>Nutrientes</b>	<b>(%)</b>
Proteína	22,00
Lípidos	7,09
Fibra cruda	5,13
Cenizas	4,73
Ca	0,90
Lisina	1,33
Met+Cis	0,98
Treonina	0,85
Triptófano	0,24
Valina	1,13
Arginina	1,55
Lisina D (%)	1,19
Met+cis D (%)	0,89
Treonina D (%)	0,85
Triptófano D (%)	0,24
Valina D (%)	1,00
Arginina D (%)	1,45
C16:0	0,99
C18:0	0,39
C18:1	2,13
C18:2 n-6 AL	3,43
C18:3 n-3 ALA	0,37
C18:2/18:3	24,08
EMV (kcal/kg)	3250

La incorporación de las distintas fuentes de omega-3 produjo un incremento del ácido C18:3 cuando se usó aceite de lino. Por otro lado la incorporación de aceite de pescado de origen argentino conllevó un incremento en las concentraciones de C20:5 y C22:6 .

Tabla IV.6 Valoración nutricional teórica para el alimento de crecimiento (C) para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP)

Nutrientes (%)	alimentos/dietas (nº dieta)			
	C-MS (1)	C-AL (2)	C-ALP (3)	C-AP (4)
Proteína (%)	21,50	21,50	21,50	21,50
Lípidos (%)	8,05	8,25	8,26	8,09
Lisina D (%)	1,04	1,04	1,04	1,04
Met+Cis D (%)	0,80	0,80	0,80	0,80
Triptofano D (%)	0,23	0,23	0,23	0,22
Treonina D (%)	0,71	0,74	0,74	0,71
Ca	0,90	0,90	0,90	0,90
PD	0,40	0,40	0,40	0,40
C16:0	1,10	1,02	1,16	1,23
C16:1	0,034	1,03	0,18	0,34
C18:0	0,4	0,47	0,47	0,41
C18:1	2,4	2,24	2,20	2,06
C18:2 n-6 AL	4,07	3,25	2,62	2,23
C18:3 n-3 ALA	0,44	1,50	1,10	0,16
C20:4 n-6	-	-	0,03	0,02
C20:5 EPA	-	-	0,15	0,31
C22:5 DPA	-	-	0,06	0,12
C22:6 DHA	-	-	0,19	0,37
18:2/18:3	9,25	2,17	2,37	14,12
n-3	0,44	1,50	1,50	0,96
n-6	3,99	3,17	2,62	2,21
n-6/n-3	8,99	2,11	1,71	2,30
EMV (Kcal kg <sup>-1</sup> ) 3450				

Tabla IV.7 Valoración nutricional teórica para el alimento de terminación (T) para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP)

Nutrientes (%)	Alimentos/dietas (nº dieta)			
	T-MS (1)	T-AL (2)	T-ALP (3)	T-AP (4)
Proteína (%)	19,4	19,5	19,5	19,5
Lípidos (%)	8,34	8,41	8,42	8,38
Lisina D (%)	0,92	0,92	0,92	0,92
Met+Cis D (%)	0,76	0,76	0,76	0,76
Triptofano D (%)	0,20	0,20	0,20	0,20
Treonina D (%)	0,66	0,66	0,67	0,67
Ca (%)	0,85	0,85	0,85	0,85
PD (%)	0,38	0,38	0,38	0,38
C16:0	1,14	1,048	1,0724	1,25

Tabla IV.8 (continuación) .Valoración nutricional teórica para el alimento de terminación (T) para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP)

Nutrientes (%)	Alimentos/dietas (nº dieta)			
	T-MS (1)	T-AL (2)	T-ALP (3)	T-AP (4)
C16:1	0,04	0,03	0,18	0,35
C18:0	0,41	0,47	0,45	0,44
C18:1	2,51	2,31	2,10	2,15
C18:2 n-6 AL	4,26	3,38	2,51	2,40
C18:3 n-3 ALA	0,46	1,50	1,24	0,17
C20:4 n-6	-	-	0,02	0,06
C20:5 EPA	-	-	0,10	0,31
C22:5 DPA	-	-	0,01	0,11
C22:6 DHA	-	-	0,19	0,37
18:2/18:3	9,37	2,25	2,35	14,29
n-3	0,46	1,50	1,50	0,96
n-6	4,18	3,38	2,51	2,40
n-6/n-3	9,09	2,25	1,67	2,47
EMV (kcal Kg-1) 3500				

En las tablas IV.8 y IV.9. se indica la valoración nutricional obtenida experimentalmente para los alimentos de crecimiento y terminación formulados para las cuatro dietas objeto del estudio.

Tabla IV.9 Valoración nutricional en base a los valores de materia seca, energía metabolizable verdadera (EMV) y contenido en proteínas para el alimento de crecimiento (C) para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP)

Alimentos/dietas (nº dieta)	Materia seca (%)	EMV (Kcal kg <sup>-1</sup> )	Proteína (%)
C-MS (1)	89,4 <sup>a</sup>	3388 <sup>a</sup>	21,6 <sup>a</sup>
C-AL (2)	89,3 <sup>a</sup>	3329 <sup>a</sup>	21,5 <sup>a</sup>
C-ALP (3)	89,0 <sup>a</sup>	3350 <sup>a</sup>	21,4 <sup>a</sup>
C-AP (4)	89,1 <sup>a</sup>	3305 <sup>a</sup>	21,3 <sup>a</sup>
CV	0,66	1,78	1,02

Medias en una misma columna con diferente letra difieren estadísticamente (p<0,05)

CV: coeficiente de variación; EMV: energía metabolizable verdadera.

Tabla IV.10 Valoración nutricional en base a los valores de materia seca, energía metabolizable verdadera (EMV) y contenido en proteínas para el alimento de crecimiento (T) para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP).

Alimentos/dietas (nº dieta)	Materia seca (%)	EMV (Kcal kg <sup>-1</sup> )	Proteína (%)
T-MS (1)	88,9 <sup>a</sup>	3486 <sup>a</sup>	19,9 <sup>a</sup>
T-AL (2)	89,0 <sup>a</sup>	3475 <sup>a</sup>	19,7 <sup>a</sup>
T-ALP (3)	89,5 <sup>a</sup>	3420 <sup>a</sup>	19,6 <sup>a</sup>
T-AP (4)	89,5 <sup>a</sup>	3499 <sup>a</sup>	19,9 <sup>a</sup>
CV	1,03	2,00	1,08

Medias en una misma columna con diferente letra difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ )

CV: coeficiente de variación; EMV: energía metabolizable verdadera

Los resultados obtenidos indican que, tanto para los alimentos de crecimiento como de terminación, el porcentaje de materia seca, EMV y contenido proteico fueron similares independientemente del tipo de dieta considerada. Esta situación era esperable puesto que se usaron los mismos tipos de maíz, harina de soja, afrechillo de trigo y harina de carne para todas ellas. Si bien la fuente de grasa fue de origen diferente y adicionada en distintas proporciones, las dietas se formularon para que todas fueran isoenergéticas e isoproteicas, lo que avalan los resultados experimentales obtenidos. Así, los valores de EMV y proteína fueron muy similares a los estimados mediante la valoración teórica de los alimentos (tablas IV.6. y IV.7.).

El porcentaje de materia seca en las dieta es importante en alimentación animal porque es necesario que tengan un contenido similar de agua, ya que las aves tienen una

capacidad de consumo limitada y la humedad también podría afectar la presentación física del alimento. Además, es un dato importante para corroborar la formulación de las mismas y poder comparar datos interlaboratorios.

Los resultados de los perfiles lipídico para los distintos tipos de alimentos y dietas se muestran en las tablas IV.10. y IV.11.

En la tabla IV.10. se puede observar que los contenidos promedio de EPA (C20:5) y DHA (C22:6) en las dietas 3 (ALP) y 4 (AP) reflejan la inclusión de aceite de pescado en ellas. La dieta 4, con un contenido de aceite de pescado del 4%, presentó prácticamente el doble de EPA, DPH y DHA que la dieta 3. Esta última contenía sólo 2% de dicho aceite. Por otro lado, el contenido elevado del ácido graso  $\alpha$ -linolénico (C18:3) que presentó la dieta 2 obedece al hecho de que en la formulación de la misma se incluyó aceite de lino con alto contenido de este ácido graso (tabla II.1.). Las relaciones promedio de n6/n3 entre los alimentos iniciador y terminador fueron de 11,8; 1,42; 1,21 y 1,98 para las dietas 1, 2, 3 y 4 respectivamente. La relación omega-6/omega-3 en la dieta maíz soja fue similar a reportada por Azcona *et al.* (2008b, 2011) y Betty *et al.* (2009). Se puede concluir así que se logró así el objetivo de obtener dietas ricas en omega -3 con relación n-6/n-3 inferior a 4.

El contenido de ALA en la dieta con 4% de aceite de lino fue similar al reportado por López-Ferrer *et al.* (1999) y Cortinas *et al.* (2004). Por otro lado, en la dieta con aceite de pescado al 4% se obtuvieron valores de EPA similares (2,11% vs 1,80%) y los de DHA superiores (4% vs 2,9%) a los reportados por Bou *et al.* (2004) utilizando 2,5% aceite de pescado. Por otro lado, López-Ferrer *et al.* (2001) usando aceite de pescado al 4% en la dieta informaron valores de EPA y DHA de 0,6% y 5,49% respectivamente. Trabajos anteriores (Cherian *et al.*, 1996) en los que se utilizó aceite de arenque al 3,5% reportaron valores de 8,5% y 7,4% de EPA y DHA respectivamente. Los autores no presentaron la composición de los aceites en sus trabajos. El impacto de la inclusión de aceite de pescado en la dieta sobre el contenido de los diferentes ácidos grasos dependerá fundamentalmente del tipo de pescado, de su origen y de cómo fueron alimentados los mismos (Moreira *et al.*, 2001; Mourente *et al.*, 2005; Menoyo *et al.*, 2005; Ozöğul & Ozöğul, 2007).

Expresando los resultados en por ciento de la ración (tabla IV.11) se puede comparar los datos prácticos con los teóricos establecidos en la formulación de las dietas. La relación n6/n3 promedio para la dieta control se encontró en valores cercanos a 11,8 y las dietas enriquecidas presentaron una relación de 1,4; 1,2 y 1,9 para las dietas 2, 3 y 4 respectivamente. Los valores teóricos correspondientes a estas dietas fueron de 9,1; 2,1; 1,7 y 2,4 (tablas III.4 y III.5). La

presentación de los resultados en la tabla IV.11 se realiza a los fines de demostrar que las dietas formuladas (tabla IV.6 y Tabla IV.7) fueron correctamente elaboradas y las concentraciones halladas de los diferentes ácidos grasos en la raciones coinciden con las propuestas establecida para el de desarrollo de la experiencia.

Tabla IV.11 Perfil lipídico para el alimento de crecimiento (C) y terminación (T) para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP). Resultados expresados como gramos de ácidos grasos por 100 gramos de grasa.

Acido graso (%)	Alimentos/dietas (nº dieta)							
	C-MS (1)	T-MS (1)	C-AL (2)	T-AL (2)	C-ALP (3)	T-ALP (3)	C-AP (4)	T-AP (4)
C14:0	0,43	0,35	0,43	0,42	1,25	1,34	2,78	3,00
C16:0	11,82	13,00	11,76	11,44	13,5	12,45	14,20	13,10
C16:1	0,39	0,54	0,40	0,39	1,98	1,88	3,96	3,98
C17:0	0,17	0,18	0,52	0,98	0,58	0,52	0,00	0,00
C17:1	0,17	0,12	0,13	0,10	0,18	0,40	0,00	0,00
C18:0	4,81	4,73	5,24	5,00	4,98	5,11	4,85	4,91
C18:1	29,67	27,93	26,47	25,08	24,9	26,00	28,90	30,50
C18:2 n-6 AL	48,00	48,59	32,84	32,27	27,98	27,84	28,85	29,59
C18:3 n-3 ALA	4,10	4,15	22,11	23,99	18,93	18,91	6,02	4,91
C20:4 n-6	-	-	-	-	0,38	0,37	0,30	0,30
C20:5 EPA	-	-	-	-	1,75	1,82	3,60	3,71
C22:5 DPA	-	-	-	-	0,69	0,53	1,36	1,39
C22:6 DHA	-	-	-	-	2,26	2,15	4,70	4,20
AGS	17,23	18,26	17,95	17,84	20,31	19,42	21,83	21,01
AGMI	30,23	28,59	27,00	25,57	27,06	28,28	32,86	34,48
AGPI	52,90	52,74	54,95	56,26	51,99	51,62	44,83	44,10
n6	45,64	48,59	32,84	32,27	28,36	28,21	29,15	29,89
n-3	4,10	4,15	22,11	23,99	23,63	23,41	15,68	14,21
n6/n3	11,90	11,71	1,49	1,35	1,20	1,21	1,86	2,10

Tabla IV.12 Perfil lipídico para el alimento de crecimiento (C) y terminación (T) para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP). Resultados expresados como % de ácidos grasos por ración.

Acido graso (%)	Alimentos/dietas (nº dieta)							
	C-MS (1)	T-MS (1)	C-AL (2)	T-AL (2)	C-ALP (3)	T-ALP (3)	C-AP (4)	T-AP (4)
C14:0	0,04	0,03	0,04	0,04	1,25	1,34	2,78	3,00
C16:0	0,95	1,08	0,97	0,96	13,5	12,45	14,20	13,10
C16:1	0,03	0,05	0,03	0,03	0,16	0,16	0,32	0,33
C17:0	0,01	0,02	0,04	0,08	0,05	0,04	0,00	0,00
C17:1	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,03	0,00	0,00
C18:0	0,39	0,39	0,43	0,42	0,41	0,43	0,39	0,41
C18:1	2,39	2,33	2,18	2,11	2,06	2,19	2,34	2,56
C18:2 n-6 AL	3,93	4,05	2,71	2,71	2,31	2,34	2,33	2,48
C18:3 n-3 ALA	0,33	0,35	1,82	2,02	1,56	1,59	0,49	0,41
C20:4 n-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,03	0,02	0,03
C20:5 EPA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,15	0,29	0,31
C22:5 DPA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,05	0,11	0,12
C22:6 DHA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,18	0,38	0,35
AGS	1,39	1,52	1,48	1,50	1,68	1,64	1,77	1,76
AGMI	2,43	2,38	2,23	2,15	2,24	2,38	2,66	2,89
AGPI	2,43	2,38	2,23	2,15	2,24	2,38	2,66	2,89
n6	n-6	3,93	4,05	2,71	2,71	2,34	2,34	2,36
n-3	0,33	0,35	1,82	2,02	1,95	1,97	1,27	1,19
n6/n3	11,90	11,71	1,49	1,35	1,20	1,21	1,86	2,10

#### IV.1.4. Contenido de selenio en las dietas

Con el objetivo de verificar que el selenio adicionado era el estimado y detectar posibles alteraciones del contenido durante la formulación de los alimentos, se valoró el contenido de este elemento en el alimento de terminación formulado para la dieta control (maíz y soja, sin aceites añadidos) sin y con adición del complejo vitamínico-mineral Premix y con este complejo y selenio. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla IV.12.

Tabla IV.13 Contenido de selenio en el alimento de terminación formulado para la dieta control (maíz y soja), con y sin el complejo vitamínico-mineral Premix y selenio.

Características del alimento	Concentración Se (mg/kg)	CV (%)
Sin Premix	0,095 c	2,31
Con Premix	0,293 b	2,66
Con Premix + Se orgánico	0,535 a	1,06

Medias en una misma columna con diferente letra difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ )

CV: coeficiente de variación

Estos resultados permitieron establecer el valor basal de selenio en el alimento de terminación, destinado a la dieta patrón a base de maíz y soja, siendo este de 0,095 mg/kg. Este valor fue similar a los reportados por Sevcikova *et al.* (2006) y Wang *et al.* (2008) que determinaron contenidos de 0,13 y 0,08 mg/kg. Los primeros autores usaron una dieta compuesta principalmente por 35% trigo, 28% maíz y 30% de harina de

soja, por otro lado Wang *et al.* (2008) utilizaron dietas con 60% de maíz y 30% de harina de soja.

La concentración de selenio en el alimento adicionado del complejo Premix fue similar a la estimada. En efecto, la concentración estimada de Se en el complejo vitamino-mineral fue de 140 mg/kg de premix vitamínico mineral (apartado III.1.1). Considerando que la fórmula del alimento de terminación incluyó un 0,15% de premix vitamínico mineral, la cantidad teóricamente agregada fue de 0,21 mg de Se/kg de alimento. Si se considera que el valor basal del selenio fue de 0.095 ppm, la cantidad de Se supuestamente presente en el alimento con Premix debería ser de 0,305 ppm y el valor experimental obtenido fue de 0,293 ppm, por lo tanto muy similar.

Cabe destacar que en Argentina no existen valores reales disponibles de contenido de selenio en las materias primas locales, es por ello que se decidió determinar la cantidad de selenio que tenía la dieta de la fase de terminación antes de agregar el premix vitamínico mineral y el selenio orgánico.

#### **IV.1.5.Contenido de vitamina E en las dietas**

Con el propósito de confirmar que todas las dietas tuvieran similar contenido de vitamina E, se escogió una muestra de cada dieta para la fase de crecimiento y de

terminación y se analizó el contenido en alfa tocoferol y gamma tocoferol. Los resultados mostrados en tabla IV.13 son el promedio de cada tratamiento para ambas fases.

Tabla IV.14 Contenido de vitamina E para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP).

Alimentos/dietas (n° dieta)	$\gamma$ -tocoferol <sup>1</sup>	$\alpha$ -tocoferol <sup>1</sup>
MS (1)	28,25 <sup>a</sup>	215,63 <sup>a</sup>
AL (2)	24,94 <sup>ab</sup>	218,49 <sup>a</sup>
ALP (3)	21,53 <sup>bc</sup>	223,34 <sup>a</sup>
AP (4)	18,13 <sup>c</sup>	208,94 <sup>a</sup>
CV (%)	12,7	4,74

Medias en una misma columna con diferente letra difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ ) mg/kg de dieta.

Los valores hallados para el  $\alpha$ -tocoferol resultaron similares en todas las muestras analizadas ( $p < 0,05$ ). En el caso del  $\gamma$ -tocoferol las concentraciones detectadas fueron mayores en las dietas 1 y 2. Esta diferencia puede ser explicada por la inclusión de aceite vegetal, los cuales tienen mayor cantidad de  $\gamma$ -tocoferol (FAO, 2002; Sayago *et al.*, 2007). En la dieta 3 se observaron valores intermedios y la dieta 4, en la que se usó solo aceite de pescado, fue la que presentó valores más bajos de  $\gamma$ -tocoferol.

Por otro lado, para conocer el valor de alfa tocoferol basal se analizó la mezcla de las materias primas, correspondientes al alimento MS de la fase de terminación (sin adición de premix) obteniéndose una concentración de  $2,89 \pm$

0,89 mg/kg de  $\alpha$ -tocoferol. Cuando el análisis se realizó sobre la mezcla de materias primas más el premix, el resultado obtenido fue de  $13,0 \pm 1,01$  mg/kg de  $\alpha$ -tocoferol. El agregado de vitamina E (dl acetato de  $\alpha$ -tocoferol) permitió que todas las dieta tuvieran similar contenido de vitamina E, ya que los aportes de vitamina E por parte de las materia primas que componen la dieta como del premix fue mínimo.

El contenido  $\alpha$ -tocoferol en todas las dietas fue similar a los contenidos reportados por Jensen *et al.* (1999) y Voljc *et al.* (2011) cuando usaron 200 mg de dl acetato  $\alpha$ -tocoferol suplementario.

#### **IV. 1.6. Estabilidad oxidativa de los alimentos formulados**

Con el objetivo de evaluar la estabilidad oxidativa de los alimentos formulados se determinó la acidez libre y la rancidez (índice de peróxido) de los alimentos iniciadores y de terminación durante el periodo de uso de los mismos. Las muestras se analizaron al inicio y al final de cada etapa de alimentación, a los 21 y 35 días para el alimento de crecimiento y a los 36 y 46 días para el de terminación. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla IV.14. En el alimento de crecimiento, los niveles de rancidez (tabla IV.14 y figura IV.1) al comienzo de la experiencia (21 días) se situaron entre 0,48 y 2,22 meq O<sub>2</sub> /kg.

Tabla IV.15 Rancidez y Acidez de los alimentos de iniciación y terminación para la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP).

<b>Alimento de crecimiento</b>						
Dieta	Rancidez <sup>1</sup>			Acidez <sup>2</sup>		
	21 d	35 d	CV <sup>3</sup>	21 d	35 d	CV <sup>3</sup>
MS (1)	0,48 <sup>CB</sup>	1,37 <sup>DA</sup>	8,83	4,05 <sup>Ca</sup>	4,12 <sup>BA</sup>	7,21
AL (2)	0,93 <sup>BB</sup>	1,92 <sup>CA</sup>	5,86	4,43 <sup>bCA</sup>	5,72 <sup>BA</sup>	5,08
ALP (3)	1,91 <sup>AB</sup>	2,97 <sup>BA</sup>	6,60	5,28 <sup>AA</sup>	5,88 <sup>AA</sup>	1,81
AP (4)	2,22 <sup>AB</sup>	3,48 <sup>AA</sup>	6,96	4,96 <sup>abb</sup>	5,14 <sup>AA</sup>	2,63
CV	9,62	5,98		4,03	5,69	

<b>Alimento de terminación</b>						
Dieta	Rancidez <sup>1</sup>			Acidez <sup>2</sup>		
	36 d	42 d	CV <sup>3</sup>	36 d	42 d	CV <sup>3</sup>
MS (1)	0,86 <sup>CB</sup>	2,98 <sup>BA</sup>	7,00	6,72 <sup>AA</sup>	8,59 <sup>AA</sup>	3,27
AL (2)	1,20 <sup>BB</sup>	4,13 <sup>AA</sup>	5,83	5,90 <sup>abb</sup>	8,05 <sup>BA</sup>	2,63
ALP (3)	2,03 <sup>AB</sup>	4,44 <sup>AA</sup>	5,82	6,34 <sup>AA</sup>	7,52 <sup>CA</sup>	4,76
AP (4)	2,01 <sup>AB</sup>	4,32 <sup>AA</sup>	5,33	5,17 <sup>BB</sup>	6,50 <sup>DA</sup>	1,42
CV	6,85	5,98		5,51	1,53	

Medias en una misma columna (minúsculas) o fila (mayúsculas) con diferente letra difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>: miliequivalentes de oxígeno/kg de grasa

<sup>2</sup>: g de ácido linoleico/100 g de grasa

<sup>3</sup>: CV: coeficiente de variación (%)

Además, se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las distintas muestras analizadas, siendo el alimento con menor rancidez el correspondiente a la dieta 1 (dieta control a base de maíz y soja,) y los de mayor rancidez los correspondientes a las dietas 3 y 4, ambas suplementadas con aceite de pescado. Por lo tanto, la inclusión de los aceites fuentes de n-3 produjo un incremento de valores de rancidez en el alimento de crecimiento, más pronunciado cuando el aceite usado fue de pescado. A los 35 días, se detectaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en los niveles de rancidez

entre todos los alimentos. Comparando los valores de rancidez de las muestras de alimentos a los 35 días respecto a los obtenidos a los 21 días se pudo observar que todos aumentaron significativamente sus niveles de peróxidos. No obstante, estas diferencias fueron menos pronunciadas para la dieta patrón a base de maíz-soja y sin aceite añadido (incremento de la rancidez de 0,89meq O<sub>2</sub>/kg grasa) que cuando el alimento contenía aceite de lino (0,99meq O<sub>2</sub>/kg grasa), aceite de lino y pescado (1,06meq O<sub>2</sub>/kg grasa) o únicamente aceite de pescado (1,28meq O<sub>2</sub>/kg grasa). Cabe destacar que las muestras adicionadas con aceite de lino y pescado o únicamente aceite de pescado presentaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), a los 21 días y a los 35 días respecto a la dieta control. Esto se puede explicar considerando que cuando mayores son los niveles de insaturación en los lípidos más aumenta la susceptibilidad a la oxidación (*Kanner et al., 1987*). En este caso, los alimentos con mayores contenidos de n-3 tienen mayor cantidad de ácidos grasos con dobles enlaces siendo por lo tanto más susceptibles a la oxidación. Esta situación se puede corroborar observando la composición en ácidos grasos de los aceites utilizados en la formulación de los alimentos (tabla IV.1). Los niveles de peróxidos encontrados estuvieron dentro de los límites recomendados, los cuales no deberían ser superiores a 5meq/kg de grasa (FAO, 1993; Palmquist, 2002).

La acidez, a los 21 días, fue significativamente diferente ( $p < 0.05$ ) en las muestras de los alimentos 3 y 4 respecto a la dieta 1, oscilando los mismos entre 4 y 5%. Por otro lado, a los 35 días, las muestras correspondientes a los alimentos 2, 3 y 4 presentaron mayores valores de acidez que la muestra de la dieta 1 ( $p < 0.05$ ). Al analizar la evolución en el tiempo de este parámetro de calidad oxidativa (21 vs 35 días) únicamente se pudo observar un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) en el alimento 4.

En el caso del alimento de terminación los valores más elevados de rancidez (tabla IV.14 y figura IV.1), a los 36 días, se obtuvieron para las muestras correspondientes a las dietas 3 y 4, ambas con aceite de pescado, al igual que ocurría con el alimento de crecimiento a los 21 días. Además, los valores más bajos de peróxidos se alcanzaron en la dieta control, mientras que la dieta 2 presentó valores intermedios. A los 42 días, se observaron valores más elevados de rancidez en las muestras enriquecidas con fuentes de omega 3, oscilando entre 4,13 y 4,44 meqO<sub>2</sub>/kg de grasa frente al 2,98 observado para la muestra control. Cabe mencionar que las muestras con aceite de pescado (dieta 3 y 4) que presentaban valores similares el día 36 se comportaron del mismo modo con un incremento aproximado de 1,15 meqO<sub>2</sub>/kg grasa. Es de destacar que a los 42 días no se observaron diferencias ( $p > 0,05$ ) en los niveles de

rancidez entre las muestras enriquecidas con aceites fuentes de n-3, (lino y/o pescado).

La acidez, a los 36 días, fue similar entre los alimentos 1,2 y 3, presentando solo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) la muestra del alimento 4 respecto a los alimentos 1 y 3. Por otro lado, a los 42 días, la acidez en todos los alimentos fue diferente estadísticamente ( $p < 0,05$ ). Comparando los valores de acidez en el periodo 36-42 días se pudo observar que las únicas muestras en las que se presentaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) fueron las correspondientes a los alimentos 2 y 4. Los valores de acidez en el periodo evaluado oscilaron entre 5,17 y 8,59 %. Esto últimos son aceptables ya que se encuentran dentro los límites del 10% recomendado por la FAO (2003).

En Argentina no existe legislación sobre los niveles máximos permitidos para las raciones tanto para acidez como para rancidez, pero si un consenso entre los especialistas en nutrición animal de que las grasas y los aceites que se utilicen no deben superar los valores establecidos de 5meq de oxígeno/kg de grasa y la acidez debería mantenerse en valores inferiores a 10%, sobre todo si se trata de grasas de origen animal. Esto último coincide con lo reportado por Vila & Esteve-García (1996), quienes indicaron que la acidez libre tiene un mayor impacto sobre la energía disponible de los alimentos si

los ácidos grasos son predominantemente saturados en vez de insaturados.

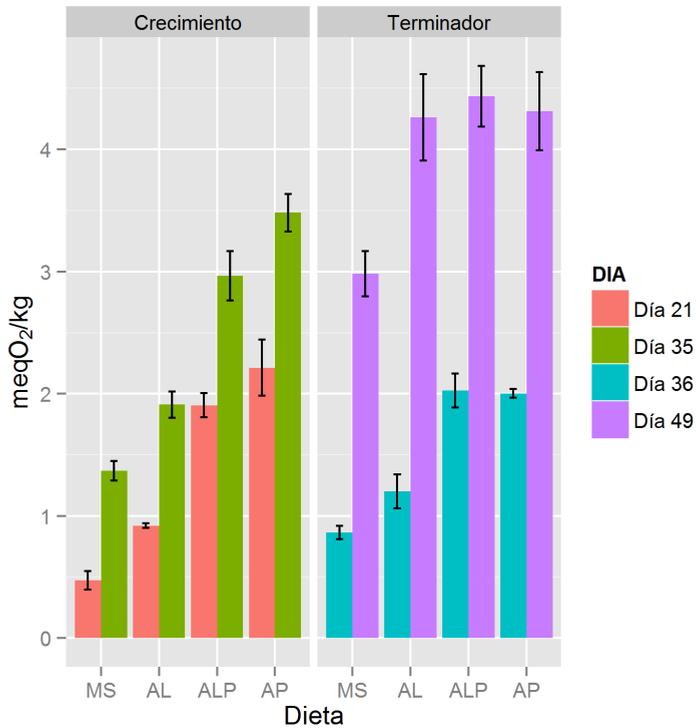


Figura IV.1 Evolución de la oxidación en los alimentos de crecimiento y terminación utilizados en la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP)

Si bien los valores de peróxidos fueron bajos, el aumento de los mismo en el tiempo indicaría que la adición de un antioxidante exógeno como la vitamina E no resulta del todo efectiva para impedir la oxidación de los alimentos y que por lo

tanto deberán cuidarse todos los factores concernientes a la conservación de los mismos cuando se agregan fuentes de ácidos grasos altamente insaturados. Cuando se utilizan aceites altamente insaturados se recomienda además el uso de antioxidantes químicos como lo son BHA, TBHQ o BHT (Lin *et al.*, 1989; Kaitaranta, 1992) que evitan el desarrollo de la rancidez disminuyendo así los efectos negativos en los índices de producción como lo son la ganancia de peso, consumo y conversión (Engberg, *et al.*, 1996).

En situaciones prácticas los alimentos se almacenan en las granjas por un lapso de tiempo no mayor de 7-9 días, en este estudio los alimentos estuvieron almacenados por un periodo aproximado de 15 días lo que podría explicar el aumento de la rancidez detectada en estos.

## **IV.2. Efecto de las dietas “in vivo” sobre los animales**

En la segunda fase del estudio se evaluó el efecto de las dietas “in vivo” sobre los animales para lo cual se consideraron los siguientes parámetros zootécnicos: peso, consumo y conversión. Las medidas se realizaron al final de cada una de las etapas de desarrollo, a los 21 días para la fase de iniciación y 34 y 46 días para las fases de crecimiento y terminación, respectivamente. Se consideran estos parámetros ya que la producción avícola necesita ponderar el impacto del alimento sobre el crecimiento de las aves siendo la ganancia

de peso y la conversión alimenticia los parámetros más utilizados (Cobb, 2012).

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla IV.15. Como se puede observar el peso promedio de los pollos y el consumo de alimento fueron similares independientemente de la dieta seguida. Por lo tanto, los valores de conversión fueron también del mismo orden para las cuatro dietas estudiadas coincidiendo con lo reportado por otros autores que usaron diferentes tipos de fuente lipídica en similares concentraciones (López-Ferrer *et al.*, 1999, 2001; Delezie *et al.*, 2010). Estos resultados vienen a avalar que las dietas fueron isonutritivas, tal y como se pretendía en cuando se formularon y esto coincide con investigaciones previas realizadas por (Azcona *et al.*, 2008b). Como en general, incorporaciones de aceites a niveles bajos no producen efectos negativos en el desarrollo de las aves (Delezie *et al.*, 2010) se destaca que el objetivo de esta tesis no fue evaluar parámetros productivos, los mismos se presentan a los efectos de demostrar que cualquiera de las fuentes de n-3 produjo similar comportamiento en los parámetros de peso, consumo y conversión alimenticia respecto a pollos alimentados con una la dieta control maíz-soja. Con respecto a la evolución en el tiempo de los parámetros zootécnicos evaluados se observa un incremento de todos ellos tal y como era de esperar alcanzándose valores de peso final aceptables conforme a la demanda del mercado.

Tabla IV.16 Parámetros zootécnicos: peso, consumo y conversión en animales alimentados con la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP)

Dietas	Toma de muestra	Peso (g)	Consumo (g)	Conversión
MS (1)	21 días	1057,6	1099,1	1,039
AL (2)		1066,8	1453,1	1,36 <sup>2</sup>
ALP (3)		1040,3	1510,9	1,452
AP (4)		1037,2	1177,9	1,136
CV (%)		1,34	15,44	15,41
MS (1)	34 días	2022,9	3099,5	1,532
AL (2)		2002,2	3445,2	1,721
ALP (3)		1897,4	3519,6	1,855
AP (4)		1973,7	3248,3	1,646
CV (%)		2,78	5,73	8,02
MS (1)	46 días	2672,5	5373,3	2,011
AL (2)		2695,5	5991,5	2,223
ALP (3)		2701,5	5766,3	2,134
AP (4)		2755,8	5339,9	1,938
CV (%)		1,30	5,62	6,11

El peso y la conversión al final de la crianza fueron similares a los reportados por Azcona *et al.* (2008).

### IV.3. Efecto sobre la carne de pollo

En esta tercera parte del trabajo se evaluó la incidencia que tenía el tipo de dieta utilizada sobre las características de la carne. Este estudio se realizó sobre dos cortes (pechuga y pata-muslo). Considerando que la inclusión en la dieta de fuentes grasas con elevado contenido en AGPI, como el aceite de pescado o de lino, puede provocar un aumento en la susceptibilidad a la oxidación (Ahn *et al.*, 1995; Cherian *et al.*, 1996; O'Neill *et al.*, 1998; Maraschiello *et al.*, 1999; Ruiz *et al.*,

1999; Surai & Park, 2000; Grau *et al.*, 2001 a b; Jeun-Horng *et al.*; 2004; Bour *et al.*, 2004) los parámetros analizados fueron aquellos relacionados con la alteración de las grasas (% grasa y perfil lipídico).

Además, el estudio se completo con un análisis sensorial en el que se evaluaron los siguientes parametros (aroma, off aroma, flavor, off flavor, terneza y jugosidad).

Finalmente, se evaluó la estabilidad oxidativa (TBA) y el contenido en vitamina E y selenio de los cortes.

### **IV.3.1. Contenido de grasa intramuscular**

En la tabla IV.16 se muestra el porcentaje de grasa muscular en los dos cortes considerados en este estudio. Los resultados obtenidos indican que el tipo de dieta utilizada no afectó al contenido graso coincidiendo así con los estudios realizados por Crespo y Esteve-García, (2001<sub>c</sub>). Estos autores utilizaron dietas con sebo, aceite de oliva, girasol y lino en niveles de inclusión entre 6 - 8 % y no encontraron diferencias en la cantidad de deposición de grasa en pechuga y pata muslo. Un comportamiento similar se observó en el trabajo de Cortinas *et al* (2004) cuando utilizaron diferentes combinaciones de sebo, aceite de lino y/o pescado en niveles que oscilaron entre el 1 y 7% de inclusión, evaluando la deposición de lípidos en la pata muslo

Tabla IV.17 Contenido de grasa intramuscular (g grasa/100 gramos de tejido) en los animales alimentados con la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP).

<b>Dietas</b>	<b>Grasa (%)</b>
<b>Pechuga</b>	
MS (1)	1,527 <sup>a</sup>
AL (2)	1,375 <sup>a</sup>
ALP (3)	1,539 <sup>a</sup>
AP (4)	1,430 <sup>a</sup>
CV (%)	14,9 <sup>a</sup>
<b>Pata-Muslo</b>	
MS (1)	5,377 <sup>a</sup>
AL (2)	5,833 <sup>a</sup>
ALP (3)	5,928 <sup>a</sup>
AP (4)	5,917 <sup>a</sup>
CV (%)	12,0

Medias con diferente letra difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ )

Es importante destacar que estos autores solo encontraron mayores niveles de deposición de grasa en el corte cuando se uso solo sebo. También, Azcona *et al*, (2008b) usando semilla de chía, colza y lino incluidas en las dietas al 15% no encontraron diferencia en la cantidad de lípidos intramuscular en el corte de pechuga pero si en el corte de pata muslo, situación que puede ser explicada por el efecto detrimental que tuvo la incorporación de semilla de lino en el peso final de los mismos.

Además, se puede observar que el contenido graso del corte muslo-pata (valor promedio de 5,76 %) fue significativamente mayor que el de la pechuga (valor promedio 1,47). El porcentaje de grasa en ambos cortes fue superior a los valores reportados por Azcona *et al*, (2008b) quienes

obtuvieron valores para pechuga de 1,13% y de 2,90% para pata muslo. Cortina-Hernández (2004) también reportó valores sensiblemente inferiores en porcentaje de grasa para el muslo (3,91 %), mientras que en el caso de la pechuga estos fueron similares a los obtenidos en el presente estudio (1,24%).

El desempeño similar que presentaron las aves como así el uso de dietas a las cuales se le adiciono aceites poliinsaturados (soja; lino y /o pescado) explicaría la falta de efecto de composición de la dieta sobre el contenido de grasa intramuscular en ambos cortes, y por lo tanto, se consiguió el objetivo de obtener carne aviar de similar contenido grasa y consecuentemente valor energético.

#### **IV.3.1.1. Perfil lipídico de los diferentes cortes**

Los resultados correspondientes al perfil lipídico en pechuga y pata-muslo en los animales alimentados con las diferentes dietas objeto del presente estudio se muestran en la tabla IV.17 a IV.19

Considerando el “efecto corte”, pechuga vs. pata-muslo, la pechuga presentó mayores valores de ácidos grasos saturados (31,9 vs 28,58%), menor contenido de monoinsaturados (27,68 vs 30,52%), menor contenido de n-6 (27,15 vs 28,27) y mayor relación de Sat/Ins (0,48 vs 0,41%), ( $p < 0.05$ ). La mayor proporción de ácidos grasos saturados en

pechuga que en muslo coincide con los resultados reportados por Ratnayake *et al.*, (1989) y Azcona *et al.*, (2008b).

La relación n-6/n-3 fue estadísticamente diferente para los cortes ( $p < 0,05$ ), los valores fueron 3,20% vs 3,57% para pechuga y pata muslo, coincidiendo estos resultados con lo reportado Crespo & Esteve-García, (2001); Azcona *et al.* (2008b). En lo que respecta al tipo de lípidos, la pechuga tiene mayor contenido de fosfolípidos mientras que la pata muslo tiene mayoritariamente triacilglicéridos (Ratnayake *et al.*, 1989; Cortinas, *et al.*, 2004b; Lorenzo, *et al.*, 2011).

Tabla IV.18 Efecto de las dietas (control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) ) y corte considerado sobre el perfil lipídico . Valores promedios, expresados en g/100 g de grasa.

	AGS	AGMI	AGPI	n-6	n-3	n-6/n-3	AGS/AGI
<b>Corte</b>							
Pechuga	31,90 <sup>a</sup>	27,68 <sup>b</sup>	39,41 <sup>a</sup>	27,15 <sup>a</sup>	12,51 <sup>a</sup>	3,20 <sup>b</sup>	0,48 <sup>a</sup>
Pata muslo	28,58 <sup>b</sup>	30,52 <sup>a</sup>	39,96 <sup>a</sup>	28,27 <sup>a</sup>	11,69 <sup>a</sup>	3,57 <sup>a</sup>	0,41 <sup>b</sup>
<b>Dietas</b>							
MS (1)	27,98 <sup>b</sup>	28,03 <sup>b</sup>	43,80 <sup>a</sup>	39,94 <sup>a</sup>	4,78 <sup>c</sup>	8,46 <sup>a</sup>	0,39 <sup>b</sup>
AL (2)	27,96 <sup>b</sup>	28,51 <sup>ab</sup>	43,34 <sup>a</sup>	29,06 <sup>b</sup>	14,82 <sup>a</sup>	1,93 <sup>b</sup>	0,39 <sup>b</sup>
ALP (3)	31,95 <sup>a</sup>	30,32 <sup>a</sup>	35,93 <sup>b</sup>	19,92 <sup>d</sup>	15,99 <sup>a</sup>	1,25 <sup>c</sup>	0,49 <sup>a</sup>
AP (4)	33,09 <sup>a</sup>	29,53 <sup>ab</sup>	35,68 <sup>b</sup>	22,89 <sup>c</sup>	12,79 <sup>b</sup>	1,88 <sup>b</sup>	0,51 <sup>a</sup>
<b>Trat* Corte</b>	NS	NS	*	NS	**	NS	NS

Medias en una misma columna con diferente letra difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ )

El tipo de dieta suministrada a los animales influyó sobre el perfil lipídico de la carne ( $p < 0,05$ ). Los ácidos grasos saturados se presentaron en mayor proporción en los tratamientos 3 y 4 donde las dietas tenían aceite de pescado

(tabla IV.2). No hubo efecto del agregado de aceite de lino, tratamiento 2, sobre el contenido de saturados respecto del tratamiento 1 (M-S), esto último coincide con la reportado por Azcona *et al.*, (2008b) cuando la fuente semilla de lino con una concentración de aproximadamente 15% -en la dieta.

Los ácidos grasos monoinsaturados también fueron afectados por la fuente dietaria, observándose sólo una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos 1 y 3 (28,03 vs 30,32%).

El contenido de n-6 fue significativamente mayor en el tratamiento 1 con respecto a los demás tratamientos (39,94 vs 29,06; 19,92; 22,89 %), esto se debe a que la dieta del tratamiento 1 tenía aceite de soja que contiene gran cantidad de ácido linoleico en relación a las otras dietas que fueron enriquecidas con fuente de n-3, tal como se indicó en la tabla IV.3

Por otro lado, como hubo interacción significativa entre los factores corte y dieta en cuanto al contenido de ácidos grasos poliinsaturados y n-3 estos parámetros se analizarán, más adelante, por corte y tratamiento (tabla IV.20).

La relación n-6/n-3 fue estadísticamente afectada por la inclusión de las fuentes de n-3, ya sea aceite de lino, pescado o la combinación de ambos. El tratamiento 1 presentó un valor de 8,46 vs. 1,93, 1,25 y 1,88 de los tratamientos 2, 3 y 4

respectivamente. La relación disminuyó drásticamente (en un 70% en el menor de los casos) con la inclusión de n-3 en la dieta, resultados que coinciden con muchos trabajos realizados (Azcona *et al.*, 2008b; Cortinas *et al.*, 2004, 2005; Betti *et al.*, 2009), lo cual resulta deseable desde el punto de vista de la nutrición humana.

En la figura IV.2. se puede observar también la correlación positiva, altamente significativa, entre la relación n-6/n-3 en la dieta y la relación n-6/n-3 en la carne de pollo ( $r=0,9943$ ,  $p<0,01$ ).

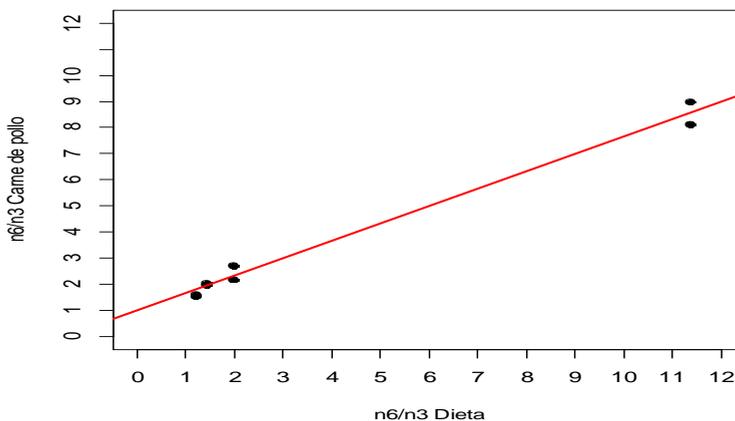


Figura IV.2 Relación n-6/n-3 en la dieta vs relación n-6/n-3 en la carne de pollo.

Esto indica que efectivamente la composición de la dieta puede manejarse de modo de modular la composición de la carne de pollo dentro de los rangos establecidos según el modelo experimental. En este caso, faltarían dietas con

composiciones intermedias para ajustar el comportamiento de esta observación. Sin embargo la correlación positiva muestra que es posible modificar el perfil de AGs en la carne de acuerdo al de la dieta.

En la pechuga (tabla IV.18) el contenido de AGS incrementó significativamente cuando se incluyó en la dieta aceite de pescado por otro lado el contenido de AGPI fue mayor en los tratamientos 1 y 2. En dichos tratamientos se incluyó sólo aceite de origen vegetal con alto contenido de los ácidos grasos linoleico y  $\alpha$ -linolénico. El contenido de n-6 fue superior en el tratamiento 1 donde el aceite de soja fue la principal fuente de aceite.

El contenido de n-3 fue significativamente mayor en los tratamientos 2, 3 y 4 respecto al tratamiento 1. La inclusión de cualquiera de las fuentes de n-3 tuvo un efecto muy marcado sobre la composición de lípidos de pechuga.

En pata-muslo se observó similar comportamiento para los ácidos grasos saturado y monoinsaturados, en lo referente a los ácidos grasos poliinsaturados el contenido de n-3 en el tratamiento 4 fue diferente respecto al tratamiento 1 y al tratamiento 2 y 3 dando un valor intermedio y diferente estadísticamente ( $p < 0,01$ ), lo que explica que aparezca la interacción para corte \* omega-3.

Tabla IV.19 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) sobre el perfil lipídico en los diferentes cortes (g de ácido graso /100 g de grasa).

<b>Ac. Grasos</b>	<b>MS (1)</b>	<b>AL (2)</b>	<b>ALP (3)</b>	<b>AP (4)</b>	<b>CV (%)</b>	<b>Sig</b>
<b>Pechuga</b>						
<b>AGS</b>	29,12 <sup>b</sup>	29,89 <sup>b</sup>	33,73 <sup>a</sup>	34,85 <sup>a</sup>	7,5	<b>**</b>
<b>AGMI</b>	26,68 <sup>a</sup>	27,69 <sup>a</sup>	28,44 <sup>a</sup>	27,92 <sup>b</sup>	7,69	<b>NS</b>
<b>AGPI</b>	45,03 <sup>a</sup>	42,40 <sup>a</sup>	34,46 <sup>b</sup>	36,99 <sup>b</sup>	7,31	<b>**</b>
<b>n-6</b>	39,97 <sup>a</sup>	28,13 <sup>c</sup>	18,51 <sup>d</sup>	22,29 <sup>b</sup>	6,57	<b>**</b>
<b>n-3</b>	5,06 <sup>b</sup>	14,69 <sup>a</sup>	15,95 <sup>a</sup>	14,70 <sup>a</sup>	14,11	<b>**</b>
<b>n-6/n-3</b>	8,08 <sup>a</sup>	1,93 <sup>b</sup>	1,16 <sup>b</sup>	1,56 <sup>b</sup>	20,19	<b>**</b>
<b>AGS/AGI</b>	0,41 <sup>b</sup>	0,43 <sup>b</sup>	0,54 <sup>a</sup>	0,54 <sup>a</sup>	10,51	<b>**</b>
<b>Pata-Muslo</b>						
<b>AGS</b>	26,83 <sup>b</sup>	26,02 <sup>b</sup>	30,17 <sup>a</sup>	31,32 <sup>a</sup>	3,94	<b>**</b>
<b>AGMI</b>	29,39 <sup>a</sup>	29,35 <sup>a</sup>	32,20 <sup>a</sup>	31,15 <sup>a</sup>	7,93	<b>NS</b>
<b>AGPI</b>	43,56 <sup>a</sup>	44,54 <sup>a</sup>	37,82 <sup>b</sup>	34,36 <sup>c</sup>	5,09	<b>**</b>
<b>n-6</b>	39,06 <sup>a</sup>	29,18 <sup>b</sup>	21,34 <sup>c</sup>	23,50 <sup>b</sup>	5,67	<b>**</b>
<b>n-3</b>	4,49 <sup>c</sup>	15,36 <sup>a</sup>	16,04 <sup>a</sup>	10,86 <sup>b</sup>	9,11	<b>**</b>
<b>n-6/n-3</b>	8,84 <sup>a</sup>	1,90 <sup>bc</sup>	1,33 <sup>c</sup>	2,19 <sup>b</sup>	16,81	<b>**</b>
<b>AGS/AGI</b>	0,37 <sup>c</sup>	0,35 <sup>c</sup>	0,43 <sup>b</sup>	0,48 <sup>a</sup>	5,7	<b>**</b>

Sig: significancia NS ( $p > 0,05$ ); \* ( $p < 0,05$ ); \*\* ( $p < 0,01$ ).

Medias en una misma fila con diferente letra difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ ).

### IV.3.1.2. Contenido de ácidos grasos n-3

Los resultados de cada uno de los ácidos grasos por corte se presentan en la tabla IV.19 y a los fines de centrar la atención en los ácidos grasos n-3, objetivo de la presente tesis, se detalla en la tabla IV.20 y 21 el efecto de los tratamientos y del tipo de corte sobre los mismos.

Se puede observar en la tabla IV.20 que hubo interacción significativa ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos por corte en los ácidos grasos C22:6 (DHA) y n-3CL y n-3. Por lo tanto, se

discutirán los efectos principales sólo en lo que se refiere a C18:3 (ALA), C20:5 (EPA) y C22:5 (DPA) (tabla IV.21).

En cuanto a los cortes (tabla IV.21), la pechuga presentó menores valores de ALA con respecto a la pata-muslo (5,49 vs 6,40 %), esto se debe a que en la pata hay más triacilglicéridos y a que el ALA es depositado principalmente como triacilglicérido (Betty *et al.*, 2009). La concentración de EPA no presentó diferencias significativas entre los dos cortes (1,07 vs 1,03%), el DPA fue mayor en la pechuga (1,46 vs 1,21%).

Los tratamientos tuvieron un efecto significativo sobre la concentración de ALA observando en el mayor impacto en el tratamiento AL donde la dieta tenía como única fuente n-3 aceite de lino al 4% de inclusión (11,54%), también el tratamiento ALP tuvo un alto impacto sobre el mismo (7,76 %); valores más bajos se presentaron en los tratamientos AP y MS (1,68 y 2,78% respectivamente) (figura IV.3 y IV.4). El EPA y el DPA aumentaron significativamente respecto a tratamiento 1, cuando se incluyó cualquiera de las fuentes de n-3. La mayor concentración de EPA fue encontrada en los tratamientos ALP y AP donde el aceite de pescado fue incluido en la dieta (1,44 y 1,79 %). Por otro lado la concentración de DHA fue de 8,24 y 11,09% en estos dos tratamientos respectivamente

Tabla IV.20 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) sobre el contenido de ácidos grasos individuales en los diferentes cortes<sup>1</sup>

A. Graso	MS (1)	AL (2)	ALP (3)	AP (4)	CV (%)	Sig.
<b>Pechuga</b>						
C14:0	0,56 <sup>b</sup>	0,70 <sup>b</sup>	1,45 <sup>a</sup>	1,34 <sup>a</sup>	47,96	*
C15:0	1,91 <sup>b</sup>	1,67 <sup>b</sup>	2,08 <sup>ab</sup>	2,53 <sup>a</sup>	21,05	*
C16:0	18,93 <sup>b</sup>	20,13 <sup>ab</sup>	22,84 <sup>a</sup>	22,78 <sup>a</sup>	12,01	*
C16:1	1,64 <sup>b</sup>	2,34 <sup>ab</sup>	3,16 <sup>a</sup>	2,89 <sup>a</sup>	31,93	NS
C17:0	0,59 <sup>ab</sup>	0,42 <sup>b</sup>	0,56 <sup>ab</sup>	0,71 <sup>a</sup>	28,69	NS
C17:1	0,53 <sup>b</sup>	0,38 <sup>c</sup>	0,62 <sup>ab</sup>	0,75 <sup>a</sup>	21,99	**
C18:0	7,21 <sup>ab</sup>	6,97 <sup>ab</sup>	6,81 <sup>a</sup>	7,48 <sup>a</sup>	8,53	NS
C18:1	24,49 <sup>a</sup>	24,97 <sup>ab</sup>	24,66 <sup>a</sup>	24,28 <sup>a</sup>	7,91	NS
C18:2	32,14 <sup>a</sup>	24,00 <sup>b</sup>	15,56 <sup>d</sup>	17,86 <sup>c</sup>	7,76	**
C18:3	2,64 <sup>c</sup>	10,88 <sup>a</sup>	6,84 <sup>b</sup>	1,57 <sup>c</sup>	19,89	**
C20:2	0,59 <sup>a</sup>	0,30 <sup>b</sup>	0,31 <sup>b</sup>	0,34 <sup>b</sup>	20,81	**
C20:3	0,56 <sup>a</sup>	0,36 <sup>b</sup>	0,34 <sup>b</sup>	0,42 <sup>b</sup>	23,34	**
C20:4	4,54 <sup>a</sup>	2,88 <sup>bc</sup>	2,11 <sup>c</sup>	3,53 <sup>b</sup>	20,77	**
C20:5	0,41 <sup>c</sup>	0,60 <sup>c</sup>	1,43 <sup>b</sup>	1,84 <sup>a</sup>	27,38	**
C22:4	1,14 <sup>a</sup>	0,30 <sup>b</sup>	0,20 <sup>b</sup>	0,14 <sup>b</sup>	36,4	**
C22:5	0,88 <sup>b</sup>	1,54 <sup>a</sup>	1,51 <sup>a</sup>	1,89 <sup>a</sup>	31,76	**
C22:6	1,12 <sup>c</sup>	1,30 <sup>c</sup>	6,17 <sup>b</sup>	9,39 <sup>a</sup>	23,98	**
<b>Pata-Muslo</b>						
C14:0	0,58 <sup>c</sup>	0,57 <sup>c</sup>	0,88 <sup>b</sup>	1,16 <sup>a</sup>	9,53	*
C15:0	1,38 <sup>a</sup>	1,29 <sup>a</sup>	1,59 <sup>a</sup>	1,71 <sup>a</sup>	23,94	NS
C16:0	17,59 <sup>b</sup>	16,66 <sup>b</sup>	20,09 <sup>a</sup>	20,94 <sup>a</sup>	4,99	**
C16:1	2,58 <sup>b</sup>	2,76 <sup>b</sup>	4,10 <sup>a</sup>	4,11 <sup>a</sup>	17,95	*
C17:0	0,41 <sup>a</sup>	0,38 <sup>a</sup>	0,32 <sup>a</sup>	0,43 <sup>a</sup>	34,1	NS
C17:1	0,25 <sup>a</sup>	0,26 <sup>a</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,32 <sup>a</sup>	56,96	NS
C18:0	6,89 <sup>a</sup>	7,13 <sup>a</sup>	7,28 <sup>a</sup>	7,08 <sup>a</sup>	7,46	NS
C18:1	25,56 <sup>a</sup>	26,33 <sup>a</sup>	26,75 <sup>a</sup>	26,72 <sup>a</sup>	7,42	NS
C18:2	33,46 <sup>a</sup>	25,68 <sup>b</sup>	18,56 <sup>c</sup>	19,80 <sup>c</sup>	5,14	**
C18:3	2,91 <sup>c</sup>	12,20 <sup>a</sup>	8,68 <sup>b</sup>	1,80 <sup>d</sup>	7,92	**
C20:2	0,47 <sup>a</sup>	0,24 <sup>c</sup>	0,25 <sup>c</sup>	0,32 <sup>b</sup>	16,44	**
C20:3	0,43 <sup>a</sup>	0,33 <sup>b</sup>	0,34 <sup>b</sup>	0,34 <sup>b</sup>	15,6	*
C20:4	3,79 <sup>a</sup>	2,56 <sup>b</sup>	1,99 <sup>b</sup>	2,92 <sup>ab</sup>	26,95	*
C20:5	0,19 <sup>d</sup>	0,71 <sup>c</sup>	1,45 <sup>b</sup>	1,75 <sup>a</sup>	16,17	**
C22:4	0,91 <sup>a</sup>	0,38 <sup>b</sup>	0,20 <sup>c</sup>	0,13 <sup>c</sup>	30,24	**
C22:5	0,67 <sup>b</sup>	1,34 <sup>a</sup>	1,48 <sup>a</sup>	1,37 <sup>a</sup>	19,84	**
C22:6	0,71 <sup>d</sup>	1,10 <sup>c</sup>	4,44 <sup>b</sup>	5,95 <sup>a</sup>	21,53	**

<sup>1</sup> Resultados expresados en g de ácido cada 100 g de grasa

Sig: significancia; NS (p>0,05); \* (p<0,05); \*\* (p<0,01)

Medias en una misma fila con diferente letra difieren estadísticamente (p<0,05)

Tabla IV.21 Significación de los factores corte y dieta incluidos en el modelo para el contenido de n-3 en la carne.

Factor	Ácidos Grasos					
	C18:3	C20:5	C22:5	C22:6	n-3 CL	n-3
Dieta	**	**	**	**	**	**
Corte	**	NS	*	**	**	NS
Dieta*Corte	NS	NS	NS	**	**	*
CV	14,32	22,71	27,31	23,65	20,99	12,16

Significancia: NS ( $p > 0,05$ ); \* ( $p < 0,05$ ); \*\* ( $p < 0,01$ )

Se debe destacar que el tratamiento AL presentó también valores diferentes estadísticamente de DHA respecto al tratamiento MS (1,20 vs 0,92%), lo que indicaría la síntesis del mismo a partir de ALA.

Tabla IV.22 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) sobre el contenido de ácidos grasos n-3 en los diferentes cortes<sup>1</sup>

AG	Corte		ALP (3)	AP (4)
	Pechuga	Pata-Muslo		
C18:3 n-3 ALA	5,49 <sup>a</sup>	6,40 <sup>b</sup>	7,76 <sup>b</sup>	1,69 <sup>d</sup>
C20:5 n-3 EPA	1,07 <sup>a</sup>	1,03 <sup>a</sup>	1,44 <sup>b</sup>	1,79 <sup>a</sup>
C22:5 n-3 DPA	1,46 <sup>a</sup>	1,21 <sup>b</sup>	1,50 <sup>a</sup>	1,63 <sup>a</sup>
C22:6 n-3 DHA	4,50 <sup>a</sup>	3,05 <sup>b</sup>	5,30 <sup>a</sup>	7,67 <sup>a</sup>
n-3 CL	7,02 <sup>a</sup>	5,29 <sup>b</sup>	8,24 <sup>b</sup>	11,09 <sup>a</sup>
n-3	12,51 <sup>a</sup>	11,7 a	15,99 <sup>a</sup>	12,78 <sup>a</sup>

AG	Dieta			
	MS(1)	AL (2)	ALP (3)	AP (4)
C18:3 n-3 ALA	2,78 <sup>c</sup>	11,54 <sup>a</sup>	7,76 <sup>b</sup>	1,69 <sup>d</sup>
C20:5 n-3 EPA	0,30 <sup>d</sup>	0,65 <sup>c</sup>	1,44 <sup>b</sup>	1,79 <sup>a</sup>
C22:5 n-3 DPA	0,78 <sup>b</sup>	1,44 <sup>a</sup>	1,50 <sup>a</sup>	1,63 <sup>a</sup>
C22:6 n-3 DHA	0,92 <sup>c</sup>	1,20 <sup>b</sup>	5,30 <sup>a</sup>	7,67 <sup>a</sup>
n-3 CL	2,00 <sup>c</sup>	3,30 <sup>c</sup>	8,24 <sup>b</sup>	11,09 <sup>a</sup>
n-3	4,78 <sup>b</sup>	14,82 <sup>a</sup>	15,99 <sup>a</sup>	12,78 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Resultados expresados en g de ácido cada 100 g de grasa. Medias en una misma fila con diferente letra difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ )

Estos resultados soportarían la hipótesis de que el pollo puede convertir, aunque a una baja tasa, el ALA en sus derivados de n-3 de CL (López-Ferrer *et al.*, 2001; Cachaldora *et al.*, 2005a; DeBlas *et al.*, 2005a).

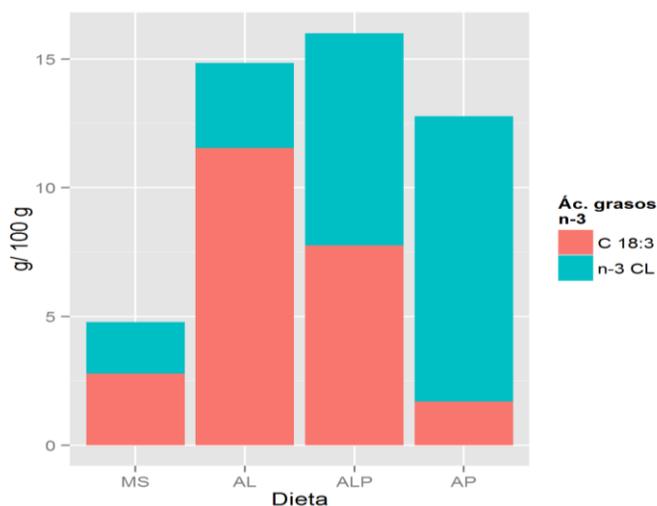


Figura IV.3 Concentración de ácidos grasos C 18:3 y n-3 CL (g/100 g de grasa) en animales alimentados con las distintas dietas, control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de lino y pescado (ALP) y aceite de pescado (AP)

Discriminado los ácidos grasos de cadena larga (figura IV.4.) se puede observar el incremento de cada uno de ellos en los tratamientos enriquecidos con n-3 respecto a las aves que consumieron la dieta en base a maíz-soja.

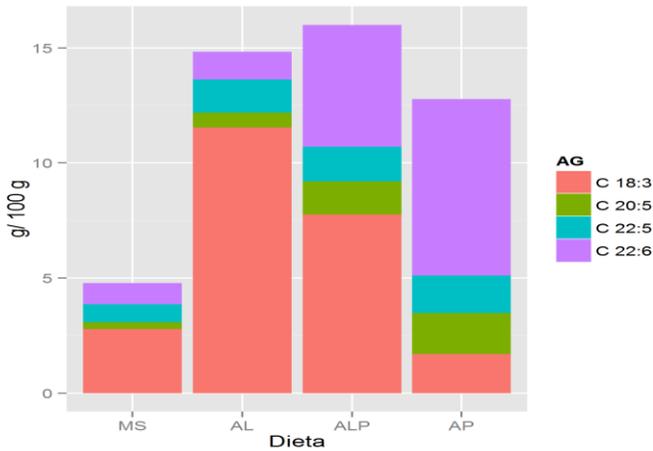


Figura IV.4 Concentración de ácidos grasos n-3 (g/100g de grasa) en animales alimentados con las distintas dietas (control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecida con aceite de lino AL), aceite de lino y pescado (ALP) y aceite de pescado (AP)

Se encontró una correlación positiva (figura IV.5), altamente significativa, entre los n-3 presentes en la dieta y los n-3 presentes en la carne de pollo ( $r=0,990$ ,  $p<0,01$ ), independientemente de los cortes considerados, indicando esto el alto impacto de los n-3 de la dieta sobre la composición del perfil de los lípidos de la carne (figura IV.5), lo cual indica que se puede inducir el cambio en el perfil lipídico general de la carne de pollo y que esta resulte más saludable para su consumo. Esta correlación es muy similar a la obtenida por Beorlegui (2005) que informó un  $R^2$  de 0,920.

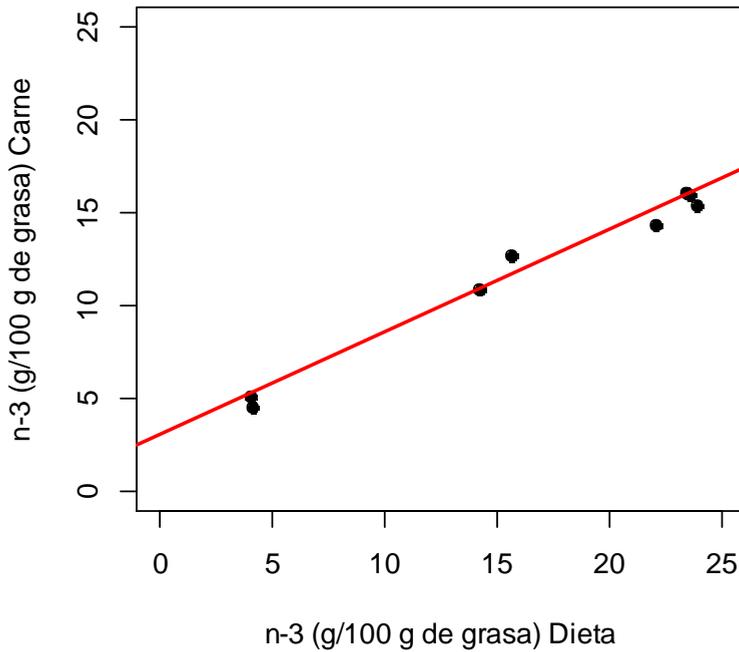


Figura IV.5 Relación entre las concentraciones de n-3 en la dieta y en la carne (g/100 g de grasa).

La inclusión de cualquier fuente de n-3 (aceite de lino o de pescado) en la dieta aumentó los contenidos de los mismos en la carne de pollo. Esta observación coincide con los resultados encontrados por López-Ferrer *et al.* (1999) y Rymer & Givens (2010a) que usaron aceite de pescado en sus investigaciones y los trabajos de de Bou *et al.* (2001), Ayerza & Coates (2002) y Azcona *et al.* (2008 a, b) que usaron fuente vegetales como la chia y el lino.

Si bien la interacción de tratamiento por corte solo resultó significativa para DHA, n-3 CL y n-3 (tabla IV.20), a continuación se discuten los resultados para los dos cortes en cuanto al comportamiento de cada uno de los n-3 analizados (tabla IV.22).

En la pechuga (tabla IV.22.) el contenido de ALA fue estadísticamente diferente entre los tratamientos, observándose un mayor contenido en los tratamientos AL y ALP, los cuales tenían aceite de lino en la dieta. El contenido de EPA fue significativamente diferente y mayor en los tratamientos en los que se incluyó aceite de pescado (dieta ALP y AP). El contenido de DHA fue similar en los tratamientos MS y AL pero sí fue diferente en los tratamientos ALP y AP aumentando su valor a medida que creció la inclusión de aceite de pescado.

En pata muslo los incrementos de las concentraciones de los ácidos grasos ALA, EPA y DPH presentaron el mismo patrón de comportamiento que en la pechuga, por eso la interacción para ellos no fue significativa, excepto para el DHA cuya concentración fue diferente en todos los tratamientos. Los resultados de la tabla IV.22 se presentan en las figuras IV.6 y IV.7 donde se puede visualizar de otra forma el impacto de los tratamientos sobre el perfil perfil lipídico en los diferentes cortes.

Tabla IV.23 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP), en cada uno de los cortes sobre el contenido de n-3<sup>1</sup>.

A. Graso	MS (1)	AL (2)	ALP (3)	AP (4)	CV	Sig
<b>Pechuga</b>						
C18:3 n-3 ALA	2,48 <sup>c</sup>	10,9 <sup>a</sup>	6,84 <sup>b</sup>	1,58 <sup>d</sup>	19,9	**
C20:5 n-3 EPA	0,42 <sup>c</sup>	0,60 <sup>c</sup>	1,43 <sup>b</sup>	1,84 <sup>a</sup>	27,0	**
C22:5 n-3 DPA	0,88 <sup>b</sup>	1,54 <sup>a</sup>	1,52 <sup>a</sup>	1,89 <sup>a</sup>	31,6	*
C22:6 n-3 DHA	1,12 <sup>c</sup>	1,30 <sup>c</sup>	6,17 <sup>b</sup>	9,39 <sup>a</sup>	26,7	**
n-3 CL	2,41 <sup>c</sup>	3,44 <sup>c</sup>	9,12 <sup>b</sup>	13,1 <sup>a</sup>	21,6	**
n-3	5,24 <sup>b</sup>	14,3 <sup>a</sup>	16,0 <sup>a</sup>	14,7 <sup>a</sup>	14,1	**
<b>Pata-Muslo</b>						
C18:3 n-3 ALA	2,91 <sup>c</sup>	12,20 <sup>a</sup>	8,68 <sup>b</sup>	1,80 <sup>d</sup>	7,92	**
C20:5 n-3 EPA	0,19 <sup>d</sup>	0,71 <sup>c</sup>	1,45 <sup>b</sup>	1,75 <sup>a</sup>	16,2	**
C22:5 n-3 DPA	0,67 <sup>b</sup>	1,34 <sup>a</sup>	1,48 <sup>a</sup>	1,37 <sup>a</sup>	19,8	**
C22:6 n-3 DHA	0,71 <sup>d</sup>	1,10 <sup>c</sup>	4,44 <sup>b</sup>	5,95 <sup>a</sup>	21,5	**
n-3 CL	1,57 <sup>d</sup>	3,15 <sup>c</sup>	7,36 <sup>b</sup>	9,06 <sup>a</sup>	17,9	**
n-3	4,49 <sup>c</sup>	15,36 <sup>a</sup>	16,04 <sup>a</sup>	10,87 <sup>b</sup>	9,11	**

<sup>1</sup> Resultados expresados en g de ácido cada 100 g de grasa

Sig: significancia; NS (p>0,05); \* (p<0,05); \*\* (p<0,01)

Medias en una misma fila con diferente letra difieren estadísticamente (p<0,05)

Cuando se expresan los cambios en el perfil lipídico como el porcentaje de modificación con respecto a la dieta control, o sea la dieta que se usa habitualmente en la alimentación de pollos, se puede observar, para la pechuga, un incremento total de n-3 respecto del mismo de 272, 304 y 280% para los tratamientos AL, ALP y AP respectivamente. Si se consideran sólo los n-3 CL en los tratamientos AL, ALP y AP se observaron incrementos de 134, 356, y 512% respecto al tratamiento control

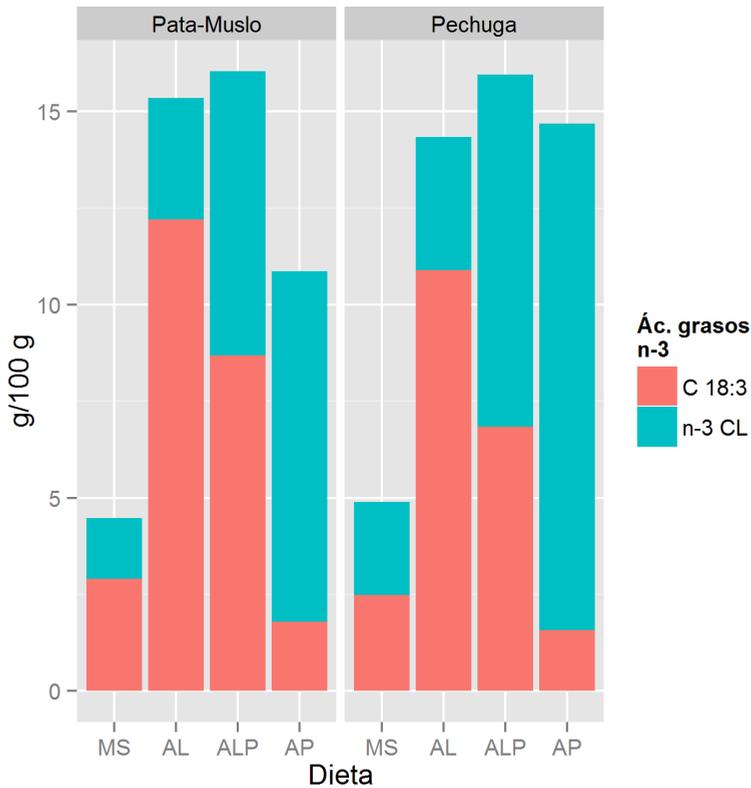


Figura IV.6 Concentración de Ácidos grasos C 18:3 y n3 CL (g/100g de grasa) en pechuga y pata muslo en animales alimentados con las distintas dietas (control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecida con aceite de lino AL), aceite de lino y pescado (ALP) y aceite de pescado (AP).

Para la pata-muslo el incremento respecto al tratamiento control del total de n-3 resultó ser de 342, 357 y 242% para los tratamientos AL, ALP y AP respectivamente. Por otro lado, considerando sólo el aporte de n-3 CL el aumento fue de 198, 462, 570%.

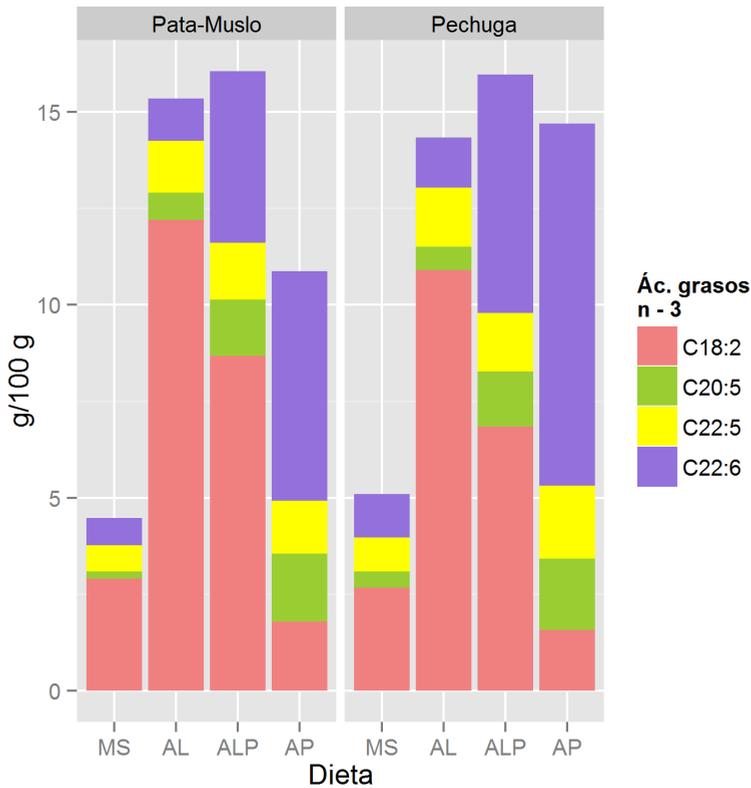


Figura IV.7 Concentración de Ácidos grasos n-3 (g/100g de grasa) en pechuga y pata muslo en animales alimentados con las distintas dietas (control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecida con aceite de lino (AL), aceite de lino y pescado (ALP) y aceite de pescado (AP))

A pesar de encontrarse una interacción de los n-3 CL, (tabla IV.20) se puede ver que independientemente del grado de impacto de cada uno de los tratamientos, la pechuga presentó mayores valores, esto se debería a la mayor actividad de las enzimas desaturadas y elongadas en la pechuga por ser este un corte meramente muscular con poco o nulo contenido

de lípidos de reserva con alto contenido de fosfolípidos y muy poco de triacilgliceridos (Leskanich & Roble, 1997; González-Ezquerria *et al* 2000; Betti *et al*, 2009).

#### **IV.3.1.3. Aporte nutricional de n-3 CL a la dieta humana**

En los apartados anteriores se evaluó el efecto del enriquecimiento de la dieta de los pollos en ácidos grasos n-3 sobre el perfil lipídico de los cortes más frecuentes (pata-muslo y pechuga). No obstante, cabe destacar que la finalidad última del enriquecimiento en ácidos grasos omega 3 de la carne de pollo es incrementar el aporte de estos en la dieta humana. Por lo tanto, en este apartado se analiza la repercusión de la ingesta de la carne de pollo objeto de esta tesis en la alimentación humana.

Desde este punto de vista, se calculo el aporte de una porción de 100 g de carne. Para el calculo se estimo el aporte de los n-3 de CL de los diferentes cortes usando la media del contenido de grasa de cada corte (tablas IV.16), siendo en pechuga de 1,468 g y en pata muslo de 5,763 g en 100 g de carne y el porcentaje de de los ácidos de n-3 de CL (tabla IV. 19) .

Una porción de 100 g de pechuga pollo alimentado con una dieta estándar en base a maíz y soja, (dieta MS) aportaría 35 mg de n-3 CL. Por otro lado, los pollos alimentados con las

dietas AL ALP y AP aportarían 50, 134 y 193 mg, respectivamente. En el caso de la pata muslo al contener mayor contenido de lípidos (tabla IV. 16) los aportes a la dieta humana serían aproximadamente tres veces superiores a los de la pechuga, siendo para una ingestión de 100 g de carne del orden de 90 mg de n-3 CL en un pollos alimentados con la dieta MS vs a los 182 mg aportados por las, aves alimentadas con la dieta AL; 425 mg dieta ALP y 523 mg dieta AP (figura IV. 8). Podría afirmarse por lo tanto que una porción de 100 g del corte de pata muslo proveniente de pollos alimentados con las dietas ALP y AP aporta el 100 % de los requerimientos diarios de ácidos grasos de cadena larga (EPA; DPH y DHA) y la pechuga, para los mismos tratamientos, alrededor del 50% de los requerimientos dietarios para un adulto, considerando un requerimiento de aproximadamente 500mg de AG-CL (Simopoulos, 2000; ISSFAL, 2004)

Estos resultados permiten concluir que mediante la manipulación de la alimentación de las aves se puede modificar su composición corporal, mejorando su valor nutritivo en lo que respecta al perfil de lípidos obteniendo así un producto alimenticio de alto consumo en la población argentina con características funcionales, mediante el incremento del contenido de los ácidos grasos n-3 de cadena larga.

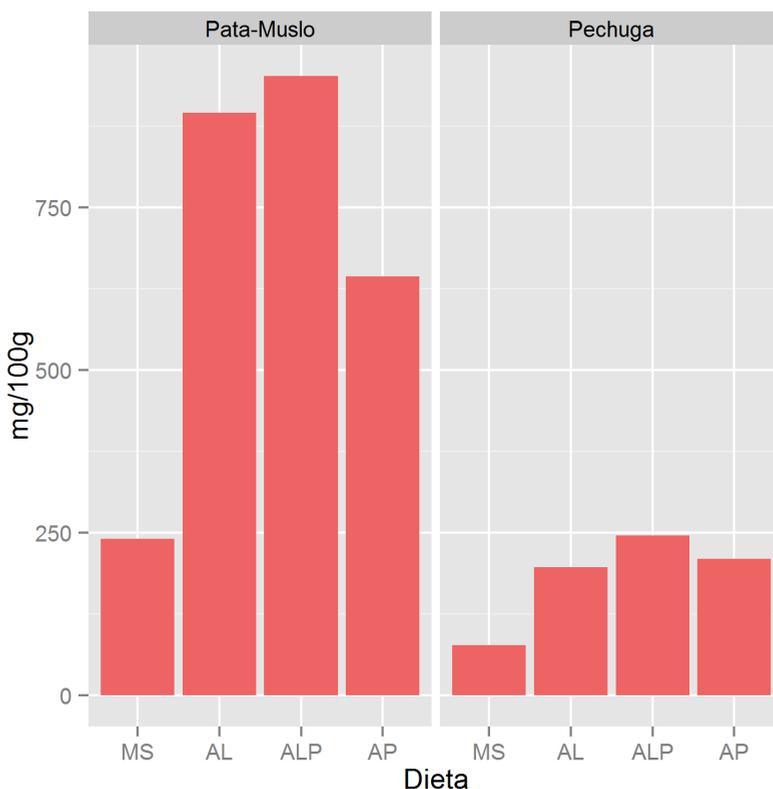


Figura IV.8 Impacto de las distintas dietas (control (MS) y las dietas enriquecida con aceite de lino (AL), aceite de lino y pescado (ALP) y aceite de pescado (AP) en aves sobre el contenido de ácidos grasos C18:3 y n3 CL en los corte de pechuga y pata muslo. Expresados en mg/ 100g de carne

### IV.3.2. Evaluación sensorial de la carne modificada

En los apartados anteriores se ha demostrado que es posible obtener carne de pollo enriquecida en ácidos grasos n-3 de cadena larga mediante la modificación de la alimentación de estos. En esta parte del trabajo se analizó si la modificación

del perfil lípido afecta a la aceptación de la carne por parte de los consumidores.

A tal efecto se utilizó el análisis sensorial puesto que este es una herramienta comúnmente aplicada en el control de la calidad ya que permite estimar el grado de aceptación o rechazo por parte del consumidor. El estudio se realizó para los dos cortes más frecuentes, pechuga y pata-muslo, cuyo perfil lipídico se analizó en apartados anteriores y siguiendo la metodología descrita en el apartado III.2.3.6. de materiales y métodos.

### IV.3.2.1. Pechuga

El perfil sensorial de las pechugas se observa en la Tabla IV.23. y en la figura IV.9.

Tabla IV.24 Perfil sensorial de la pechuga de animales alimentados con la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP).

Tratamiento	Aroma	Off- aroma	Flavor	Off -flavor	Terneza inicial	Jugosidad
MS (1)	5,50 <sup>a</sup>	2,01 <sup>b</sup>	5,08 <sup>a</sup>	1,78 <sup>c</sup>	6,01 <sup>a</sup>	4,12 <sup>a</sup>
AL (2)	5,31 <sup>ab</sup>	3,66 <sup>a</sup>	4,88 <sup>a</sup>	2,72 <sup>b</sup>	6,06 <sup>a</sup>	4,10 <sup>a</sup>
ALP (3)	4,88 <sup>b</sup>	3,94 <sup>a</sup>	4,30 <sup>b</sup>	4,24 <sup>a</sup>	6,07 <sup>a</sup>	4,10 <sup>a</sup>
AP (4)	4,86 <sup>b</sup>	3,64 <sup>a</sup>	4,21 <sup>b</sup>	4,12 <sup>a</sup>	6,21 <sup>a</sup>	4,43 <sup>a</sup>

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ )

0 = extremadamente débil y 10 = extremadamente intenso para aroma y flavor.

0 = extremadamente duro y 10 = extremadamente tierno para terneza inicial.

0 = extremadamente seco y 10 = extremadamente jugoso para jugosidad.

Se encontraron diferencias significativas en los valores de aroma y off aroma. Las muestras correspondientes a los pollos alimentados con las dietas ALP y AP presentaron valores de aroma inferiores al control debido a la aparición de aromas extraños. Las muestras se calificaron como carne de aroma “algo débil” (dieta MS) y “débil” dietas ALP y AP.

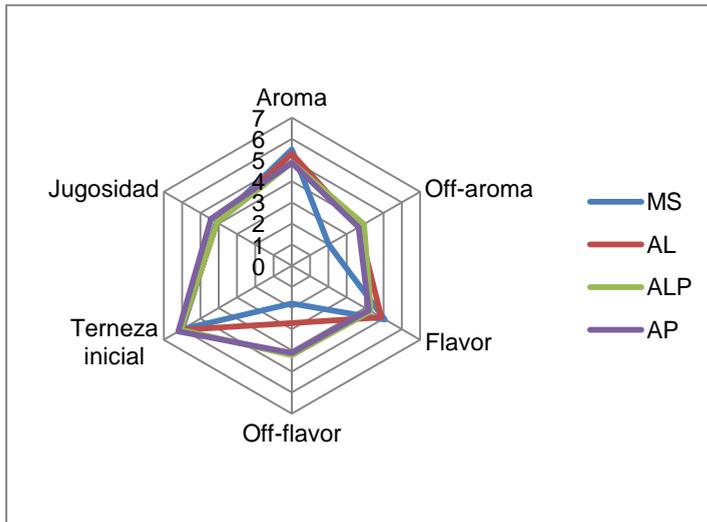


Figura IV.9 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS-1) y las dietas enriquecidas con aceite de linaza (AL-2), aceite de pescado y linaza (ALP-3) y aceite de pescado (AP-4) sobre los parámetros sensoriales en pechuga.

Los aromas extraños (off-aroma) fueron de intensidad “débil” para el corte de carne de los pollos alimentados con las dietas ALP y AP y se describieron como aroma a pescado/mar/bacalao y de intensidad “muy débil” para la muestra de carne del pollo alimentado con la dieta AL y se describieron como aroma a grano/cereal tostado/aceite.

También se encontraron diferencias significativas en los valores de flavor y off flavor. Las muestras correspondientes a los pollos alimentados con las dietas ALP y AP presentaron valores de flavor inferiores al control MS y al ALP debido a la aparición de sabores extraños (off flavors). Las muestras se calificaron como carne de sabor “algo débil” (dietas MS y AL) y “débil” (dietas ALP y AP). Los sabores extraños (off-flavor) fueron de intensidad “débil” (dieta ALP y AP) y se describieron como sabor a pescado; de intensidad “muy débil” (dieta ALP) y se describieron como sabor amargo y de intensidad “extremadamente débil” (dieta MS) y se describieron como metálico/grano.

No se observaron diferencias significativas en los valores de terneza inicial entre pollos alimentados con las diferentes dietas. Las muestras se calificaron como carnes “algo tiernas”.

Tampoco se hallaron diferencias en los valores de jugosidad. Las muestras se calificaron como carnes “secas”.

#### **IV.3.2.2. Pata-muslo**

El perfil sensorial del corte pata/muslo se observa en la Tabla IV.24 y en la figura IV.10.

Se encontraron diferencias significativas en los valores de aroma y off aroma. Las muestras correspondientes a los

pollos alimentados con las dietas ALP y AP presentaron valores de aroma inferiores a los que comieron la dieta MS y AL debido a la aparición de aromas extraños. Las muestras se calificaron como carne de aroma “algo intenso” (dieta MS y AL) y “algo débil” a las provenientes de pollos alimentados con la dieta ALP y AP. Los aromas extraños fueron de intensidad “débil” para los pollos que comieron la dieta ALP y AP y se describieron como aroma a pescado/grasa/rancio y de intensidad “muy débil”, las muestras provenientes de los pollos que comieron la dieta AL, no hubo un consenso entre los evaluadores para la descripción del off aroma.

También se encontraron diferencias significativas en los valores de flavor y off flavor. Las muestras correspondientes a la carne de los pollos que consumieron las dietas ALP y AP presentaron valores de flavor inferiores a la dieta MS y al tratamiento AL debido a la aparición de sabores extraños (off flavors). Las muestras se calificaron como carne de sabor “algo intenso” (dieta MS), “algo débil” (dieta AL) y “débil” (dietas ALP y AP). Los sabores extraños fueron de intensidad “algo débil” (dietas AL y AP) y se describieron como sabor a pescado/rancio; de intensidad “muy débil” (dieta AL) y se describió como sabor a cereal/aceite/amargo y de intensidad “muy débil” (dieta MS) y se describió como grano/aceite.

Tabla IV.25 Perfil sensorial de la pata-muslo de animales alimentados con la dieta control a base de maíz y soja (MS-1) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL-2), aceite de pescado y lino (ALP-3) y aceite de pescado (AP-4)

Dieta	Aroma	Off-aroma	Flavor	Off-flavor	Terneza Inicial	Jugosidad
MS (1)	5,81 <sup>a</sup>	2,03 <sup>c</sup>	5,57 <sup>a</sup>	2,73 <sup>b</sup>	6,39 <sup>a</sup>	5,62 <sup>a</sup>
AL (2)	5,66 <sup>a</sup>	3,02 <sup>b</sup>	4,83 <sup>b</sup>	3,01 <sup>b</sup>	6,29 <sup>a</sup>	5,15 <sup>b</sup>
ALP (3)	5,03 <sup>b</sup>	3,86 <sup>a</sup>	4,26 <sup>c</sup>	4,64 <sup>a</sup>	6,65 <sup>a</sup>	5,73 <sup>a</sup>
AP (4)	4,77 <sup>b</sup>	4,25 <sup>a</sup>	4,08 <sup>c</sup>	4,66 <sup>a</sup>	6,36 <sup>a</sup>	5,56 <sup>ab</sup>

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ )

0 = extremadamente débil y 10 = extremadamente intenso para aroma y flavor.

0 = extremadamente duro y 10 = extremadamente tierno para terneza inicial.

0 = extremadamente seco y 10 = extremadamente jugoso para jugosidad.

No se observaron diferencias significativas en los valores de terneza inicial entre tratamientos. Las muestras se calificaron como carnes “tiernas”.

Se encontraron diferencias significativas en los valores de jugosidad. Las muestras se calificaron como carnes “algo jugosas” (tratamientos 1 y 3) y “algo secas” (tratamiento 2). El tratamiento 4 tuvo una calificación intermedia.

La bibliografía es contradictoria en cuanto a la calidad sensorial de la carne de pollo con alto contenido de AGPI. López-Ferrrer *et al.* (1999) detectaron presencia de sabor atípico usando aceite de pescado al 8% sin suplementación de vitamina E, dos años después usando valores de inclusión de aceite de pescado al 4% hasta los 38 días y las dos últimas semanas, una dieta con 1% aceite de pescado y 3% aceite de

lino, no detectaron diferencias en la aceptabilidad respecto a una dieta estándar. En dicho trabajo no compararon la dieta que tenía aceite de pescado al 4% y fue ofrecida por todo el periodo de crianza, en ambas experiencias se utilizó panel entrenado. Por otro lado, Jeun-Horn *et al.* (2002) fabricaron salchichas usando carne de pollo enriquecida obtenida por la alimentación de las aves con una dieta con 4% de aceite de pescado y 50 mg/kg de acetato de  $\alpha$ -tocoferol y, no encontraron diferencias sensoriales con respecto a salchichas hechas con carne de pollo estándar cuando fueron evaluadas por un panel entrenado. Rymer & Givens, (2010a), usando 200 mg/kg de acetato de dl-  $\alpha$ -tocoferol de obtuvieron carne de pollos con un contenido de n-3 CL de 201 mg/100g y con una buena aceptabilidad de producto, en este último trabajo no usaron panel entrenado y realizaron un test solo de discriminación.

La diferencia en el perfil sensorial encontrada en el presente trabajo podría deberse a dos factores: 1) los altos niveles de inclusión de n-3 CL en la carne, 356 y 512 mg / 100 g la pechuga y 463 y 570 mg/ 100 g en la pata-muslo en los tratamientos en los que se incluyó aceite de pescado con la concomitante inestabilidad oxidativa y 2) la utilización de un panel entrenado.

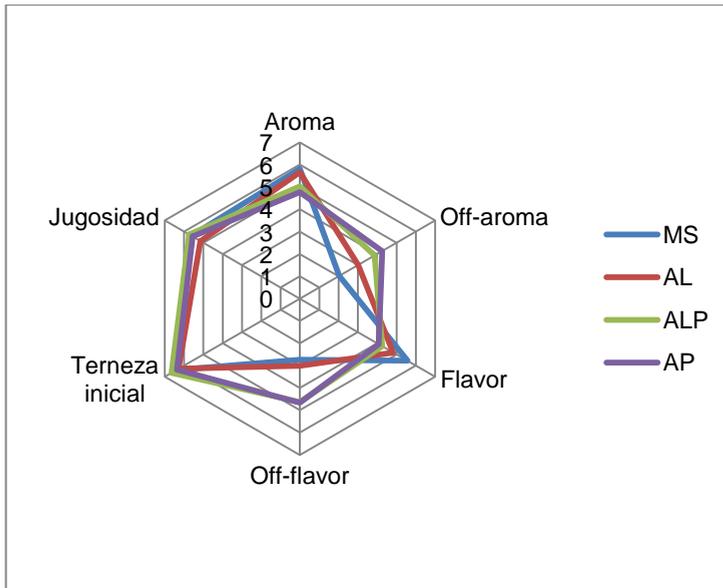


Figura IV.10 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) sobre los parámetros sensoriales en pata-muslo

### IV.3.3. Estabilidad oxidativa

La determinación de TBA nos permite conocer si una muestra sufrió peroxidación lipídica. Pese a no ser la prueba más específica para medir los diversos productos de la oxidación, es una de las más usadas por su sencillez y repetitividad. Además presenta un elevado coeficiente de correlación con la evaluación sensorial (Navarro-García, *et al.*; 2004).

Las pruebas de oxidación se realizaron sobre carne cocida en las mismas condiciones en las cuales se prepararon

para la evaluación sensorial. En la tabla IV.25. se muestran los resultados obtenidos para la prueba de TBA en las distintas muestras analizadas.

Tabla IV.26 Efecto de las dietas sobre contenido de TBA en los diferentes cortes de pollos alimentados con la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP).

<b>Dieta</b>	<b>Corte</b>	<b>TBA (mg/kg)</b>
MS (1)	Pata - Muslo	0,542 <sup>b</sup>
AL (2)		0,804 <sup>b</sup>
ALP (3)		2,500 <sup>a</sup>
AP (4)		2,202 <sup>a</sup>
MS (1)	Pechuga	0,528 <sup>b</sup>
AL (2)		0,722 <sup>b</sup>
ALP (3)		2,758 <sup>a</sup>
AP (4)		2,668 <sup>a</sup>

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ )

En la tabla IV.26 se puede observar que hubo un efecto importante ( $p < 0,05$ ) de los tratamientos sobre los valores de TBA en la carne. Por otro lado, no se observó un efecto del corte sobre el grado de oxidación, si bien hubo una tendencia a ser mayor en la pechuga en las aves alimentadas con las dietas con inclusión de aceite de pescado. Esto podría ser explicado porque la pechuga tiene mayor contenido de fosfolípidos y por lo tanto mayor cantidad de ácidos grasos insaturados de cadena larga (Leskanich & Roble, 1997; Betty *et al.*, 2009). Resultado que se puede observar en el contenido de n-3CL en la tabla IV.21. Los AGPI son más fácilmente atacados por los radicales libres que los AGMI y AGS. Paralelamente, la

susceptibilidad de los AGPI no es igual para todos ellos sino que aumenta con el nivel de insaturación (Kanner, *et al.*, 1987). Hay que considerar que en este ensayo todos los cortes estarían protegidos por la inclusión de antioxidantes en las dietas, y por lo tanto esto podría enmascarar diferencias en la inducción de oxidación que hubieran sido más marcadas entre pechuga y pata-muslo así como entre los tratamientos.

Tabla IV.27 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) y tipo de corte sobre los valores de TBA observados en la carne cocida de pollo (mg/kg)

<b>Factor</b>	<b>Significancia</b>
Dieta	**
Corte	NS
Corte * Dieta	NS
<hr/>	
Dieta	
MS (1)	0,53 <sup>b</sup>
AL (2)	0,76 <sup>b</sup>
ALP (3)	2,63 <sup>a</sup>
AP (4)	2,43 <sup>a</sup>
<hr/>	
Corte	
Pechuga	1,68 <sup>a</sup>
Pata-Muslo	1,51 <sup>a</sup>
CV	27,24

Medias con diferentes letras difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ )

Los tratamientos que tenían la inclusión de aceite de pescado (3 y 4) provocaron mayores valores de TBA (2,63; 2,43) que los tratamientos control (1) y el con aceite de lino (2) siendo los mismos de 0,53 y 0,76, respectivamente. Los altos valores hallados en la carne cocida coinciden con los resultados reportados por Maraschiello, *et al.* (1999) usando

200 mg de acetato de  $\alpha$ -tocoferol, quienes encontraron valores de TBA de alrededor de 2 en dietas suplementadas con cebo, girasol y oliva al 6%. Bou *et al.*, (2004), encontraron valores similares de 2,81 mg/ 100g de tejido comestible usando dietas con aceite de pescado con una suplementación de 140 mg de acetato de  $\alpha$ -tocoferol. Voljc *et al.* (2011) usando el mismo nivel de vitamina E pero en dietas con 7,5 % de aceite de lino, observaron valores de TBA próximo a 3. Por otro lado, Narciso-Gaytán *et al.* (2011) usando 2% de aceite de pescado con 200 mg de acetato de  $\alpha$ -tocoferol reportaron valores de TBA menores a 0,5. Sin duda la diversidad de respuestas estuvo asociada al grado de instauración de los diferentes tratamientos estudiados.

Se puede concluir que los niveles de inclusión de fuente de omega-3 usados en este trabajo produjeron elevadas concentraciones de n-3 en la carne lo que condujo a una mayor oxidación de la misma.

#### **IV.3.3.1. Relación entre TBA y panel sensorial**

Al relacionar los resultados obtenidos en el perfil sensorial (apartado IV.3.2) con los valores de TBA (apartado IV.3.3) se puede observar que los tratamientos 3 y 4 presentaron valores mayores de off-flavor coincidiendo esto con los mayores contenidos de TBA ya sea en pechuga como en pata-muslo. El trabajo de Bou *et al.*, 2001 reportó que carne

de pollo cocida con valores de 0,785 mg/kg de TBA fue aceptada por los panelista y cuando el niveles de TBA subieron a 1,9 mg/kg de TBA, el panel evaluador encontró diferencias significativas respecto a una carne no modificada en su perfil lipídico. En este trabajo se observó un comportamiento similar puesto que las muestras con valores de TBA entre 0,55-0,76 fueron calificadas como aceptables mientras que los tratamientos que contenían aceite de pescado (ALP y AP) y que presentaban valores de TBA superiores a 2,3 fueron percibidos con sabores y olores extraños.

Diversos trabajos basándose en la correlación entre los compuestos volátiles y TBA sugirieron un valor umbral de TBA 800 µg/kg para la detección de olores y sabores extraños (O'Neill 1998; Bou *et al.* ,2001). Coetze & Hoffman (2000) propusieron una escala en donde valores superior a 1,5 mg de de MDA /kg en muestras de carne indican que la grasa está oxidada.

Por lo tanto, en este trabajo, la alta inclusión de vitamina E en 200 mg/kg y el agregado de selenio orgánico 0,3 mg/kg no pudieron impedir la oxidación de los lípidos de la carne.

#### **IV.3.4. Contenido de Selenio en carne**

Con el objetivo de tener valores locales de selenio en la carne de pollo se escogió un corte y analizó (tabla IV. 27). El contenido de selenio fue diferente en los tratamientos

presentando el tratamiento con aceite de pescado mayores valores que el tratamiento control, a su vez el tratamiento con aceite de lino mostro valores intermedios, a pesar de haberse agregado a todas las dietas el mismo selenio suplementario. Esto puede ser debido a que el aceite usado fue diferente en cada tratamiento, y que por lo tanto la absorción del mineral podría estar modulada por el tipo de aceite y sus diferentes AGs. No obstante, los valores encontrados fueron similares con los mencionados por Wang & Xu, (2008) y Haug *et al.* (2011) quienes reportaron valores entre 0,26 y 0,30 de ppm en la carne cuando usaron suplementos de selenio con valores similares a los usados en este trabajo.

Tabla IV.28 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) sobre contenido de selenio en la carne de pechuga de pollo

<b>Dieta</b>	<b>Se<sup>1</sup> (mg/kg)</b>
MS (1)	0,255 <sup>c</sup>
AL (2)	0,275 <sup>b</sup>
ALP (3)	0,310 <sup>a</sup>
AP (4)	0,311 <sup>a</sup>
CV (%)	2,96

Medias con diferentes letras difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ )<sup>1</sup> (mg/kg de tejido)

Además, se observó que los tratamientos con valores superiores en contenido de selenio sufrieron la mayor oxidación, de modo que la presencia de este mineral en mayor cantidad no alcanzó para contrarrestar los efectos prooxidantes de la composición lipídica. Esto coincide con las investigaciones de Avanzo, *et al.* (2001) quienes reportaron

que el  $\alpha$ -tocoferol ejerce un efecto mucho más marcado en la protección, siendo de un orden más que el selenio, también otras investigaciones afirman que el efecto protector de la vitamina E es mayor que el del selenio (Ryu *et al*, 2005)

### IV.3.5 Contenido de vitamina E

En la tabla IV.28 se muestran las concentraciones de vitamina E para los distintos cortes estudiados.

Tabla IV.29 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y de las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) sobre el contenido de alfa tocoferol en los diferentes cortes

Dieta	Corte	Alfa Tocoferol (mg/kg)
MS (1)	Pata - Muslo	47,28 <sup>a</sup>
AL (2)		47,04 <sup>a</sup>
ALP (3)		17,01 <sup>b</sup>
AP (4)		17,91 <sup>b</sup>
MS (1)	Pechuga	29,63 <sup>a</sup>
AL (2)		28,23 <sup>a</sup>
ALP (3)		14,36 <sup>b</sup>
AP (4)		15,35 <sup>b</sup>

Medias en una misma columna con diferentes letras difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ )<sup>1</sup> mg/kg de carne

Los valores de vitamina E variaron significativamente entre los distintos tratamientos y cortes (Tabla IV.29; figura IV.11). El corte pata-muslo presentó un contenido en vitamina E superior al de la pechuga. La diferencia en el contenido de vitamina entre los tejidos puede ser la consecuencia de las

diferencias metabólicas de cada tejido. La pata-muslo tiene más desarrollado el sistema vascular y también tiene mayor contenido de lípidos (Cherian, *et al.*, 1996; De Wine & Dirinck, 1996, Lin *et al.*; 1989). Se pudo observar que los tratamientos con aceite de pescado (3 y 4) presentaron valores inferior de vitamina E respecto a los valores de los tratamientos 1 y 2. El aceite de pescado presenta mayor contenido de ácidos grasos de cadena larga los cuales son más susceptibles a la oxidación. Los valores encontrados en los tratamientos 1 y 2 fueron superiores a los reportados por Ruiz *et al.* (1999), quienes usaron sebo, aceite de girasol o aceite de oliva al 6% y a los reportados por Grau *et al.* (2001a) que usaron aceite de lino, girasol y sebo 6%. Por otro lado, en los tratamientos 3 y 4 los valores de tocoferol fueron similares a los reportados por Surai & Park (2000) y Voljc *et al.* (2011) que encontraron valores de 16 mg/kg en musculo cuando alimentaron a los pollos con una dieta con 3,5 de aceite de atún o 7% de aceite de lino respectivamente. Por lo tanto, se puede concluir que cuando la fuente dietaria tiene alto contenido de omega-3 los valores de vitamina E en el músculo son menores.

El mayor contenido de vitamina E, en los tratamientos 1 y 2 (tabla IV.27) explicaría los menores valores de TBA encontrados en los mismos. La correlación negativa encontrada coincide con diversos trabajos anteriores (Ruiz *et al.*, 1999; Avanzo *et al.*, 2001; Botsoglou *et al.*, 2002; Lanari, *et al.*, 2003

y Brenes *et al.*, 2008). La reducción de los depósitos de  $\alpha$ -tocoferol por un aumento del grado de poliinsaturación, ha sido explicada por la posibilidad de que el  $\alpha$ -tocoferol se degrade protegiendo a los lípidos de la oxidación (Jensen *et al.*, 1997; Kubo *et al.*, 1997). Los tratamientos con aceite de pescado presentaron mayores valores de TBA, lo que explicaría el consumo de la vitamina E en el músculo de las mismas.

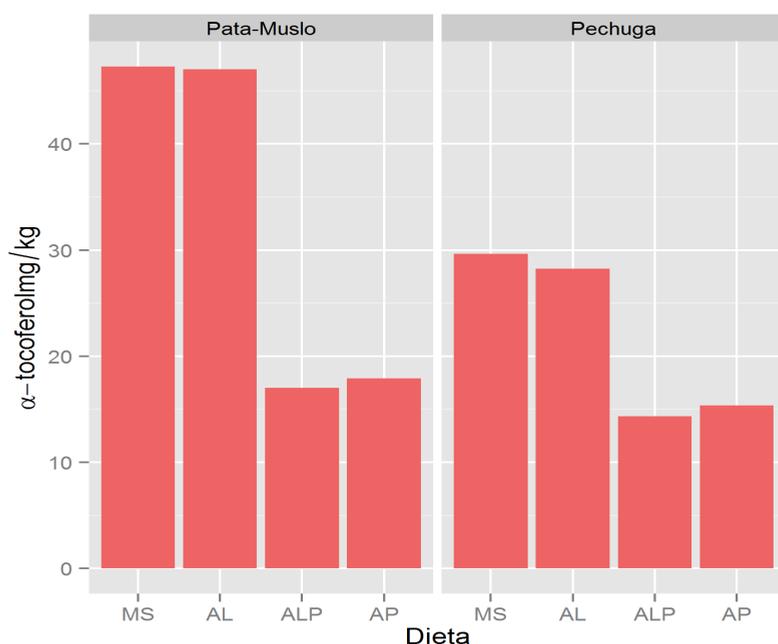


Figura IV.11 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) sobre contenido de vitamina E en los cortes de pechuga y pata muslo.

Tabla IV.30 Efecto de la dieta control a base de maíz y soja (MS) y las dietas enriquecidas con aceite de lino (AL), aceite de pescado y lino (ALP) y aceite de pescado (AP) sobre contenido de vitamina E en los cortes de pechuga y pata muslo

Factor	Significancia
Dieta	**
Corte	**
Dieta*Corte	NS
CV (%)	28,06
Corte	$\alpha$ -tocoferol <sup>1</sup>
Pata-Muslo	32,31 <sup>a</sup>
Pechuga	21,87 <sup>b</sup>
Dieta	
MS (1)	38,40 <sup>a</sup>
AL (2)	37,63 <sup>a</sup>
ALP (3)	15,69 <sup>b</sup>
AP (4)	16,63 <sup>b</sup>

Medias en una misma columna con diferentes letras difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ ) <sup>1</sup> mg/kg de carne

# CONCLUSIONES



## V. Conclusiones

### V. 1 Formulación y evaluación de las dietas/alimentos

Fuente de omega-3:

El análisis del perfil lipídico de los aceites utilizados mostro que el aceite de lino tubo un alto porcentaje del ácido graso  $\alpha$ -linolénico, por otro lado el aceite de pescado de mar presento una baja concentración de  $\alpha$ -linolénico pero alto en los ácidos grasos de cadena larga; perfiles de ácidos grasos esperables para ambos aceites

Dietas:

La inclusión de aceite de pescado y /o aceite de lino en las dieta se produjo un impacto significativo de todos ácidos grasos n-3 en la dieta. La inclusión de aceite lino provocó dietas con mayor contenido de ácido graso  $\alpha$ - linolénico (ALA) y la inclusión de aceite de pescado produjo, como era de esperar, una dieta con valores mayores de ácidos grasos de cadena larga como lo son el eicosapentaenoico (EPA); docosapentaenoico (DPH) y docosaexaenoico, y DHA.

En cuanto al aporte energético y proteínico, los resultados obtenidos indican que, los alimentos de crecimiento y de terminación, presentaron valores similares, pudiéndose concluir que las dietas fueron isoenergéticas e isoproteicas,

condición deseable para lograr desempeños similares a las condiciones comerciales cuando se los compara con alimentos convencionales a base de maíz y soja usando como fuente de grasa aceite de soja.

El agregado de selenio a las dietas permitió obtener dietas con valores mayores a los normalmente utilizados. La adición de vitamina E, condujo a dietas ricas en vitamina E y todas con similares contenidos. La determinación cuantitativa de ambas sustancias fue la esperada a lo estipulado en el planteo del trabajo.

La estabilidad oxidativa (meq de oxígeno/kg de grasa) de las dietas utilizadas fue menor cuando se incluyó aceites rico en n-3, siendo más susceptibles a oxidarse las dietas que tenían aceite de pescado.

### **V. 2 Efecto de las dietas “in vivo” sobre los animales**

Parámetros Zootécnicos:

Los valores de peso, consumo y conversión fueron similares entre en los diferentes tratamientos y aceptables respecto a valores logrados en crianza comerciales, situación que era de esperar ya que solo se reemplazó la fuente lipídica al 4%.

### **V. 3 Efecto sobre la carne de pollo**

Contenido de grasa intramuscular:

Los cortes de pata muslo de los diferentes tratamientos presentaron similar contenido de grasa intramuscular. El contenido de grasa en la pechuga también fue similar en todos los tratamientos. Se concluye que la inclusión de diferentes fuentes de n-3 no afecta el contenido de grasa intramuscular. El corte de pata muslo presentó alrededor de tres veces más grasa que el corte de pechuga.

Perfil lipídico de los diferentes cortes:

Considerando el “efecto corte”, pechuga vs. pata-muslo, la pechuga presentó mayores valores de ácidos grasos saturados, menor contenido de n-6 y mayor relación de Sat/Ins. La relación n-6/n-3 fue estadísticamente diferente para los cortes. Por otro lado, la dieta suministrada a los animales influyó significativamente sobre el perfil lipídico de la carne. Los ácidos grasos saturados se presentaron en mayor proporción en los tratamientos ALP y AP donde las dietas tenían aceite de pescado. No hubo efecto del agregado de aceite de lino, tratamiento AL, sobre el contenido de saturados respecto del tratamiento MS.

En general se puede observar un elevado incremento de los n-3CL, EPA, DPA y DHA, en las aves que consumieron

la dietas ALP y AP, donde se incluyó aceite de pescado en la dieta, por otro lado las aves que consumieron la dieta AL, presentaron los mayores niveles de ALA con fuente de n-3, ácido graso que se encuentra en elevada proporción en el aceite de lino.

Por otro lado, hubo interacción significativa entre los factores corte y dieta en cuanto al contenido de ácidos grasos poliinsaturados y n-3, siendo el desencadenante de esta situación la concentración de DHA.

La relación n-6/n-3 fue estadísticamente afectada por la inclusión de las fuentes de n-3, ya sea aceite de lino, pescado o la combinación de ambos. La relación disminuyó drásticamente (en un 70% en el menor de los casos) con la inclusión de n-3 en la dieta.

Se encontró una correlación positiva, entre los n-3 presentes en la dieta y los n-3 presentes en la carne de pollo ( $r=0,990$ ,  $p<0,01$  ALP y AP), independientemente de los cortes considerados, indicando esto el alto impacto de los n-3 de la dieta sobre la composición del perfil de los lípidos de la carne, lo cual indica que se puede inducir el cambio en el perfil lipídico general de la carne de pollo y que esta resulte más saludable para su consumo.

#### **V. 4. Aporte nutricional de n-3 CL a la dieta humana**

Se obtuvo un producto de características funcionales con alto contenido ácidos grasos n-3CL. La incorporación de aceite de pescado de origen argentino en las dietas de pollos fue una excelente fuente de n-3 para los pollos parrilleros, el aceite de lino no fue una buena opción cuando se quiso enriquecer carne con ácidos grasos n-3 de cadena larga.

Una porción de 100 g de pechuga aportaría el 50% de las recomendaciones dietarias y la pata-muslo el 100% de las recomendaciones dietarias establecidas por diferentes organismos de salud en los últimos años, cuando se usó aceite de pescado de mar.

##### Evaluación sensorial de la carne modificada:

La evaluación sensorial detectó la presencia de sabores y olores extraños en los productos obtenidos en las condiciones establecidas en la presente tesis. Nuevas tendencias en el análisis sensorial usando consumidores en vez de paneles entrenados o semi-entrenados, podrían favorecer la incorporación de estos productos ya que son menos exigentes a la hora de detectar diferencias.

##### Estabilidad oxidativa

Los tratamientos que tenían la inclusión de aceite de pescado (ALP y AP) provocaron mayores valores de TBA que los tratamientos MS y AL.

El corte de pechuga presento mayores valores de TBA, indicando una mayor susceptibilidad a la oxidación que el corte de pata-muslo.

El agregado de Selenio orgánico y vitamina E, dos potentes antioxidantes, no pudieron prevenir la oxidación de los lípidos en las condiciones del presente ensayo

Se observó mayor deposición de vitamina E en el corte pata-muslo que en el corte pechuga.

Independientemente del tipo de corte, se observó que en los tratamientos con mayor contenido de TBA, hubo una disminución en las concentraciones de vitamina E, lo que indicaría el consumo de la misma por parte del músculo y que por lo tanto debería ajustarse la oferta de antioxidantes para mejorar la estabilidad oxidativa

Se puede concluir que los niveles de inclusión de fuente de omega-3 usados en este trabajo produjeron elevadas concentraciones de n-3 en la carne lo que condujo a una mayor oxidación de la misma.

### **Sugerencias a Futuras Investigaciones**

Debido a la aparición de sabores y olores extraños, sería necesario evaluar niveles inferiores de inclusión de omega-3 de cadena larga, también buscar alternativas a la preparación de productos en base a carne de pollo modificada como la incorporación de especias, formas de presentar el producto y modos de conservación.

Como la dieta resultó un vehículo eficaz para la inclusión de ácidos grasos y vitamina E en la carne de pollo, sería importante formular suplementos antioxidantes y estudiar su biodisponibilidad a fin de aumentar su presencia en los tejidos y prevenir la oxidación.

Se debería enfatizar el estudio sobre la modalidad de la evaluación sensorial y a qué consumidor estaría dirigido, considerando los cambios en las conductas de consumo de la población y el poder adquisitivo de la misma.

# REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



## VI. Referencias bibliográficas

AACC International. Method 44-16.01. Moisture-air-oven (aluminum-plate) method. En Approved Methods of Analysis, 11th Ed. Aprobado 1995. AACC International, St.Paul, MN, USA.

AACC International. Method 46-12.01. Crude protein-Kjeldahl method, boric acid modification. En Approved Methods of Analysis, 11th Ed. Aprobado 1995. AACC International, St.Paul, MN, USA

Abbey, M.; Belling G.; Noakes, M.; Hirata, F. & Nestel, P. 1993. Oxidation of low-density lipoproteins: intraindividual variability and the effect of dietary linoleate supplementation. *Am. J. Clinical Nutrition*, 57(3):391-398.

Abril, R. & Barclay, W. 1998. Production of docosahexaenoic acid-enriched poultry eggs and meat using and alga-based feed ingredients. The return of omega-3 fatty acids into the food supply. *Editorial Simopoulos* 83:77-88.

Ahn D.; Sell J.; Chen, X.; Wu, C. & Lee, J. 1998. Effects of dietary vitamin E supplementation on lipids oxidation and volatile content of irradiated , cooked turkey meat patties with different packaging. *Poultry Science* 77:912-920.

Ahn, D.; Wolfe, F. & Sim, J. 1995. Dietary  $\alpha$ -linolenic acid and mixed tocopherol and packaging influences on lipid stability in broiler chicken breast and leg muscle. *J. Food Sci.* 5:1013-1018.

Ahrens, E.; Blankenhorn D.; & Tsaltas T. 1954. Effect on human serum lipids of substituting plant for animal fat in diet. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 86(4):872-8.

- Ahrens, E.; Insull, W.; Hirsch, J.; Stoffel, W.; Peterson, M. & Farquhar, J. 1959. The effect on human serum-lipids of a dietary fat, highly unsaturated, but poor in essential fatty acids. *Lancet* , 1(7064):115-9.
- Aitken R. 2009. Gpx5 protects the family jewels. *The Journal of Clinical Investigation* 119(7):1849–1851.
- Ajuyah, A. Hardin, R. & Sim, J. 1993. Effect of dietary full-fat flax seed with and without antioxidant on the fatty acid composition of major lipid classes of chicken meats. *Poultry Science* 72:125-136.
- Ajuyah, A.; Lee K.; Hardin R. & Sim J. 1991. Changes in the yield and in the fatty acid composition of whole carcass and selected meat portions of broiler chickens fed full-fat oil seeds. *Poultry Science* 70:2304-2314.
- Alvidrez-Morales, A.; Gonzáles-Martínez, B. & Jiménez-Salas A. 2002. Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. *RESPYN* 3(3):1-6.
- AMSA, 1995. “Research Guidelines for Cookery, Sensory Evaluation and Instrumental Tenderness Measurements of fresh meat” American Meat Science Association.
- Ang, C. 1992. Reheting effects on thiobarbituric sustancias of refrigerated stored cooked broiler meat. *J. Food Prot.* 55 (11):924-926.
- Ang, C. 1988. Comparisons of broiler tissues oxidative changes after cooking and refrigerated storage. 1988. *J. Food Sci.* 53 (4):1072-1045.
- Anses. Agencia de Seguridad alimentaria de Francia. 2010. <http://www.anses.fr/en/content/fats>. (entrada junio 2013).
- Antruejo A.; Azcona , J.; Garcia, P.; Gallinger, C.; Rosmini, M.; Ayerza, R.; Coate, W. & Perez, C. 2011. Omega-3

enriched egg production: The effect of  $\alpha$ -linolenic w-3 fatty acid sources on Laing hen performance and yolk lípido conten and fatty acid. Br. Poult Sci. 52(6):750-60.

AOAC 2000 Official Methods of Analysis. 17<sup>th</sup> ed. Assoc. of Anal. Chem. Int., Gaithersburg MD.

Appel, L.; Miller, E.; Seidler, A. & Whelton, P. 1993. Does supplementation of diet with 'fish oil' reduce blood pressure? A meta-analysis of controlled clinical trials. Arch. Intern. Med. 153(12):1429-38.

Applegate, T. & Sell, J. 1996. Effect of dietary linoleic to linolenic acid ratio and vitamin E supplementation on vitamin E status of poults. Poult Sci. 75:881-890.

Araya, H. & Lutz, M. 2003. Alimentos funcionales. Revista Chilena de Nutrición 30(1):8-14.

Arts, M.; Ackman, R. & Holub, B. 2001. Essential fatty acids in aquatic ecosystems:a crucial link between diet and human health and Evolution. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 58:122-137.

Arthur, J; McKenzie, R. & Beckett, G. 2003. Selenium in the inmune system. Journal of Nutrition 133:1457-1459.

Ashwell, M. 2005. [http://www.ilsa.org.ar/contactos/ILSI\\_Argentina\\_Comite\\_Alimentos\\_Funcionales/ILSICMFuncFoodsES5.pdf](http://www.ilsa.org.ar/contactos/ILSI_Argentina_Comite_Alimentos_Funcionales/ILSICMFuncFoodsES5.pdf) ISBN 1-57881-157-0 (bajado 26 octubre 2010).

ASTM International. ASTM Standard D 2015-85. 1987. Standard test method for gross calorific value of coal and coke by the adiabatic bomb calorimeter. ASTM International, West Conshohocken, PA, USA.

- Aubourg, S. 1993. Review: interaction of malondialdehyde with biological molecules new trends about reactivity and significance. *Int. J. Food Sci. Technol.* 28:323-325.
- Avanzo, J.; Mendonça, C. Pigine, S. & Cerqueira Cesae, M. 2001 Effect of vitamin E and selenium on resistance to oxidative stress in chicken superficial pectoralis muscle. *Comparative Biochemistry and Physiological Part C* 129:163-173
- Ayerza, R. & Coates, W. 2000; Dietary levels of chia: influence on yolk cholesterol, lipid content and fatty acid composition for two strains of hens. *Poult Sci* , 79(5):724-39.
- Ayerza, R. (H) & Coates, W. 2002. Chia seed ( *salvia Hispanica* L.) as n-3 fatty acid source for broilers: Influence on fatty acid composition , cholesterol and Fat content of white and dark meat, growth performance, and sensory characteristics. *Poultry Science* 81:826-837
- Ayerza, R. (H) & Coates, W. 2006. Una semilla ancestral redescubierta. [http://www.chiacorp.com/eng\\_home.htm](http://www.chiacorp.com/eng_home.htm). entrada enero 2013.
- Azcona O.; Garcia, P. Cossu, M.; Iglesias; B.; Picallo, A.; Perez, C.; Gallinger. C.; Schang, M. & Canet Z. 2008a. Meat Quality of Argentinean “ Camperos” Chickens enhanced in Omega-3 and omega-9 fatty acids. *Meat Science*, 79: 437-443
- Azcona O.; Schang, M.; Garcia, P.; Gallinger, C.; Ayerza, R. & Coates. W. 2008b. Omega -3 enriched broiler meat: the influence of dietary alfa linolenic-w-3 fatty acid sources on growth, performance and meat fatty acid composition. *Canadian Journal of animal Sci.* 88:257-269
- Baeza, E.; Chartrin, p., Gigaud, V.; Tauty, S.; Meteau,k. Lessire, M. & C. Berri. 2013. Effects of dietary enrichment

with n-3 fatty acids on the quality of raw and processed breast meat of high and low growth rate chickens. *British Poultry Science* 54:(2)190-198.

- BASF. 2014. Importancia de la vitamina E en la nutrición. [http://basfanimalnutrition.com/es/news\\_2014\\_01\\_15.php](http://basfanimalnutrition.com/es/news_2014_01_15.php) (Octubre 2014)
- Ball, G. 2004. Vitamins: their role in the human body. Blackwell Publishing Ltda. pag 177.
- Barreiro Nogaledo, M. 2005. El mercado de la carne desde el punto de vista del consumidor. En: García-Rebollar P, De Blas JC, González-Mateos G, editores. XXI Curso de Especialización FEDNA. Madrid, España. 3-12.
- Barroeta A. & King A. 1991. Effect of carotenoids on lipids oxidation in stored poultry muscle. *Poultry Science* (70-suple) 1-11.
- Bartov, I. & Bornstein, S. 1977. Stability of abdominal fat and meat of broiler: interrelationship between the effects of dietary fat and vitamin E supplements. *British Poultry Science* 18:47-57.
- Bartov, I. & Frigg, M. 1992. Effect of high concentration of dietary vitamin E during various age periods on performance, plasma vitamin E and meat stability of broiler chicks at 7 weeks of age. *British Poultry Science* 33(2):393-402.
- Bartov, I.; Sklan, D. & Friedman, A. 1997. Effect of vitamin A on the oxidative stability of broiler meat during storage: lack of interactions with vitamin E. *British Poultry Science* 38(3):255-257.
- Baur, L.; O'Connor, J.; Pan, D. & Storlien, L. 1999. Relationships between maternal risk of insulin resistance

- and the child's muscle membrane fatty acid composition. *Diabetes* 48(1):112-6.
- Belitz, H. D. & Grosch, W. *Química de los alimentos*. 1997. Segunda edición. Editorial Acribia, S.A.
- Belluzzi, A.; Brignola, C.; Campieri, M.; Pera, A.; Boschi, S. & Miglioli, M. 1996. Effect of an enteric-coated fish-oil preparation on relapses in Crohn's disease. *N. Engl. J. Med.* 334(24):1557-1560.
- Betty, M.; Pérez, T.; Zuidhof, M. & Renema, R. 2009. Omega - 3, fatty acids distribution between triacylglycerol and phospholipid classes. *Poultry Science* 88(8):1740-1754.
- Bezard, J.; Blond, J.; Bernard, A. & Clouet, P. 1994. The metabolism and availability of essential fatty acids in animal and human tissues. *Reprod. Nutr. Dev.* 34(6):539-568
- Beorlegui, C.; Alvarez Carro, C.; Cachaldora, P.; García Rebollar, P & J. Méndez. 2005. Avances en nutrición y alimentación animal. Págs. 15-34
- Biesalki, H. & Grimm, P. 2007. Vitamina liposolubles. En: *Nutrition*. Editorial Médica Panamericana. pág 328.
- Billeaud, C.; Bougle, D.; Sarda, P.; Combe, N.; Mazette, S.; Babin, F; Entressangles, B; Descomps, B.; Nouvelot, A. & Mendy F. 1997. Effects of preterm infant formula supplementation with alpha-linolenic acid with a linoleate/alpha-linolenate ratio of 6: A multicentric study. *Eur. J. Clin. Nutr.* 51(8):520-526.
- Boletín Avícola. 2014. Secretaria Agricultura Ganaderia y Pesca Presidencia de la Nación. [http://www.minagri.gob.ar/site/ganaderia/aves/index.php?edit\\_accion=noticia&id\\_info=150416103522](http://www.minagri.gob.ar/site/ganaderia/aves/index.php?edit_accion=noticia&id_info=150416103522).

- Bortman, M.; Storlein, L.; Pan, D., Jenkins, A.; Chisholms, D. & Campbell, L. 1993. The relation between insulin sensitive and the fatty acids composition of skeletal-muscle phospholipids. *The England Journal of Medicine* 328(4) 238-244
- Botsoglou, N.; Fletouris, B.; Florou-Paneri, P.; Christaki E. & Spais, A. B. 2002. Inhibition of lipid oxidation in long-term frozen stored chicken meat by dietary oregano. *Food Research International* 36:207-213.
- Botsoglou, N.; Florou-Paneri, P.; Christaki E. & Spais A. 2003a. Inhibition of lipid oxidation in long-term frozen stored chicken meat by dietary oregano essential oil and  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation. *Food Research International* 36:207-213.
- Botsoglou, N.; Grigoropoulou, S.; Botsoglou E.; Govaris, A. & Papageorgiou, G. 2003b. The effects of oregano essential oil and alfa-tocopheryl acetate on lipid oxidation in raw and cooked turkey during refrigerated storage. *Meat Science* 65:1193-120.
- Bou, R., Guardiola, F.; Grau, A; Grimpa, S.; Manich, A.; Barroeta, A. & Codony, R. 2001. Influence of dietary fat source, alpha tocopherol and ascorbic acids supplementation on sensory quality of dark meat. *Poultry Science* 80:800-807.
- Bou, R., Guardiola, F.; Tres, A.; Barroeta, A. & Codony, R. 2004. Effect of dietary fish oil alfa tocopheryl acetate, and zinc supplementation on R composition and consumer acceptability of chicken meat. *Poultry Science* 83:282-292.
- Bou, R.; Guardiola F.; Barroeta A. & Codony, R. 2005. Effect of dietary fat sources and zinc and selenium supplements on the composition and consumer acceptability of chicken meat. *Poultry Science* 84:1129–1140

- Bou, R.; Codony, R.; Tres, A.; Decker, E. & Guardiola, F.; 2009. Dietary strategies to improve nutritional value, oxidative stability, and sensory properties of poultry product. *Critical Reviews in food science and nutrition* 49:800-822.
- Bourre, J.; Dumont, O.; Piciotti, M.; Clément; M. & Durand, G. 1997. Comparison of vegetable and fish oil in the provision of n-3 polyunsaturated fatty acids for nervous tissue and selected organs *Nutr. Journal. Biochem.* 8:472-478.
- Boveris, A. 2005. La evolución del concepto de radicales libres en biología y medicina. *Ars. Pharm.* 46(1):85-89.
- Brannam, R. & Erickson, M. 1996. Quantification of antioxidant in canal catfish during storage. *J. Agricultural and Chemistry* 4(6):1361-1366.
- Bramley; P.; Elmadfa, I.; Kafatos, A.; Kelly, F.; Manios, Y; Roxborough, H.; Schuch, W. Seehyp & Wagner K. 2000. Vitamin E. *J. Sci. Food Agr.* 80:913-938.
- Brenes, A.; Viveros, A.; Goñi, I.; Centeno, C.; Sáyago-Ayerdy S.; Arija, I. & Saura-Calixto. F. 2008. Effect of grape pomace concentrate and vitamin E on digestibility of polyphenols and antioxidant activity in chickens. *Poultry Sci* 87: 307-316.
- Brenna, J. 2002. Efficiency of conversion of alpha-linolenic acid to long chain n-3 fatty acids in man. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 5(2):127-32.
- Brigelius- Flohé, R. 1999. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidase. *Free radical biology & Medicine* 27(9/10):951- 961.

- Bronte-Stewart B.; Antonis, A.; Eales, L. & Brock, J. 1956. Effects of feeding different fats on serum-cholesterol level. *Lancet*; 270(6922):521-526.
- Brown, K. & Arthur, J. 2001. Selenium, selenoproteins and human health: a Review. *Public Health Nutrition* 4(2):593-599
- Brown, K.; Pickard, K.; Nicol, F. Beckett, G.; Duthie, G. & Arthur, J. 2000. Effects of organic and inorganic selenium siplementation on selenoenzyme activity in blood lymphocytes, granulocytes, platelet and erythrocytes. *Clinical Science* 98 (5):593-599
- Bruinsma, K. & Taren, D. 2000. Dieting, essential fatty acid intake, and depression. *Nutr. Rev.* 58(4):98-108.
- Bunk, M. & Combs, G. 1981. Relationship of selenium-dependent glutathione peroxidase activity and nutritional pancreatic atrophy in selenium-deficient Chicks. *J. Nutr.* 111:1611-1620.
- Burr, M.; Fehily, A.; Gilbert, J.; Rogers, S.; Holliday, R. & Sweetnam, P. 1989. Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet* 2(8666):757-61.
- Burton, G. & Ingold, K. 1986. Vitamin E: Application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. *Acc. Chem. Res.* 19(7):194-201.
- Burton, G. & Traber, M. 1990. Vitamin E: Antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability. *Annu. Rev. Nutr.*; 10:357-82.
- Buttriss, J. & Diplock, A. 1988. The alpha-tocopherol and phospholipid fatty acid content of rat liver subcellular

membranes in vitamin E and selenium deficiency. *Biochem. Biophys. Acta* 963(1):61-9.

Buttriss, J. & Diplock, A. 1984. High-performance liquid chromatography methods for vitamin E in tissues. *Methods Enzymol.* 105:131-138.

Cachaldora, P.; De Blas, J.; García-Rebollar, P.; Álvarez, C. & Méndez, J. 2005a. Effects of type and level of supplementation with dietary n-3 fatty acids on yolk fat composition and n-3 fatty acid retention in hen eggs. *Span J. Agric. Res.* 3(2):209-212.

Cachaldora, P.; García-Rebollar, P.; Álvarez, C. Méndez, J. & De Blas, J. 2005b. Double enrichment of chickens eggs with conjugated linoleic acid and n-3 fatty acids through dietary fat supplement. *Anim. Feed Sci. Technol.* 144:315-326.

Calvani, M. & Benatti, P. Polyunsaturated fatty acids (PUFA). 2003. Disponible en: [URL:http://www.sths.it/TMA\\_Forum/PUFA%20-%20Calvani%20Benatti%20-%20Feb%202K3.pdf](http://www.sths.it/TMA_Forum/PUFA%20-%20Calvani%20Benatti%20-%20Feb%202K3.pdf). (Acceso Marzo 2010).

Canadian Food Inspection Agency. 2003. Guide to Food Labelling and Advertising. <http://www.inspection.gc.ca/english/fssa/labeti/guide/ch7be.shtml#7.19> (Acceso Abril 2010).

Carreras Ferrer I., 2004. Influencia de la suplementación de antioxidantes y de la administración de enrofloxacin en la calidad y seguridad de la carne de ave. Tesis doctoral Universidad de Girona.

Carlson, S.; Rhodes, P. & Ferguson, M. 1986. Docosahexaenoic acid status of preterm infants at birth and following feeding with human milk or formula. *Am. J. Clinical Nutrition* 44(6):798-804.

- Castillo-Badillo, J.; Vazquez-Valladolid, M.; Gonzales Alcorta, E.; Morales-Barrera, E.; Castillo-Domínguez E. & Castillo-Domínguez, S. 2005. El aceite de atún como fuente de ácidos grasos w-3 en el huevo de gallina. *Grasas y Aceites* 56:153-159.
- Caygill, C. & Hill, M. 1995. Fish, n-3 fatty acids and human colorectal and breast cancer mortality. *Eur. J. Cancer Prev.* 4(4):329-32.
- Caygill, C.; Charlet, A. & Hill, M. 1997. Fat, fish, fish oil and cancer. *British Journal of Cancer* 74:159-64.
- Chanmugam, P.; Boudreau, M.; Boutte, T.; Park, R.; Hevert, J., Berrio; L. & Hwang, D. 1992. Incorporation of different types of n-3 fatty acids into tissue lipids of poultry. *Poultry Science* 71:516-521.
- Chantiratikul, A.; Chinrasri, O. & Chintiratikul, P. 2008. Effect of sodium selenite and zinc-L-seleniomethionine on performance and selenium concentrations in eggs of laying hens. *Asina –aust. J. Anim. Sci.* 20:(7)1048-1052.
- Chen, K.; Yang, S. & Su, J. 1993. The colesteroloxidation products contents of meat as affected by different heating methods. *Proceeding of the 11th European symposium on the quality of poultry meat.* Tours. Francia 412-422.
- Cherian, G; Wolfe, F. & Sim, J. 1996. Dietary oils with added tocopherols: Effects on egg or tissue tocopherols, fatty acids, and oxidative stability. *Poult Sci.* 75(3):423-431.
- Chihuailaf, R.; Contreras, P. & Wittner, F. 2002. Patogenesis del estrés oxidativo: consecuencias y evaluación en la salud animal. *Vet. Méx.* 33(3)265-283.
- Choct, M. & Naylor, A. 2004. The effect of dietary selenium source and Vitamin E on performance of male broilers. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 17(7):1000-1006.

- Clarke, S. & Jump, D. 1994. Dietary polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription. *Annu. Rev. Nutr.* 14:83-98.
- Cleland, L.; James, M. & Proudman, S. 2003. The role of fish oils in the treatment of rheumatoid arthritis. *Drugs*.63:845-53.
- Cobb - Broiler nutrition supplement. 2004. Disponible en: URL:<http://www.cobb-vantress.com/>. (Acceso Abril 2009).
- Cobb - Broiler nutrition supplement. 2014. Disponible en: URL:<http://www.cobb-vantress.com/>. (Acceso Enero 2014).
- Cobos, A., De La Hoz Perales, L.; Cambero. M. & Ordoñez, J. 1994. Revisión: Influencia de la dieta animal en los ácidos grasos de los lípidos de la carne. *Revista española de ciencia y tecnología de alimentos* 34:(1)333-551.
- Código Alimentario Argentino. C.A.A. 1985. Tomo II. De La Canal y Asociados S.R.L. Buenos Aires. Argentina 11.3 y 11.5.
- Coetzee, G. & Hoffman, C. 2001. Effect of dietary vitamin E on the performance of broilers and quality of broiler meat during refrigerated and frozen storage. *South African Journal of Animal Sci.* 31(3)158-172.
- Combs, G. Jr. 1992. The vitamins, fundamental aspect in nutrition and health. Academic press Inc. San Diego, California. Capitulo 7.
- Combs, G. & Combs, S. 1984. The nutritional biochemistry of selenium. *Annual Review of Nutrition* 4:257-280
- Connor, W.; Prince, M.; Ullmann, D.; Riddle, M.; Hatcher; L. & Smith, F. 1993. The hypotriglyceridemic effect of fish oil in

adult-onset diabetes without adverse glucose control. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 683:337-340.

Coronado Herrera, M.; Vega y León, S.; Gutiérrez Tolentino, R.; García Fernández, B. & Díaz Gonzáles, G. 2006. Los ácidos graso omega-3 y omega-6: nutrición, bioquímica y salud. *REB* 25(3):72-79.

Cortinas Hernández, L. 2004. Niveles de ácidos grasos poliinsaturados y  $\alpha$ -tocoferol en el pienso de broilers: equilibrio entre composición lipídica y estabilidad oxidativa de la carne [Tesis Doctoral]. Barcelona, España: Universitat Autònoma de Barcelona.

Cortinas, L.; Villaverde, C.; Galobar, J.; Bausells, M.; Codony, R. & Barroeta, A. 2004. Fatty acid content in chicken thigh and breast as affected by dietary polyunsaturation level. *Poultry Science* 83:1155-1164.

Craig, R. & Sons, M. 2004. Application for approval of whole chia (*Salvia hispanica L*) seed and ground whole chia as novel food ingredients. Advisory committee for novel foods and processes Company David Armstrong Ireland 1-29.

Crespo, N. & Esteve-García, E. 2001. Dietary fatty acid profile modifies abdominal fat deposition in broiler chicken. *Poultry Science* 80:71-78.

Crespo-Alcarria, N. & Esteve-Garcia, E. 2002. Nutrient and fatty acid deposition in broilers fed different dietary fatty acid profiles. *Poultry Science* 81(10):1533-1542.

Cunnane, S.; Hamadeh, M.; Liede, A.; Thompson, I.; Wolever, T. & Jenkins, D. 1995. *Am. J. Clin. Nutr.* 61(1)62-68.

Curtis, C.; Hughes, C.; Flannery, C.; Little, C.; Harwood, J. & Caterson, B. 2000. n-3 fatty acids specifically modulate

catabolic factors involved in articular cartilage degradation. *J. Biol. Chem.* 275(2):721-724.

De Blas, J.; Álvarez, C.; Cachaldora, P.; García-Rebollar, P. & Méndez, J. 2005. Calidad sensorial de huevos y carne de aves enriquecidos en ácidos grasos omega-3 y ácido linoleico conjugado. En: García-Rebollar, P.; De Blas, J.; González-Mateos, G. Editores. XXI Curso de Especialización FEDNA. Madrid, España. FEDNA 15-34.

De Caterina, R.; Caprioli R.; Giannessi, D.; Sicari, R.; Galli, C. & Lazzarini, G. 1993. n-3 fatty acids reduce proteinuria in patients with chronic glomerular disease. *Kidney Int* 1993 44(4):843-850.

Delezie, E.; Bruggeman, V.; Swennen, Q.; Decuypere, E. & Huyghebaert, G. The impact of nutrient density in terms of energy and/or protein on live performance, metabolism and carcass composition of female and male broiler chickens of two commercial broiler strains. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 94:509-518.

De Lorgeril, M.; Salen, P.; Martin, J.; Monjaud, I.; Delaye, J. & Mamelle, N. 1999. Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyons diet heart study. *Circulation* 99(6):779-785.

De Lorgeril, M.; Salen, P.; Martin, J.; Mamelle, N.; Monjaud, I. & Touboul, P. 1996. Effect of a mediterranean type of diet on the rate of cardiovascular complications in patients with coronary artery disease. Insights into the cardioprotective effect of certain nutriments. *J. Am. Coll. Cardiol.* 28(5):1103-1108.

De Lorgeril, M.; Renaud, S.; Mamelle N.; Salen, P.; Martin, J.; Monjaud, I.; Guidollet, J.; Toboult, P. & Delalle, J. 1994. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary

- prevention of coronary heart disease. *Lancet*; 343(8911):1454-1459.
- De Winne, A. & Dirinck, P. 1996. Studies on vitamin E and meat quality. 2. Effect of feeding high vitamin E level on chicken meat quality. *J. Agric. Food Chem.* 44:1691-1696.
- Deniz, G.; Gezen, S. & Turken, I. 2005. Effect of two suplementak dietary selenium sources (mineral and organic) on broiler performance and drip-loss. *Revue Méd.* 156, 8-9, 423-426
- Descalzo, A.; Rossetti, L.; Gallinger, C.; Iglesias, B.; Federico, F.; Azcona, J. & González, C. 2006. Balance de vitaminas antioxidantes y desarrollo de oxidación en músculo de pollos alimentados con dietas ricas en ácidos grasos n-3. En *Proceedings del II Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Córdoba, 15-17 Noviembre, 2006.*
- Domenech, R. 2009. Evolución de la avicultura. Disponible en: URL:[http://www.aviculturaargentina.com.ar/evolucion\\_avicultura.htm](http://www.aviculturaargentina.com.ar/evolucion_avicultura.htm). (Acceso Mayo 2010).
- Donadio, J.; Bergstralh, E.; Offord, K.; Spencer, D. & Holley, K. 1994. A controlled trial of fish oil in IgA nephropathy. *N. Engl. J. Med.* 331(18):1194-1199.
- Eaton, S. & Konner, M. 1985. Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. *N. Engl. J. Med.* 312(5):283-289.
- EFSA. European Food Safety Authority. 2012. Commission Regulation N 432/2012 of 16 may 2012 establishing a list of permitted health claims made on food, other than those referring ti the reduction of disease risk and to children´s development and health. Register on nutrition and health claims n°432/2012. *Official Journal of the European Union* L.136, 1-40.

- Egert, S.; Kannenberg F.; Somoza, V.; Erbersdoble, H. & Wahrburg, U. 2009. Dietary pha-linolenic acid, EPA, and DHA have differential effects on LDL fatty acid composition but similar effects on serum lipid profiles in normolipidemic humans. *J. Nutrition* 139(5):861-868.
- Emken, E.; Adlof, R.; Hachey, D.; Garza, C.; Thomas, M. & Brown-Booth, L. 1989. Incorporation of deuterium-labeled fatty acids into human milk, plasma, and lipoprotein phospholipids and cholesteryl esters. *J. Lipid Res.*, 30(3):395-402.
- Endres, S.; Ghorbani, R.; Kelley, V.; Georgilis, K.; Lonnemann, G. & Van der Meer, J. 1989. The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *N. Eng. J. Med* 320(5):265-71.
- Engberg, R.; Lauridsen C.; Jensen S.; Jakobsen, K. 1996. Inclusion of oxidized vegetable oil in broiler diets. Its influence on nutrient balance and on antioxidative status of broilers. *Poult. Science*.75:1003–1011.
- Erickson, M. 1998. Lipid oxidation of muscle foods. En: *Food Lipids Chemistry, Nutrition and Biotechnology*. Akoh CC. Min DB. Eds Dekker Inc. New York, EUA 1998.
- Esterbauer, H.; Schaur, R. & Zollner, H. 1991. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Radical Biol. Med.* 11:81-128.
- Estudio Mundial "Información Nutricional y Actitud del Consumidor ante Productos Saludables y Orgánicos". 2005; Disponible en: URL:[http://www.ar.nielsen.com/reports/documents/Estudio Informacion NutricionalOrganicos Esp final.pdf](http://www.ar.nielsen.com/reports/documents/Estudio%20Informacion%20NutricionalOrganicos%20Esp%20final.pdf). (Acceso Mayo 2010).

- Evans, H. & Bishop, K. 1922. On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science* 56(1458):650-1.
- FAO and WHO. 2002: vitamin E. Chapter 9. <http://www.fao.org/docrep/004/y2809e/y2809e0f.htm>
- Fay, M.; Freedman, L.; Clifford, C. & Midthune, D. 1997. Effect of different types and amounts of fat on the development of mammary tumors in rodents: A review. *Cancer Res.* 57(18):3979-3988.
- Feliu, M.; Piñeiro, A.; Lopez, C. & Slobodiank, N. 2005. Valores de referencia de Cobre, Zinc y selenio en niños. *Acta Bioquim. Clin. Latinoam.* 39(4):459-462.
- Fernández, M. & Marsó, A. 2003. Estudio de la carne en tres dimensiones: valor nutricional, representación social y formas de preparación. [www.nutrinform.com/pagina/info/pollo.pdf](http://www.nutrinform.com/pagina/info/pollo.pdf) (Acceso Febrero 2011).
- Flachowsky, G.; Engelman, D.; Sunder A.; Halle, I. & Sallmann, H. 2002. Eggs and poultry meat as tocopherol source in dependence on tocopherol supplementation of poultry diets. *Food Research International* 35:239-243.
- Folch, J.; Lees, M. & Stanley, G. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226(1):497-509.
- Frankel, E. 1998. Foods. En: *Lipid oxidation*. The oil Press Ltd, Dundee, Scotland 187-225.
- Frankel, E. 1991. Recent advances in lipid oxidation. *J. Sci. Food. Agric.* 54:495-511.
- Frasure-Smith, N.; Lesperance, F. & Julien, P. 2004. Major depression is associated with lower omega-3 fatty acid

- levels in patients with recent acute coronary syndromes. *Biol. Psychiatry* 55(9):891-896.
- Fukuzagawa, K. 2008. Dynamics of lipid peroxidation and antioxidant of  $\alpha$ -tocopherol in membranes. *Journal of Nutrition Science and Vitaminology*. 54(4):273-285.
- Gaard, M.; Tretli, S. & Loken, E. 1996. Dietary factors and risk of colon cancer: a prospective study of 50,535 young Norwegian men and women. *Eur. J. Cancer Prev.*; 5(6):445-454.
- Gallo-Torres, H. 1970. Obligatory role of bile for the intestinal absorption of vitamin E. *Lipids* 5(4):379-384.
- Gallo-Torres, H.; Weber, F. & Wiss, O. 1971. The effect of different dietary lipids on the lymphatic appearance of vitamin E. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 41(4):504-515.
- Galvin, K; Morrissey, P. & Buckley, D. 1997. Influence of dietary vitamin E and oxidised sunflower oil on the storage stability of cooked chickens muscle. *British Poultry Science* 38:499-504.
- Gerter, H. 1998. Can adults adequately convert Alpha linolenic acids (18:3n-3) to Eicosapentaenoic acids (20:5n-3) and docosahexanoic acids (22:6n-3)? *Review Internat. J. Vit. Nutr. Res.* 68:159-173.
- Geusen, P.; Wouunter, C.; Nijs, J. & Dequekers, J. 1994. Long-term effect of omega 3 fatty acids supplementation in active rheumatoid arthritis. *Arthritis Rehum.* 37:824-829.
- Gómez Dumm, I. & Brenner, R. 1975. Oxidative desaturation of alpha-linoleic, linoleic, and stearic acids by human liver microsomes. *Lipids* 10(6):315-317.
- Goñi, I.; Brenes, A.; Centeno, C.; Viveros, A.; Saura Calixto, F.; Rebolé, A.; Arijá, I. & Estevez, R. 2007 Effect of dietary

grape pomace and vitamin E on growth performance, nutrient digestibility, and susceptibility to meat oxidation in chickens. *Poultry Science* 86:508-516.

González-Esquerro, R. & Lesson, S. 2000. Effect of menhaden oil and flaxseed in broiler diets on sensory quality and lipid composition of poultry meat. *British Poultry Science* 41:481-488

Graber, R.; Sumida, C. & Núñez, E. 1994; Fatty acids and cell signal transduction. *J. Lipid Mediat. Cell Signal* 9(2):91-116.

Graham, C. & Clader, P. 2006. Dietary  $\alpha$ -linolenic acid and health-related outcomes: a metabolic perspective. *Nutrition Research Reviews* 19:26-52.

Grashorn, M. 2007. Functionality of poultry meat. *J. Appl. Poult. Res.* 16(1):99-106.

Grau, A.; Guardiola, F.; Grimpa, S.; Barroeta, A. & Codony, R. 2001a. Oxidative stability of dark chicken meat through frozen storage: influence of dietary fat source, and  $\alpha$ -tocopherol and ascorbic acid supplementation. *Poultry Science* 80:1630-1642.

Grau, A.; Codony, R.; Grimpa, S.; Baucells, D. & Guardiola, F. 2001b. Cholesterol oxidation in frozen dark chicken meat: influence of dietary fat source, and  $\alpha$ -tocopherol and ascorbic acid supplementation. *Meat Science* 57:197-208.

Grau, A.; Codony, R.; Grimpa, S.; Baucells, D. & Guardiola, F. 2001c. Cholesterol oxidation in frozen dark chicken meat: influence of dietary fat source, and  $\alpha$ -tocopherol and ascorbic acid supplementation. *Meat Science* 57:197-208.

Grau, A.; Guardiola, F.; Boatella, J.; Baucells, D. & Codony, R. 2001d. Evaluation of lipid ultraviolet absorption as a

parameter to measure lipid oxidation in dark chicken meat  
J. Agric. Food Chem. 48:4128-4135.

Grau, A.; Guardiola, F.; Bou, R. & Codony, R. 2000. Influencia de la dosis y el tiempo de suplementación del pienso con acetato de alfa tocoferol en la calidad de la carne de pollo. Alimentación, Nutrición y Salud I. 7(4):91-98.

Grau, A. 2000. Oxidación lipídica en carne de pollo: influencia del grado de insaturación de la dieta y de su complementación con ácido ascórbico y alfa-tocoferol Tesis Doctoral. Universitat de Barcelona, Facultad de Farmacia.  
[http://www.tdx.cesca.es/TESIS\\_UAB/AVAILABLE/TDX-0207105-162736/lch4de4.pdf](http://www.tdx.cesca.es/TESIS_UAB/AVAILABLE/TDX-0207105-162736/lch4de4.pdf)

Guo. Y.; Zhang, G.; Yuan, J. & Nie, W. 2003. Effect of source and level of magnesium and vitamin E on prevention of hepatic peroxidation and oxidative deterioration of broiler meat. Animal Feed Science and Technology 107:143-150.

Gutiérrez Salinas, J. 2006. ¿Qué sabe usted acerca de los radicales libres? Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas 37(4)66-73.

Gutteridge, J. 1975. The use of standars form malonyldialdehyde. Anal. Biochem. 69:518-526.

Gutteridge, J. 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin. Chem. 41(12):1819-1828.

Hagve, T. & Christophersen, B. 1984. Effect of dietary fats on arachidonic acid and eicosapentaenoic acid biosynthesis and conversion to C22 fatty acids in isolated rat liver cells. Biochim. Biophys. Acta 796(2):205-217.

- Halliwell, B. 1994. Free radicals and antioxidants: A Personal View. *Nutrition Reviews* 52(8):253-265.
- Halliwell, B.; Murcia, M.; Chirico, S. & Aruona, O. 1995 .Free radicals and antioxidants in food and vivo: what they do and how they work. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 35:7-20.
- Haug, A; Christophersen, O. & Sogn, T. 2011. Chicken Meat Rich in Selenium and Omega-3 Fatty Acids. *The Open Agriculture Journal* 5:30-36.
- Hernández-Triana, M. 2004. Recomendaciones nutricionales para el ser humano. *Invest. Biomed.* 23(4):266-292.
- Hidalgo, F.; Zamora, R & Alaiz, M. 1992. Modificaciones producidas en las proteínas alimentaria ppor suinteraccion con lípidos peroxidados. II Mecanismo conocidos de la interaccion lípido (oxidado)-Proteína. *Grasas y Aceites* 43(1) 31-38.
- Higginns, F.; Kerry, J.; Buckley, D. & Morrissey P. 1998. Effect of dietary  $\alpha$ -tocopherol acetate supplementation on  $\alpha$ -tocopherol acetate in raw turkey muscles and its effect on the storage stability of cooked turkey meat. *Meat Sci.* 50:(3)373-383.
- Higginns, F.; Kerry, J.; Buckley, D. & Morrissey, P. 1999. Effect of  $\alpha$ -tocopherol acetate supplementation and sal addition on oxidative stability (TBARS) and warmerd-over flavour (WOF) of cooked turkey meat. *British Poultry Science* 40(59)64-72.
- Hilakivi-Clarke, L.; Onojafe, L.; Raygada, M.; Cho, E.; Clarke, R. & Lippman, M. 1996. Breast cancer risk in rats fed a diet high in n-6 polyunsaturated fatty acids during pregnancy. *J. Natl. Cancer Ins.* 88(24):1821-1827.

- Hilakivi-Clarke, L.; Clarke, R.; Onojafe, I.; Raygada, M.; Cho, E. & Lippman, M. 1997. Maternal diet high in n-6 polyunsaturated fats alters mammary gland development, puberty onset, and breast cancer risk among female rat offspring. *PNAS* 94(17):9372-9377.
- Honigmann, G.; Schimke, E.; Beitz, J.; Mest, H. & Schliack, V. 1982. Influence of a diet rich in linolenic acid on lipids, thrombocyte aggregation and prostaglandins in type I (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 23:175. <http://www.inspection.gc.ca/english/fssa/labeti/guide/ch7be.shtml#7.19> (Acceso Enero 2013).
- Hui-Chun, W.; Chyuan-Yuan, S.; Hua-Ming, C. & Tze-Kuei, C. 2003. Antioxidant activities of carnosine, anserine, some free amino acids and their combination. *Journal of Food and Drug Analysis* 11(2):148-153.
- Imai, H.; Narashima, K.; Arai, M. 1998. Superexpression of leukotriene formation in RBL-2H1 cell that over expressed phospholipids hidroperoxide glutationes peroxidase. *J. Biol. Chem.* 273:1990-1997.
- Ingold, K.; Bowry, V.; Stocker, R. & Walling, C. 1993. Autoxidation of lipids and antioxidation by  $\alpha$ -tocopherol and ubiquinol in homogeneous solution and in aqueous dispersions of lipids: Unrecognized consequences of lipid particle size as exemplified by oxidation of human low density lipoprotein. *PNAS* 90(1):45-49.
- Ingold, K.; Burton, G.; Foster, D.; Zuker, M.; Hughes, L. & Lacelle, S. 1986. A new vitamin E analogue more active than alpha-tocopherol in the rat curative myopathy bioassay. *FEBS Lett.* 205(1):117-120.
- Innis, S. 1991. Essential fatty acids in growth and development. *Prog. Lipid Res.* 30(1):39-103.

- Innis, S. 2005. Essential fatty acid transfer and fetal development. *Placenta* 26 Suppl A:S70-S75.
- IRAM. 1985. Instituto Argentino de Normalización, Norma 20002. Análisis Sensorial. Directivas Generales para la Metodología.
- ISSFAL. International society for the study of fatty acid and lipid. 2007. Global Recommendations <http://www.issfal.org.uk/index.php/lipid-matters-mainmenu-8/recommendations-of-others-mainmenu-31> (Acceso Junio 2010).
- Jensen C.; Engberg, R.; Jakobsen K.; Skibsted, L. & Bertelsen, G. 1997. Influence of the oxidative quality of dietary oil on broiler meat storage stability. *Meat Sci.* 47:211-222.
- Jensen, C.; Lauridsen, C. & Bertelsen, G. Dietary vitamin E: 1998.;Quality and storage stability of pork and poultry. *Trends Food. Sci. Technol.* 9(2):62-72.
- Jensen, C.; Skibsted, L. & Bertelsen, G. 1995. Supplementation of broilers diets with all rac- $\alpha$  or a mixture of natural source RRR-  $\alpha$ - $\gamma$ - $\delta$  Tocopheril acetate. 2. Effect on the oxidative stability of raw and precooked broiler meat product. *Poultry Science* 74:2048-2056.
- Jensen S.; Soren, K.; Engberg, R. & Hedemann, M. 1999. All-rac-alfa- tocopherol acetate is a better vitamin E source than all-rac-alfa-tocopherol succinate for broilers. *American Society for Nutritional Science* 129(7):1355-1360.
- Jeun-Horng, L.; Yuan-Hui, L. & Chun-Chin, K. 2002. Effect of dietary fish oil on fatty acid composition, lipid oxidation and sensory property of chickens frankfurters during storage. *Meat Science* 60(2): 161-167.

- Jimenez, P.; Masson, S. & Quitral, V. 2013. Chemical composition of chia seed, flaxseed and rosehip and its contribution in fatty acids omega-3. *Rev. Chil. Nutr.* 40(2)155-160.
- Kamal-Eldin, A. & Appelqvist, L. 1996. The chemistry and antioxidante properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids* 31(7)671-701.
- Kanner, J.; German, J. & Kinsella, J. 1987. Initial membranal lipid peroxidación in biological systems. *Arch. Biochem. Biophys.* 237:314-321.
- Kennedy, O.; Stewart-Knox, B.; Mitchell, P. & Hurnham, D. 2005. Vitamin E supplementation, cereal feed type and consumer sensory perceptions of poultry meat quality. *British Journal Nutrition* 93: 333-338.
- Keys, A; Anderson, J. & Grande, F. 1957. Prediction of serum-cholesterol responses of man to changes in fats in the diet. *Lancet* 273(7003):959-966.
- Kim, A.; Uijttenboogaart, T. & Vries, A. 1995.  $\alpha$ -tocopherol , $\beta$ -carotene and ascorbic acids as antioxidant in stored poultry muscle. *J. Food Sci.* 60:1009-1012.
- Kim, Y.; Park, W. & Choi, I. 2010. Effect of dietary alfa tocopherol, selenium and their different combination on growth performance and meat quality of broiler chickens. *Poult Sci.* 89:603-608.
- Klauss, A.; Fuhrmann, H. & Sallmann, H. 1995. Peroxidative and antioxidative metabolism of the broiler chickens as influenced linolenic acid and vitamin E. *Arch. Ge flügelk* 59(2)135-144.
- Komprda, T. 2012. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids as inflammation-modulating and lipid homeostasis

influencing nutraceuticals: A review. *Journal of Functional Foods* 4:25-38.

Kremer, J. 1996. Effects of modulation of inflammatory and immune parameters in patients with rheumatic and inflammatory disease receiving dietary supplementation of n-3 and n-6 fatty acids. *Lipids* 31(1):243-247.

Kris-Etherton, P.; Daniels, S.; Eckel, R.; Engler, M.; Howard; B. & Krauss, R. 2001. Summary of the scientific conference on dietary fatty acids and cardiovascular health: Conference summary from the nutrition committee of the American Heart Association. *Circulation* 103(7):1034-1039.

Krogdahl, A. 1985. Digestion and absorption of lipids in poultry. *J.Nutr.* 115:675-685.

Kubena, L.; Deaton; J.; Chen, T. & Reece, F. 1974. Factors influencing the quantity of abdominal fat in broilers. 1. Rearing temperature, sex, age or weight, and dietary choline chloride and inositol supplementation. *Poultry Science* 53:211-214.

Kubo, K.; Saito, M.; Tadokoro, T. & Maekawa, A. 1997. Changes in susceptibility of tissues to lipids peroxidation after ingestion of various levels of docosahexanoic acids and vitamin E expected from peroxidizability index of the lipids. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62(9):1698-1706.

Kuhlenkamp, J.; Ronk, M.; Yusin, M.; Stolz, A. & Kaplowitz, N. 1993. Identification and purification of a human liver cytosolic tocopherol binding protein. *Protein Expr. Purif.* 4(5):382-389.

Kühn, H. & Borchert, A. 2002. Serial Review: regulatory and cytoprotective aspects of lipids hydroperoxidemetabolism. *Free Radical Biology & Medicine* 33(2):154-172.

- Kwok, T.; Woo, J.; Ho, S. & Sham, A. 2000. Vegetarianism and ischemic heart disease in older chinese women. *J. Am. Coll. Nutr.* 19(5):622-627.
- Lanari, M.; Hewavitharana, A.; Becu, C. & Jong, S. 2003. Effect dietary tocopherols and tocotrienols on the antioxidant status and lipids stability of chickens. *Meat Science* 68:155-162.
- Lauridsen, C.; Jensen, C.; Jakobsen, K.; Engberg, R.; Andersen, J., Jensen, C.; Sørensen, P.; Henckel, P.; Skibsted, L. & Bertelsen G. 1997a. The influence of vitamin C on the antioxidative status of chickens in vivo, at slaughter and on the oxidative stability of broiler meat products. *Acta Agric. Scand. Animal Sci.* 47:187-196.
- Lauridsen, C.; Buckley, D. & Morrissey, P. 1997b. Influence of dietary fat and vitamin E supplementation on alpha-tocopherol levels and fatty acid profiles in chicken muscle membranal fractions and on the susceptibility to lipid peroxidation. *Meat Science* 46(1):9-22.
- Lauritzen, L.; Hansen, H.; Jorgensen, M. & Michaelsen, K. 2001. The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. *Prog. Lipid. Res.* 40:1-94.
- Leaf, A. & Weber, P. 1987. A new era for science in nutrition. *Am. J. Clinical Nutrition* 45(5):1048-1053.
- Leaf, A. & Weber P. 1988. Cardiovascular effects of n-3 fatty acids. *N. Engl. J. Med* 318(9):549-557.
- Leaf, A. 1990. Cardiovascular effects of fish oils. Beyond the platelet. *Circulation* 82(2):624-628.
- Leskanich, C. & Noble, R. 1997. Manipulation of the n-3 polyunsaturated fatty acid composition of avian eggs and meat. *World Poultry Science Journal* 53:155-183.

- Leyton, J.; Drury, P. & Crawjoed, M. 1987. Diferencial oxidation of saturated and unsaturated fatty acids in vivo in the rat. *British Poultry Science* 57:383-393.
- Liebler, D. 1983. The role of metabolism in the antioxidant function of vitamin E. *Crit. Rev. Toxicol.* 23(2):147-169.
- Lien, T. & Horng, Y. 2001. The effect of supplementary dietary L- carnitine on the growth performance, serum components, carcass traits and enzyme activities in relation to fatty acid beta-oxidation of broiler chickens. *British Poultry Science* 42:92-95.
- Lin, C.; Gray, A.; Asghar, D.; Buckley, A.; Booren, A. & Flegal, C. 1989. Effects of dietary oils and  $\alpha$ -tocopherol supplementation on lipid composition and stability of broiler meat. *J. Food Sci.* 54:1457-1460.
- Liu, Y.; Jensen, S. & Eggum, B. 1995. The influence of seed size on digestibility and growth performance of broiler chickens fed full-fat rapeseed. *J. Sci. Food Agric.* 67(1):135-140.
- Lopez- Bote, C.; Gray, I.; Goma, E. & Flegal, C. 1998. Effect of dietary administration of oil extracts from rosemary and sage on lipid oxidation in broiler meat. *British Poultry Science* 39(2)235- 240.
- López Farré, A. & Macaya, C. 2006. Efectos antituberculosos y antiinflamatorios de los ácidos grasos omega-3. *Rev. Esp. Cardiol. Supl.* 31D-35D.
- López-Bote, C.; Rey, A.; Sanz, M.; Gray, I. & Buckley, D. 1997. Dietary vegetable oils and  $\alpha$ -tocopherol reduced lipid oxidation in Rabbit muscle. *J. Nutr.* 127:1176-1182.
- López-Bote, C.; Ruiz, J. & Daza, A. 2003. Effect of vitamin E supplementation and partial substitution of poly with monounsaturated fatty acids in pig diets, muscle and

micosome extract  $\alpha$ -tocopherol concentration and lipids oxidation. Arch. Anim. Nutr. 57:11-27.

López-Díaz Guerrero, N.; López-Araiza, H.; Conde-Pérezprina J.; Buzio, L.; Cárdenas Aguayo, M.; Ventura, J.; Covarrubias, L., Gutiérrez-Ruiz M.; Zentella, A. & Konigsberg, M. 2005. Bcl-2 protects against oxidative stress while inducing premature senescence. Free Rad. Biol. Med. 40:1161-1169.

López-Ferrer, S.; Baucells, M.; Barroeta, A. & Grashorn, M. 1999. N-3 enrichment of chicken meat using fish oil: alternative substitution with rapeseed and linseed oils. Poultry Science 78:356-365.

López-Ferrer, S.; Baucells, M.; Barroeta, A. & Grashorn, M. 2001. N-3 Enrichment of chicken meat. 1. Use of very long-chain fatty acids in chicken diets and their influence on meat quality. Poultry Science 80:741-752.

Lorenzo, J.; Purriños, I.; Cobas, N.; Hermida, G.; Montes R. & Franco, D. 2011. Diferencias nutricionales entre el muslo y pechuga procedentes del Capón Villalba. En XLVII Simposio de Avicultura en Santiago de Compostela 5-7 octubre de 2011.

Lu, Q.; Wen, J. & Zhang, H. 2007. Effect of chronic heat exposure on fat deposition and meat quality in two genetic types of chicken. Poultry Science 86:1059–1064.

Lyengar, V. & Woittiez, J. 1998. Trace elements in human clinical specimens: evaluation of literature data to identify reference values. Clin. Chem. 34:474-481.

Lyons, M.; Papazyan, T. & Surai, P. 2007. Selenium en food chain and animal nutrition: Lessons from nature - Review. Asian–Australasian Journal of Animal Sci. 20(7):1135-1155.

- Machlin, L.; Gabriel, E.; Horn, L.; Woo, D.; Filipski, R. & Brin, M. 1980. Effects of aspirin and related drugs in vitamin E-deficient rats. *J. Nutr.* 110(10):1958-1964.
- Maestro Durán, R. & Padilla, B. 1993. Actividad antioxidante de las vitaminas C y de la Provitamina A. *Grasas y Aceites.* 44(2):107-111.
- Mandalari, G.; Bisignano, C.; Filocamo, A.; Chessa S.; Saro, M.; Torre, G.; Faulks, R. & Dugo, P. 2013. Bioaccessibility of pistachio polyphenols, xanthophylls, and tocopherols during simulated human digestion. *Nutrition* 29:338–344.
- Manzanares Castro, W. 2007. Selenio en los pacientes críticos con Respuesta Inflamatoria Sistémica. *Nutr. Hosp.* 22(3):295-306.
- Maraschiello, C.; Sarrága, C. & García Regueiro, J. 1999. Glutathione peroxidase activity, TBARs, and  $\alpha$ -tocopherol in meat from chicken fed different diets. *J. Agric. Food Chem.* 47:867-872.
- Marion, J. & Woodroof, J. 1963. The fatty acid composition of breast, thigh and skin tissues of chicken broilers as influenced by dietary fats. *Poultry Science* 42:1202-1207.
- Mayer, H.; Schudel, P.; Rüegg, R. & Isler, O. 1963. Über die chemie des vitamins E. 3. Mitteilung. Die totalsynthese von (2R, 4R, 8R)- und (2S, 4R, 8R)- $\alpha$ -tocopherol. *Helv. Chim. Acta* 67(2):650-71.
- Mayser, P.; Grimm, H. & Grimminger, F. 2002. n-3 fatty acids in psoriasis. *Br. J. Nutr.* 87 Suppl 1:77-82.
- Menoyo, D.; López-Bote, C.; Obach, A. & Bautista, J. Effect of dietary fish oil substitution with linseed oil on performance, tissue fatty acid profile, metabolism, and oxidative stability of Atlantic salmon. *J. Anim. Sci.* 83:2853-2862.

- Mercier, Y.; Gatellier, P.; Viau, M.; Remington, H. & Renerre, M. 1998. Effect of dietary fat and vitamin E on colour stability and on lipid and protein oxidation in Turkey meat during storage. *Meat Sci.* 48: 301-318.
- Meydani, S. & Dinarello, C. 1993. Influence of dietary fatty acids on cytokine production and its clinical implications. *Nutr. Clin. Pract.* 8(2):65-72.
- Mielnik, M.; Gatellier, P.; Viau, M.; Remington, H. & Renerre, M. 2003. Effect of dietary fat and vitamin E on colour stability on lipid and protein oxidation in turkey meat during storage. *Meat Sci.* 65:1147-1155.
- Miller, D. & Robisch, P. 1969. Comparative effect of herring, menhaden, and safflower oils on broiler tissues fatty acid composition and flavor. *Poultry Science* 48:2146-2157.
- Montero, M. 1999. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. *Anales de la Facultad de Medicina* 57(4):278-281.
- Moreira, A.; Visentainer, J. & Souza, N. 2001. Fatty acids profile and cholesterol contents of Three Brazilian Brycon freshwater fishes. *J. Food Compos. Anal.* 14:565-574.
- Morris, D. 2007. Descripción y composición de la linaza. En: Morris DH, editor. *Linaza - Una Recopilación sobre sus Efectos en la Salud y Nutrición*. Winnipeg, MB, Canada: Flax Council of Canada. Pág. 9-21.
- Morris, M.; Sacks, F. & Rosner, B. 1994. Fish oil to reduce blood pressure: a meta-analysis. *Ann. Intern. Med.* 120:10-11.
- Morrisey, P.; Brandon, S.; Buckley, D.; Sheehy, P. & Firgg, M. 1997. Tissue content of  $\alpha$ -tocopherol and oxidative stability of broiler receiving dietary  $\alpha$ -tocopheryl acetate

- suplement for various periods pre-slaughter. Br. Poultry Science 38:84-88.
- Mourot, J. & Hermier, D. 2001. Lipids in monogastric animal meat. Reprod Nutr. Dev. 41(2):109-118.
- Mourete, G.; Good, J. & Bell, G. 2005. Partial substitution of fish oil with rapeseed, linseed and olive oil in diet for european sea bass (*dicentrarchus labrax l.*) effect of this fatty acid composition, plasma prostaglandins, E2, F2 $\alpha$ , immune function and effectiveness of fish oil fishing diet. Aquac. Nutr. 11:25-40.
- Muggli, R. 1994. Physiological requeriment of vitamin E as a function of the amount and type of polyunsarated. World Rev Nutr Diet.75: 166–168.
- Narciso-Gaytan, C.; Shin, D.; Sams, A.; Keeton, J.; Miller, R.; Smith, S. & Sánchez-Plata, M. 2011. Lipid oxidation stability of omega-3- and conjugated linoleic acid-enriched sous vide chicken meat. Poult. Sci: 90:473–480.
- Navaro-Garcia, G.; Bringas-Alvarado, I. & Pacheco–Aguilar, R. 2004. Nueva herramienta para el estudio de la oxidación de los ácidos grasos, una de las causas fundamentaes de la pérdida de calidad de los alimentos para la acuacultura. IN: Suárez, C.; Ricquie, M; Nieto Lopez, M.; Villarreal, D.; Scholz, U., & González, M. Avances en nutricio acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición acuícola. 16-19 Nov. Hermosillo, Sonora, Mexico .480-503.
- NRC. Nacional Research Council. 1994. Nutrient Requeriments of Poultry. 9<sup>th</sup> Revised Edition (Washintong, D.C., National Academy Press.)
- Nawar, W. Lipidos. En: Fennema. Química de los Alimentos; Zaragoza, Editorial Acribia 1993. Pág. 199-200.

- Nelson, A. 1972. Diet therapy in coronary disease: effect on mortality of high-protein, high-seafood, fat-controlled diet. *Geriatrics* 27(12):103-116.
- Nemets, B.; Stahl, Z. & Belmaker, R. 2002. Addition of omega-3 fatty acid to maintenance medication treatment for recurrent unipolar depressive disorder. *Am. J. Psychiatry* 159(3):477-479.
- Neuringer, M.; Reisbick, S. & Janowsky, J. 1994. The role of n-3 fatty acids in visual and cognitive development: current evidence and methods of assessment. *J. Pediatr.* 125(5):39-47.
- Niu, Z.; Liu, F.; Yan, Q. & Li, W. 2009. Effect of different levels of vitamin E on growth performance and immune responses of broilers under heat stress. *Poultry Science* 88:2101-2107.
- N-utritión [software de formulación de raciones]. Versión 2.0. 2003. Colón, ER, Argentina.: Desarrollo de Aplicaciones para Procesos Productivos.
- O'Neill, L.; Galvin, K.; Morrissey, T. & Buckley, B. 1999. Effects of carnosine, salt and dietary vitamin E on the oxidative stability of chicken meat. *Meat Science* 52:89-94.
- O'Neill, L.; Galvin, K.; Morrissey, P.; & Buckley, D. 1998. Comparison of effects of dietary olive oil, tallow and vitamin E on the quality broiler meat and meat product. *Br. Poult. Sci.* 39:365-371.
- Organización Mundial de la Salud [http://www.who.int/topics/chronic\\_diseases/en/](http://www.who.int/topics/chronic_diseases/en/). (Acceso Enero 2013).
- Organización Mundial de la Salud. Enfermedades cardiovasculares. 2009. Disponible en:

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/print.html>. (Acceso Mayo 2010).

- Osorio, J. & Flores, J. 2011. Diferencias bioquímicas y fisiológicas en el metabolismo de lipoproteínas de aves comerciales. *Biosalud* 10(1):88-98.
- Özogul, Y. & Özogul, F. 2007. Fatty acid profiles of commercially important fish species from the Mediterranean, Aegean and Black Seas. *Food Chem.* 100:1634–1638.
- Palmquist, D. 2002. An appraisal of fats and fatty acid. In: *Poultry Feedstuff: Supply, Composition and Nutritive Value*. Chapter 5, 87-97.
- Pan, D. & Storlien, L. 1993. Dietary lipid profile is a determinant of tissue phospholipid fatty acid composition and rate of weight gain in rats. *J. Nutr.* 123:512-519.
- Paniangvait, P.; King A.; Jones, A & German, B. 1995. Cholesterol oxides in foods of animal origin. *Journal of Food Sci.* 60(6):1159-1173.
- Papazyan, T.; Denev, S. & Surai, P. 2006. Selenium in poultry nutrition lessons from research wild natura. *Krmiva* 48:275-283.
- 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.
- Pariza, M.; Park, Y. & Cook, M. 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog. Lipid Res.* 40(4):283-298.

- Patnaik, R. & Nair, P. 1977. Studies on the binding of d-alpha-tocopherol to rat liver nuclei. *Arch. Biochem. Biophys.* 178(2):333-341.
- Pawlosky, R.; Hlwblen, J.; Lin, Y.; Goodson, S.; Riggs, P.; Sebring, N.; Brown, G. & Salem, Jr. N. 2003. Effects of beef and fish-based diets on the kinetics of n-3 fatty acid metabolism in human subjects. *American Journal of Clinical Nutrition.* 77(3):565-572.
- Peet, M.; Shah, S.; Selvam, K. & Ramchand; C. 2004. Polyunsaturated fatty acid levels in red cell membranes of unmedicated schizophrenic patients. *World J. Biol. Psychiatry* 5(2):92-99.
- Pennock, J.; Hemming, F. & Kerr, J. 1964. A reassessment of tocopherol chemistry. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 17(5):542-548.
- Peric, L.; Milosevic, N.; Zikic, D.; Kanacki, Z.; Nollet, L. & Spring, P. 2009. Effect of selenium sources on performance and meat characteristics of broiler chickens. *J. App. Poult. Res.* 18:403-409.
- Perreaud, N. & Leeson, S. 1992 Age-related carcass composition changes in male broiler chicken. *Can. J. Anim. Sci.* 72: 919-929.
- Pesti, G. & Combs, G. 1976. Studies enteric absorption of selenium in the chicks using localized coccidial infection. *Poultry Science* 55:2265-2278.
- Pinchasov, Y. & Nir, I. 1992. Effect of dietary polyunsaturated fatty acid concentration on performance, fat deposition, and carcass fatty acid composition in broiler chicken. *Poultry Science* 71:1504-1512.

- Pita Rodríguez, G. 1997. Funciones de la vitamina E en la nutrición humana. *Rev. Cubana Aliment. Nutr.* 11(1):46-57.
- Ponte, P.; Abves, S.; Bessa, R.; Ferreira, L.; Gama, I.; Bras, J.; Fonte, C. & Prates, J. 2008a. Influence of pasture intake on the fatty Acids composition, and cholesterol, tocopherols; and tocotrienols content in meat from free-range broilers. *Poultry Science* 87:80-88.
- Ponte, P.; Rosado, C.; Crespo, J.; Crespo, D.; Mourão, J.; Chaveiro Soares, M.; Brás, J.; Mendes, I.; Gama, L.; Prates, J.; Ferreira, L. & Fontes, C. 2008b. Pasture intake improve the performance and meat sensory attributes of free range broilers *Poultry Science* 87:71-79.
- Primo-Yúfera, E. 2007. *Química orgánica básica y aplicada de la molécula a la industria. Tomo 2.* Editorial Reverté. España.
- Prego, C.; Pupo Balboa, J. & Céspedes Miranda, E. 1997. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: III. Glutación peroxidasa. *Rev. Cubana Invest. Biomed.* 16(1):10-15.
- Puri, B.; Counsell, S.; Hamilton, G.; Richardson, A. & Horrobin, D. 2001. Eicosapentaenoic acid in treatment-resistant depression associated with symptom remission, structural brain changes and reduced neuronal phospholipid turnover. *Int. J. Clin. Pract.* 55(8):560-563.
- Raheja, B.; Sadikot, S.; Phatak, R. & Rao, M. 1993. Significance of the N-6/N-3 ratio for insulin action in diabetes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 683:2562-2571.
- Ratnayake, W.; Ackman, R. & Hulan, H. 1989. Effect of redfish meal enriched diets on the taste and n-3 PUFA of 42-day-old broiler chickens. *J. Sci. Food Agric.* 49(1):59-67.

- Rayman, M. 2000. The importance of selenium to human health. *The Lancet*. 356:233-241.
- Reaven, P.; Parthasarathy, S.; Grasse, B.; Miller, E.; Almazan, F. & Mattson F. 1991. Feasibility of using an oleate-rich diet to reduce the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification in humans. *Am. J. Clinical Nutrition* 54(4):701-706.
- Reboul, E.; Richelle, M.; Perrot, E.; Desmoulins Malezet, C.; Pirisi, V. & Borel, P. 2006. Bioaccessibility of carotenoids and vitamin E from their main dietary sources. *J. Agric. Food Chem.* 54(23):8749-8755.
- Reilly, C. 2006. *Selenium in Food and Health*. Editorial Springer. Second edition Queensland University of technology , Brisbane, Australia. Pág. 45-60.
- Reis, R.; Viera S.; Nascimento, P.; Peña, J.; Barros, R. & Torres, C. 2009. Selenium contents of eggs from broiler breeders supplemented with sodium selenite or Zic-I-Selenium –methionine. *J. Appl. Poultry Res.* 18:151-157.
- Renaud, S. 1990. Linoleic acid, platelet aggregation and myocardial infarction. *Atherosclerosis* 80(3):255-256.
- Reseland, J.; Haugen, F.; Hollung, K.; Solvoll, K.; Halvorsen, B; Brude, I.; Neseter, M.; Christiansen, E. & Drevon, C. 2001. Reduction of leptin gene expression by dietary polyunsaturated fatty acids. *J. Lipid Res.* 42(5):743-750.
- Rezniszky, S.; Dallorso, M. & Pawlak E. 1999. Neutron Activation Analysis in bovine plasma sampled. *Biol. Trace Elem. Res.* 71-72:343-347.
- Rijke, D.; Sebastian, J.; Demacker, P.; Vogelaar, J.; Hak-Lemmers, H. & Stalenhoef, A. 1991. The redox status of coenzyme Q10 in total LDL as an indicator of in vivo

oxidative modification: Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology 17:127-133.

Robertfroid, M. 2000. Concept and strategy of funcional food science: the European perspective. Am. J. Clin. Nutr. 77:1660-1664.

Robey, W. & Sherner, W. 1994. The damaging effects foxidation. Feed Mix 2(5):22-26.

Rojo-Martínez, G.; Soriguer, F.; González-Romero, S.; Tinahones, F.; Moreno, F.; de Adana, S.; Garriga, M; Esteva, I; García-Arnez, J.; Gómez-Zumaquero, J. & Garcia-Almeida, J. 2000. Serum leptin and habitual fatty acid dietary intake in patients with type 1 diabetes mellitus. Eur. J. Endocrinol. 142(3):263-268.

Rose, D. 1997. Effects of dietay fattyacids on breast and prostate cancer: evidence from in vitro experiment and animal studies. Am. J. Clinical Nutrtrion 66(6):1513-1522.

Rostagno, H.; Albino, L.; Donzele, J.; Gomes, P.; Oliveira, R. & Lopes, D. 2005. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa: Departamento de Zootecnia, UFV

Rotruck, J.; Pope, A. & Ganther, H. 1972. Selenium: biological role as a component of glutathione peroxidase. Science 179:588-590.

Ruiz, J.; Pérez-Vendrell, A. & Esteve-García, E. 1999. Effect of B-carotene and vitamin E on Oxidative stability in leg meat of broilers fed different supplemental fats. J. Agric. Food Chem. 47:448-454.

Ruiz, J.; Guerrero, L.; Arnau, J.; Guardiola, M. & Esteve García, E. 2001 Descriptive sensory analysis of meat from broilers fed diets containing vitamin E or  $\beta$ -carotene as

- antioxidants and different supplemental fats. *Poultry Science* 80:976-982.
- Ruxton, C.; Calder, P.; Reed, S. & Simpson M. 2005. The impact of long chain n-3 polyunsaturated acids on human health. *Nutrition Research Reviews* 18:113-129.
- Rymer, C. & Givens, D. 2010a. Effects of vitamins E and fish oil inclusion in broiler diets on meat fatty acids composition and on the flavour of a composite sample of breast meat. *J. Sci. Food Agric.* 90:1628-1633.
- Rymer, C. & Givens, D. 2010b. Comparison of algal and fish source on the oxidative stability of poultry meat and its enrichment with omega -3 polyunsaturates fatty acids. *Poultry Science* 89:150-159.
- Ryu, Y; Rehee, M.; Lee, K. & Kim, B. 2005. Effects of different level of dietary supplemental selenium on performance, lipid oxidation, and colour stability of broiler chicks. *Poultry Science* 84:809-815.
- Saadoun, A. & Leclercq, B. 1986. In vivo lipogenesis in genetically fat and lean chickens of various ages. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 83(3):607-611.
- SAGPYA, 2010. Boletín avícola. Dirección de Animales Menores y Granja. Indicadores de la actividad avícola. 2010. Disponible en: URL: [http://www.minagri.gob.ar/SAGPyA/ganaderia/aves/01estadisticas/archivos/000002\\_Indicadores/000001\\_indicadores%20\(actuales\).pdf](http://www.minagri.gob.ar/SAGPyA/ganaderia/aves/01estadisticas/archivos/000002_Indicadores/000001_indicadores%20(actuales).pdf). (Acceso Mayo 2010).
- Sahmi, A. 1995. Oxidative stress and antioxidant defenses in biology. Edited by Chapman and Hall. NY. USA
- Sandercock, D.; Nute, G. & Hocking, P. 2009. Quantifying the effects of genetic selection and genetic variation for body size, carcass composition and meat quality en the

- domestic fowl (*Gallus domesticus*). Poultry Science 88:923-931.
- Sanz, M.; López-Bote, C.; Flores, A. & Carmona, J. 2000a. Effect of the inclusion time of dietary saturated and unsaturated fats before slaughter on the accumulation and composition of abdominal fat in female broiler chickens. Poultry Science 79:1320-1325.
- Sanz, M.; López-Bote, C. & Flores, A. 2000b. The metabolic use of energy from dietary fat in broilers is affected by fatty acid saturation. British Poultry Science 41:61-68.
- Sato, Y.; Arai, H.; Miyata, A.; Tokita, S.; Yamamoto, K & Tanabe, T. 1993. Primary structure of alpha-tocopherol transfer protein from rat liver. Homology with cellular retinaldehyde-binding protein. J. Biol. Chem. 268(24):17705-17710.
- Scherf, H.; Machin, I.; Frye, T.; Kratmann, B. & Williams, S. 1996. Vitamin E biopotency: Comparison of various 'natural-derived' and chemically synthesized  $\alpha$ -tocopherols. Animal Feed Sci. and Technology 59(1):115-126.
- Schloss, I.; Kidd, M.; Tichelaar, H.; Young, G. & Keefe, S. 1997. Dietary factors associated with a low risk of colon cancer in coloured west coast fishermen. S. Afr. Med. J. 87(2):152-1528.
- Schwarz, K. & Foltz, C. 1957. Selenium as an integral part of Factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. J. Am. Chem. Soc. 79: 3292-3293.
- SENASA. Reglamento (decreto 4238/68) actualizado. 2008. Disponible en: [URL:http://www.senasa.gov.ar/Archivos/File/File753-capitulos.pdf](http://www.senasa.gov.ar/Archivos/File/File753-capitulos.pdf). (Acceso Octubre 2010).

- Serhan, C.; Arita, M.; Hong, S. & Gotlinger, K. 2004. Resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins, novel omega-3 derived mediators, and their endogenous aspirin-triggered epimers. *Lipids* 39(11):1125-1132.
- SERNAC 2004. Servicio Nacional del Consumidor, alimentos funcionales.  
<http://www.sernac.cl/estudios/detalle.php?id=1098>
- Sevcikova, S.; Skrivan, S.; Dlouhá, G. & Koucky, M. 2006. The effect of selenium source on the performance and meat quality of broiler chickens. *Czech. J. Anim. Sci.* (10)449-457.
- Shahar, E.; Folsom, A.; Melnick, S.; Tockman, M.; Comstock, G.; Gennaro, V; Higgins, M; Sorlie, P.; Ko, W. & Szklo, M. 1994. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and smoking-related chronic obstructive pulmonary disease. *N. Engl. J. Med.* 331(4):228-233.
- Shapiro, A.; Wu, D. & Meydani, S. 1993. Eicosanoids derived from arachidonic and eicosapentaenoic acids inhibit T cell proliferative response. *Prostaglandins* 45(3):229-240.
- Shaw, J.; Purdie, D.; Neil, H.; Levy, J. & Turner, R. 1999. The relative risks of hyperglycaemia, obesity and dyslipidaemia in the relatives of patients with Type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 42(1):24-27.
- Sheehy, P.; Morrissey, P. & Flynn, A. 1991. Influence of dietary alpha-tocopherol on tocopherol concentrations in chick tissues. *Br. Poult. Sci.* 32(2):391-397.
- Shi, B. & Spalholz, J. 1994. Bioavailability of selenium from raw and cooked ground beef assessed in selenium-deficient fischer rats. *Journal of the American College of Nutrition* 3(1) 95-101.

- Sibbald, I. 1976. A bioassay for true metabolizable energy in feedingstuffs. *Poultry Science* 55(1):303-308.
- Sies, H. 1993. Strategies of antioxidant defense. *Eur. J. Biochem.* 215(2):213-219.
- Simopoulos, A. 2002. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J. Am. Coll. Nutr.* 21(6):495-505.
- Simopoulos, A. 1998. Overview of evolutionary aspect of w3 in the diet in: The return of w-3 fatty acids into the food supply. *World review of nutrition and dietetics*. Editor A.P. Simopoulos. Karger.press. Pág 1-11.
- Simopoulos, A.; Kifer, R. & Martin, R. 1986. Health effects of polyunsaturated fatty acids in seafoods. Orlando, FL: Academic Press, 1986. Simopoulos, A. 1990. Genetics and nutrition: or what your genes can tell you about nutrition. *World Rev. Nutr. Diet* 3:25-34.
- Simopoulos, A. 1991. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am. J. Clinical Nutrition* 54(3):438-63.
- Simopoulos, A. 1994a. Is insulin resistance influenced by dietary linoleic acid and trans fatty acids? *Free Radic. Biol. Med.* 17(4):367-372.
- Simopoulos, A. 1994b. Fatty acid composition of skeletal muscle membrane phospholipids, insulin resistance and obesity. *Nutr. Today* 29(1):12-16.
- Simopoulos, A. 1995. Evolutionary aspects of diet: fatty acids, insulin resistance and obesity. En: VanItallie TB, Simopoulos AP, editores. *Obesity: New Directions in Assessment and Management*. Philadelphia, PA: Charles Press, 1995. Pág. 241-61

- Simopoulos, A.; Leaf, A. & Salem, N. Jr. 1999a. Essentiality of and recommended dietary intakes for n-6 and n-3 fatty acids. *Anim. Nutr. Metab.* 43(2):127-130.
- Simopoulos, A. 1999b. Flaxseed Oil - Alpha-Linolenic Acid (ALA) to convert to EPA, DPA and DHA. En: *The Benefits of Omega 3 Fatty Acids found In Seal Oil, as Opposed to Fish and Flaxseed Oils*. Copyright © 2003 Dr. Cosmas Ho., [http://www.omega3sealoil.com/Chapter4\\_3c.html](http://www.omega3sealoil.com/Chapter4_3c.html)
- Simopoulos, A.; Leaf, A. & Salem, N. 1999c. Workshop on the essentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. *Journal of the American College of Nutrition* 18(5):487-489.
- Simopoulos, A. 2000. Symposium: Role of poultry product in enriching the human diet with n-3 PUFA. Human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. *Poultry Science* 79(7):961-970.
- Singer, P.; Jaeger, W.; Voigt, S. & Thiel, H. 1984. Defective desaturation and elongation of n-6 and n-3 fatty acids in hypertensive patients. *Prostaglandins Leukot Med.* 15(2):159-165.
- Stenson, W.; Cort, D.; Rodgers, J.; Burakoff, R.; DeSchryver-Kecskemeti, K. & Gramlich, T. 1992. Dietary supplementation with fish oil in ulcerative colitis. *Ann. Intern. Med.* 116(8):609-614.
- Stocker, R.; Yamamoto, Y.; Mcdonagh, A.; Glazer, A. & Ames, B. 1987. Bilirubin is antioxidant of possible physiological importance. *Science* 235(4792):1043-1046.
- Suárez de Ronderos, M. & Michelsen Rueda, J. 2004. El papel del selenio y la vitamina E en la prevención y tratamiento del cáncer de próstata. *Rev. Costarric. Salud Pública* 13 (4):1-14.

- Surai, P. 2002a. Selenium in poultry nutrition 1. Antioxidants properties, deficiency and toxicity. *World's Poultry Science Journal* 58:333-347.
- Surai, P. 2002b. Selenium in poultry nutrition 2. Reproduction, egg and meat quality ad practical applications. *World's Poultry Science Journal* 58:431-450.
- Surai, P. 2002c. Vitamin E. En: *Natural Antioxidants in Avian Nutrition and Reproduction*. Nottingham, UK: Nottingham University Press. Pág. 27-128.
- Surai, P. & Spark, N. 2000. Tissue-specific Fatty Acids and Alpha tocopherol profiles in male chickens depending on dietary tuna oil and vitamin E provision *Poultry Science* 79:1132-1142.
- Surai, P. 1999. Tissue changes in the activities of antioxidant enzymes during the development of chickens embryo. *British Poultry Science* 40:398-405.
- Surai, P.; Ionov, I.; Kostjuk, L.; Acherson, A.; Speake, B.; Noble, R. & Spark, N. 1998. Effect of supplementating the hen's diet with vitamins A on the accumulation of vitamin A and E, ascorbic acids and carotenoids in the egg yolk and in the embryonic liver. *Br. Poult. Sci.* 39:257-263.
- Surai, P.; Noble, R. & Speake, B. 1999. Relationship between vitamin E content and susceptibility to lipid peroxidation in tissues of the newly hatched chick. *Br. Poult. Sci.* 40(3):406-10.
- Tanaka, K.; Ohtani, S. & Shigeno. K. 1983b. Effect of increasing dietary energy on hepatic lipogenesis in growing chicks. I. Increasing energy by carbohydrate supplementation. *Poult. Science* 62(3):445-451.
- Tanaka, K.; Ohtani, S.; Shigeno, K. 1983. Efecto del aumento de energía alimentaria en la lipogénesis hepática en

- pollos en crecimiento. 2. Aumenta la energía de la grasa o la proteína de suplementos. *Poultry Science* 62:452-458.
- Tapia A. 2004. Ácidos grasos omega-3 para la prevención y tratamiento de las depresiones en el embarazo y post parto. *Rev. Chil. Obstet. Ginecol.* 69(5):399-403.
- Thomson, C. 1998. Selenium speciation in human body fluids. *Analyst.* 123:827-831.
- Thomson, C. 2004. Assessment of requirements for selenium and adequacy if selenium status: A Review. *European Journal of Clinical Nutrition* 548:391-402.
- Tijburg, L.; Haddeman, E.; Kivits, G.; Weststrate, J. & Brink, E. 1997. Dietary linoleic acid at high and reduced dietary fat level decreases the faecal excretion of vitamin E in young rats. *Br. J. Nutr.* 77(2):327-336.
- Traber, M. & Arai, H. 1999. Molecular mechanisms of vitamin E transport. *Annu. Rev. Nutr.* 19:343-55.
- Traber, M. & Sies, H. 1996. Vitamin E in humans: demand and delivery. *Annu. Rev. Nutr.* 16:321-347.
- Upton, J.; Edens, F. & Ferket, P. 2009. The effects of dietary oxidized fat and selenium source on performance, glutathione peroxidase and glutathione reductase activity in broiler chickens. *J. Appl. Poult. Res.* 18:193-202.
- Ursini, R. & Bindoli, A. 1978. The role of selenium peroxidases in the protection against oxidative damage of membranes. *Chem. Phys. Lipids* 44:255-276.
- Venero Gutiérrez, J. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes *Rev. Cubana Med. Milit.* 31(2):126-133.

- Vila, B. & Esteve-Garcia, E. 1996. Studies on acid oils and fatty acids for chickens III. Effect of chemical composition on metabolisable energy of by-products of vegetable oil refining. *Br. Poult. Sci.* 37:131-144.
- Villaverde, C.; Cortinas Hernández, L.; Barroeta, A.; Martin-Orue, S. & Baucells, M. 2004; Relationship between dietary unsaturation and vitamin E in poultry. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 88:143-149.
- Volc, M.; Frankic, T.; Levart, A.; Nemeč, M. & Salobir, J. 2011. Evaluation of different bioactivity of  $\alpha$ -tocopherol isomers in broiler nutrition by measuring oxidative stress in vivo and oxidative stability of meat. *Poultry Sci* 90:1478-1488.
- Xiao, S.; Zhang, W.; Lee, E.; Ma, C. & Ahn, D. 2011. Effects of diet, packaging, and irradiation on protein oxidation, lipid oxidation and color of raw broiler thigh meat during refrigerated storage. *Poultry Science* 90:1348-1357.
- Wang X. & Quinn, P. 1999. Vitamin E and its function in membranes. *Prog. Lipid. Res.* 38(4):309-36.
- Wang, Y. & Xu, B. 2008. Effect of different selenium source (sodium selenite and selenium yeast) on broiler chickens. *Animal feed Sci. and Technology* 114:306-314.
- Weber, P. & Leaf, A. 1991. Cardiovascular effects of omega 3 fatty acids. Atherosclerosis risk factor modification by omega 3 fatty acids. *World Rev. Nutr. Diet* 66:218-232.
- Weber, P. 1989. Are we what we eat? Fatty acids in nutrition and in cell membranes: Cell functions and disorders induced by dietary conditions. *Fish Fats and Your Health*. Svanoybukt, Norway: Svanoy Foundation. Pág. 9-18.
- Weiser, H. & Vecchi, M. 1982. Stereoisomers of  $\alpha$ - tocopherol acetate. II biopotencies of all eight stereoisomers,

- individually or mixture, as determined by rat resorption-gestation test. *Internat J. Vit. Nutr. Res* 52:351-370.
- Weydert, C. & Cullen, J. 2010. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. *Nature Protocols* 5(1):51-65.
- Willard, D.; Harmon, S. & Kaduce, T. 2001. Docosahexaenoic acid synthesis from n-3 polyunsaturated fatty acids in differentiated rat brain astrocytes. *J. Lipid Res.* 42:1368-1376.
- Whitacre, M.; Combs, G. Jr., Combs, S. & Parker, R. 1987. Influence of Dietary Vitamin E on Nutritional Pancreatic Atrophy in Selenium-Deficient Chicks. *J. Nutr.* 117:460-467.
- Wolffram, S.; Ardüser, F. & Scharrer, E. 1985. In vivo intestinal absorption of selenate and selenite by rat. *J. Nutr.* 115 (4):454-459.
- Worne, H. & Smith, L. 1959. Effects of certain pure long chain polyunsaturated fatty acid esters on the blood lipids of man; preliminary studies on the use of polyunsaturated fatty acid in atherosclerosis. *Am. J. Med. Sci.* 237(6):710-721.
- Yam, D.; Eliraz, A. & Berry, E. 1996. Diet and disease--the Israeli paradox: possible dangers of a high omega-6 polyunsaturated fatty acid diet. *Isr. J. Med. Sci.* 32(11):1134-1143.
- Yoshida, H.; Yusin, M.; Ren, I.; Kuhlenkamp, J.; Hirano, T. & Stolz, A. 1992. Identification, purification, and immunochemical characterization of  $\alpha$ -tocopherol-binding protein in rat liver cytosol. *J. Lipid Res.* 33(3):343-350.

- Zhang, S.; Rourt, C. & Cheng, W. 2010. Selenoproteins and ageing brain. *Mechanisms of ageing and development*. 131:253-260.
- Zhang, Y.; Turunen, M. & Appelkvist, E. 1996. Restricted uptake of dietary coenzyme Q is in contrast to the unrestricted uptake of  $\alpha$ -tocopherol into rat organs and cells. *J. Nutr.* 126(9):2089-2097