



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

GLEICE ROCHA DOS SANTOS ALMEIDA

**SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO E VITAMINA E NA RAÇÃO
E QUALIDADE DE FILÉS DE FRANGO**

Londrina
2013

GLEICE ROCHA DOS SANTOS ALMEIDA

**SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO E VITAMINA E NA RAÇÃO
E QUALIDADE DE FILÉS DE FRANGO**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Lourenço Soares

Londrina
2013

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

S237s	<p>Santos-Almeida, Gleice Rocha dos. Suplementação de selênio e vitamina E na ração e qualidade de filés de frango/ Gleice Rocha dos Santos Almeida. – Londrina, 2013. 76f. : il.</p> <p>Orientador: Adriana Lourenço Soares-Russo. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2013. Inclui bibliografia.</p> <p>1. Carne – Qualidade – Teses. 2. Stress oxidativo – Teses. 3. Selênio na nutrição animal – Teses. 4. Frango de corte – Teses. 5. Vitamina E na nutrição animal – Teses. I. Soares-Russo, Adriana Lourenço. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU 664.91</p>
-------	---

GLEICE ROCHA DOS SANTOS ALMEIDA

**SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO E VITAMINA E NA RAÇÃO E
QUALIDADE DE FILÉS DE FRANGO**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dra. Adriana Lourenço
Soares
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^a Dr^a. Marta Suely Madruga
Universidade Federal da Paraíba – UFPB

Prof^a Dr^a Rúbia Casagrande
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 26 de Março de 2013.

“A persistência é o menor caminho ao êxito”

(Charles Chaplin)

DEDICO

*Ao meu esposo Anderson, elemento essencial na
minha vida.*

A minha razão de viver, Isabel.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Orientadora Dra. Adriana Lourenço Soares Russo, pela orientação, apoio, incentivo e dedicação durante a realização deste trabalho. E ainda, pela valiosa amizade e conselhos compartilhados importantes para o conhecimento profissional e pessoal.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa e auxílio financeiro deste trabalho.

À Fundação Araucária e ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo auxílio financeiro destinado à esta pesquisa.

Aos Professores Dr. Massami Shimokomaki, Dra. Elza Louko Ida, pela amizade e conselhos.

Ao Professor Dr. Alexandre Oba, que foi fundamental na realização deste projeto, pela dedicação e ensinamentos.

Ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos pelas condições oferecidas para a realização deste trabalho.

Aos docentes do Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência de Alimentos desta instituição pelos ensinamentos e atenção dispensada.

Aos Funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos desta instituição, em especial à Neusa, pela ajuda e atenção sempre dispensadas.

Aos alunos do Mestrado em Ciência Animal, em especial a Aniele Pissinati e todos estagiários do curso de Zootecnia que participaram e ajudaram na criação e abate das aves utilizadas neste projeto.

Aos estagiários do Grupo de Carnes desta instituição: Flávia Maria Beteto, Fernanda Mendonça e Alyson Akira Takabayashi pelos auxílios destinados à elaboração deste trabalho.

Aos colegas e professores do Grupo de Carnes desta instituição, pela colaboração, amizade e conselhos, em especial ao meu grande amigo Denis Fabrício Marchi.

À Juliana Nunes de Almeida, por sempre estar ao meu lado no desenvolvimento deste trabalho. Pela sua amizade, conselhos e principalmente a sua dedicação especial nesta fase final. Obrigada por tudo!

A Patrícia Salomão Garcia, pelos conselhos, amizade, zelo, dedicação e o enorme carinho. Muito obrigada!

Ao meu amigo Estefano.

Aos colegas do Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência de Alimentos, em especial: Mônica Reis, Daiana Rosso, Cintia Handa, Natália Bom, Natália Rezende, Diogo Pedrollo, Juliano Zanela, Thiago Montagner, Gislaine Simões, Marinês Corso pela convivência, amizade e parceria.

A todos os amigos que torceram por esta vitória.

Aos meus pais, José Roberto e Catarina.

À minha irmã e companheira, Jéssika.

Em fim à toda família pelo apoio e incentivo.

Ao meu esposo. Anderson Douglas de Almeida, pelo seu amor, compreensão, paciência, apoio e dedicação no decorrer de todo este trabalho.

A Deus, pela oportunidade.

SANTOS-ALMEIDA, Gleice Rocha dos. **Suplementação de Selênio e Vitamina E na ração e qualidade de filés de frango**. 2013. 76f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina

RESUMO

A qualidade da carne é limitada por processos oxidativos de lipídios, proteínas e pigmentos. O potencial oxidativo da carne é determinado pela relação entre pró e antioxidantes endógenos. A vitamina E e o selênio contribuem para a manutenção do sistema antioxidante. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da suplementação da vitamina E e selênio sobre a qualidade da carne de frango. Pintainhos de corte da linhagem *Hubbard* de 1 dia de idade (n=60) foram divididos em 4 tratamentos: C Controle (sem suplementação), SE Suplementação com 150 mg de vitamina E por kg de ração, SS suplementação com 0,5 mg de selênio por kg de ração e SSE suplementação com 0,5 mg de selênio e 150 mg de vitamina E por kg de ração. Após 42 dias as aves foram abatidas e os filés de peito (*Pectoralis major*) foram coletados e armazenados a 4°C (4 dias) e a -18°C (30 dias). Os filés foram avaliados quanto à oxidação lipídica e aroma de requentado (WOF- Warmed over flavor) pelo método de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), perda de água por cozimento (PPC), razão a*/b*, perfil de ácidos graxos, atividades das enzimas fosfolipase A₂ (PLA₂) e glutathiona peroxidase (GSH-Px), conteúdo de Selênio e Vitamina E. Foi aplicada análise de variância seguido pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação dos resultados. O teor de selênio foi 1,23 vezes maior (p≤0,05) para os filés dos tratamentos SS e SSE e a concentração de α-tocoferol foi 3,5 vezes maior (p≤0,05) para os filés dos tratamentos SE e SSE. Os filés refrigerados e congelados dos tratamentos SE e SSE apresentaram valores de oxidação lipídica e aroma de requentado significativamente menores quando comparados com os filés dos tratamentos C e SS. A suplementação com vitamina E (tratamentos SE e SSE) preveniu a oxidação da mioglobina apenas nos filés resfriados. A PPC das amostras refrigeradas não diferiu significativamente entre os tratamentos, entretanto nas amostras congeladas a PPC foi significativamente menor para o tratamento SSE. As atividades da GSH-Px e da PLA₂ total de filés de frango não diferiram significativamente entre os quatro tratamentos. A atividade da PLA₂ dependente de Ca²⁺ foi significativamente maior para os filés do tratamento C. A suplementação com vitamina E não alterou significativamente o perfil de ácidos graxos dos filés de frango, no entanto a suplementação de selênio aumentou a deposição do ácido graxo 22:6 n3. A qualidade da carne de frango foi melhorada pela suplementação com 150mg de vitamina E por kg de ração e não foi observado efeito sinérgico entre a vitamina E e o selênio fornecidos pela dieta na prevenção de processos oxidativos dos filés.

Palavras-chave: Oxidação lipídica. Perfil de ácidos graxos. Fosfolipase A₂. Glutathiona peroxidase

SANTOS-ALMEIDA, Gleice Rocha dos. **Dietary supplementation of selenium and vitamin E and breast meat quality**. 2013. 76p. Dissertation (Master of Science in Food Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina

ABSTRACT

The meat quality is limited by lipids, proteins and pigments oxidative process. The lipid oxidation potential of meat is determined by relationship between endogenous prooxidants and antioxidants. Vitamin E and selenium contribute to maintain antioxidant system. The aim of the study was evaluated the effect of dietary supplementation of selenium and vitamin E on the poultry meat quality. Hubbard chicks with 1 day of age (n=60) were divided into four treatments: C-Control (without supplementation), SE-supplementation with 150 mg of vitamin E for kg of feed, SSsupplementation with 0.5 mg of selenium for kg of feed and SSE-supplementation with com 0.5 mg of selenium and 150 mg of vitamin E for kg of feed. After 42 days, the birds were slaughtered and fillets (*Pectoralis major*) were collected and stored at 4°C (4 days) and at -18°C (30 days). The fillets were analyzed for the lipid oxidation and Warmed over flavor (WOF) by Thiobarbituric-Acid-Reactive Substances (TBARS), cooking loss, a*/b* ration, fatty acid profile, phospholipase A₂ (PLA₂) and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities, selenium and vitamin E contents. The analyse of variance follow by tukey test at 5% of probability was used to compare the results. The selenium content was 1.23 times higher ($p \leq 0.05$) for samples of SS and SSE treatments and α -tocopherol concentration was 3.5 times higher ($p \leq 0.05$) for samples of SE and SSE treatments. The refrigerated and frozen fillets of SE and SSE treatments presented lipid oxidation values and WOF values significantly lower than fillets of C and SS treatments. The vitamin E dietary supplementation (SE and SSE treatments) prevented myoglobin oxidation only in refrigerated fillets. The cooking loss of refrigerated samples did not differ significantly, however for frozen samples the cooking loss was significantly lower for SSE treatment. The GSH-Px and total PLA₂ activities did not differ significantly among four treatments. The PLA₂-dependent Ca²⁺ activity was significantly higher for fillets of C treatments. The vitamin E supplementation did not change fatty acid profile of fillets, however the selenium supplementation increased the 22:6n3 fatty acid deposition. The poultry meat quality was improved by supplementation with 150mg of vitamin E for kg of feed and the synergistic effect was observed between vitamin E and selenium supplied by diet on prevention of oxidative process of fillet.

Key words: Lipid oxidation. Fatty acid profile. Phospholipase A₂. Glutathione peroxidase

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Representação das reações, em etapas, da oxidação lipídica.....	19
Figura 2	– Reação do teste de TBA entre o ácido 2-tiobarbiturico e o malonaldeído, formando o composto colorido, medido espectrofotometricamente a 500 a 550 nm	21
Figura 3	– Esquema da molécula mioglobina e suas formas	23
Figura 4	– Metabolismo da glutathione peroxidase (GPX) e glutathione reduzida (GSH), sobre os hidroperóxido lipídico e de hidrogênio	26
Figura 5	– Interconversão de glutathione nas suas formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) pela ação das enzimas glutathione peroxidase (GSH-Px) e glutathione redutase (GR).....	27
Figura 6	– Estrutura dos componentes naturais da vitamina E	30
Figura 7	– Representação diagramática do α -tocoferol na membrana celular	31
Figura 8	– Representação da proteção da vitamina E contra ataques de radicais livres à membrana celular	32
Figura 9	– Etapas da lipoperoxidação e ação antioxidante do α -tocoferol	32

LISTA DE ABREVIATURAS

C-Controle	Tratamento sem suplementação
DTNB	(5,5-dithio-bis (2-Nitrobenzoic Acid)
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
GS	Glutaciona Reduzida
GSH-Px	Glutaciona Peroxidase
GSSG	Glutaciona Oxidada
GR	Glutaciona Redutase
HO·	Radical Hidroxil
MDA	Malonaldeído
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotidio Fosfato
PSE	<i>Pale, Soft, Exudative</i>
PLA ₂	Enzima fosfolipase A ₂
PPC	perda de Peso por Cozimento
RO ₂	Radical Alquiperoxil
SE	Tratamento com suplementação com 150 mg de vitamina E.kg ⁻¹ de ração
SS	Tratamento com suplementação com 0,5 mg de selênio.kg ⁻¹ de ração
SSE	Tratamento com suplementação com 0,5 mg de selênio e 150 mg de vitamina E.kg ⁻¹ de ração
TBA	Ácido 2-tiobarbiturico
TBARS	Substancias Reativas ao Ácido Tiobarbiturico
WOF	Warmed-Over Flavour

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL.....	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1	PROCESSOS OXIDATIVOS	17
3.1.1	Oxidação Lipídica	18
3.1.2	Oxidação da Mioglobina	22
3.2	ANTIOXIDANTES.....	25
3.2.1	Selênio.....	25
3.2.2	Vitamina E	30
4	MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1	ANIMAIS E TRATAMENTOS	35
4.2	MÉTODOS	35
4.2.1	Medida de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico- TBARS.....	35
4.2.2	Perda de Peso por Cozimento (PPC).....	36
4.2.3	Aroma de Requentado (WOF).....	36
4.2.4	Perfil de Ácidos Graxos	36
4.2.5	Determinação da Metamioglobina	37
4.2.6	Determinação da Atividade da Fosfolipase A2 (PLA2).....	38
4.2.7	Determinação de Glutathione Peroxidase (GSH-Px).....	38
4.2.8	Determinação de Selênio na carne.....	39
4.2.9	Determinação da Vitamina E na carne	39
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
5	REFERÊNCIAS	41
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
6.1	ARTIGO CIENTÍFICO.....	51

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS72

ANEXO73

1. INTRODUÇÃO

Em 2011, registrou-se uma produção mundial de carne de frango de mais de 81 milhões de toneladas, sendo o Brasil o terceiro maior produtor mundial com 13 milhões de toneladas de carne e exportação de 3,9 milhões de toneladas, números recordes na história do setor, mantendo o país como o maior exportador mundial (UBABEF, 2012). No ano de 2012, houve uma pequena redução das exportações de carne pelo Brasil de 41,4% para 39,7%, este recuo foi o primeiro na produção nacional de carne de frango desde o ano 2000 (AVEWORLD, 2013). No entanto, a indústria prevê aumento de 3% na produção e nas exportações em 2013 (AVEWORLD, 2013). Além disso, o Departamento de Agricultura dos EUA (USDA) projeta que em 2021 os cinco principais produtores mundiais de carnes avícolas estarão comercializando 11 milhões de toneladas do produto, tendo 44% do total negociado sob posse do Brasil (ECOFINANÇAS, 2012).

A demanda por produtos industrializados a base de carne de aves nas últimas quatro décadas tem proporcionado um aumento considerável na produção desses animais, importante ao setor do agronegócio (GLOBO RURAL, 2010). As exigências pela qualidade dos produtos de origem animal também estão cada vez maiores tanto no mercado internacional como no nacional.

No entanto, a qualidade da carne e de produtos cárneos pode ser limitada pelo desenvolvimento de processos oxidativos. A composição química da carne de frango, rica em proteínas e ácidos graxos polinsaturados associados às transformações bioquímicas que ocorrem após a morte do animal tornam a carne mais suscetível à oxidação, comprometendo assim a sua qualidade (PEARSON et al., 1983; OLIVO; SHIMOKOMAKI; FUKUSHIMA, 2006).

O processo oxidativo é definido como um distúrbio no estado de equilíbrio entre os sistemas pró-oxidantes e antioxidantes, tendo, como resultado final, danos oxidativos em lipídios, proteínas, carboidratos e ácido nucléicos (JORDÃO et al, 1998). A oxidação lipídica é a principal reação em cadeia que envolve a formação de radicais livres (COMINETTI et al, 2011) e pode ser favorecida pela ação de enzimas como a fosfolipase A₂ (PLA₂) (MURAKAMI; KUDO, 2002; SOARES et al., 2003; CHEN et al, 2010).

Os produtos da oxidação de lipídios são indesejáveis não somente pela produção de sabores e odores desagradáveis, mas também pela destruição de constituintes essenciais, ocasionando decréscimo no valor nutricional do alimento e formação de compostos tóxicos (YANG et al, 2002). A disseminação da rancidez, ainda, pode provocar danos oxidativos às proteínas e que, por sua vez, provocam alterações nas propriedades funcionais da carne (OLIVO; SIMOKOMAKI, 2002; TROUT, 2003; MAKENNA et al.,2005).

Diversos estudos sustentam que existe interdependência entre a oxidação lipídica e a oxidação da mioglobina (OLIVO; SIMOKOMAKI, 2002; TROUT, 2003; MAKENNA et al, 2005). A oxidação deste pigmento altera negativamente a cor dos produtos cárneos, tornando-os indesejáveis ao consumo (O'GRAND; MONAHAN; MOONEY, 2001).

Para controlar os processos oxidativos empregam-se diferentes metodologias, entre elas, destaca-se o uso de antioxidantes. Entretanto, o uso deste aditivo é restrito a produtos cárneos, não sendo permitida sua utilização em carnes frescas e congeladas (BRASIL, 1998). Assim, a adição de antioxidantes na ração dos animais tem sido estudada como uma alternativa para o controle de processos oxidativos e melhoria da qualidade da carne. Neste sentido, a suplementação na ração animal com vitamina E e com mineral selênio tem demonstrado influenciar a manutenção do sistema antioxidante animal (JORDÃO et al, 1998, OLIVO; SIMOKOMAKI, 2002, BOIAGO, 2006).

A capacidade antioxidante do selênio deve-se ao fato deste mineral compor o sítio catalítico da enzima glutathiona peroxidase (GSH-Px). A GSH-Px é responsável pela redução do peróxido de hidrogênio e hidroperóxido em água e álcool, respectivamente, a partir da glutathiona reduzida (GSH) (COMINETTI et al, 2011). Portanto, esta enzima atua de maneira importante na proteção celular quanto a mudanças oxidativas (JORDÃO et al, 1998).

A função antioxidante da vitamina E é seqüestrar os radicais livres, levando a inibição da reação em cadeia de peroxidação lipídica (JORDÃO et al, 1998), e quando suplementada na dieta é incorporada na membrana celular protegendo-a contra o ataque de radicais livres, devido seu posicionamento no interior da membrana (SCHAEFER et al, 1995 apud SOARES, 1998). No entanto, quando a vitamina E é adicionada *post-mortem*, não permanece como parte

integrante da membrana, promovendo uma proteção antioxidante menos eficiente (BLUCKLEY; MORRISSEY; GRAY, 1995).

Deste modo, torna-se importante investigar o efeito da adição de selênio e vitamina E na ração de frangos como agentes em potenciais para inibição de processos oxidativos que conduzem a perda da qualidade da carne. O trabalho, portanto, foi desenvolvido visando obter conhecimentos sobre o possível efeito sinérgico do selênio e vitamina E no controle oxidativo de carnes de frango, para que possa contribuir com o desenvolvimento científico e tecnológico na produção de carne de frango com qualidade.

2.OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL:

Avaliar o efeito da suplementação de vitamina E e selênio na ração e a qualidade de filés de frango.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- ❖ Avaliar o efeito da suplementação de vitamina E e selênio na oxidação lipídica e alteração de cor de filés de frangos.
- ❖ Analisar o efeito da suplementação de vitamina E e selênio no perfil de ácidos graxos de filés de frangos.
- ❖ Investigar a atividade da fosfolipase A₂ e da glutathione peroxidase nas carnes de frango suplementadas com vitamina E e Selênio.
- ❖ Determinar o teor de vitamina E e selênio nos filés de frangos.

3.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PROCESSOS OXIDATIVOS

A oxidação é a principal causa da deterioração de vários produtos, alterando diversas propriedades, como característica sensorial (sabor, aroma, textura e cor), valor nutricional, funcionalidade e toxicidade. Tais mudanças podem ter sua origem durante a produção, o processamento, a preservação, o armazenamento e o preparo do alimento (CORTINAS et al, 2005).

Os produtos cárneos são facilmente suscetíveis às alterações físico-químicas e microbiológicas provocadas pela oxidação, devido à riqueza de sua composição química. Dentre estas alterações, a oxidação lipídica e protéica são difíceis de serem controladas, devido a sua complexidade e variabilidade (OLIVO, 2006).

Estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio entre os oxidantes e antioxidantes e a ocorrência destes eventos tem como fator importante as reações de radicais livres. Define-se radical livre ou espécie reativa como espécies independentes, átomo ou uma molécula, que contém elétrons desemparelhados. A presença do elétron não pareado altera a reatividade química do átomo ou molécula, tornando-o mais reativo que as espécies não radicalares (JORDÃO et al, 1998). Enquanto alguns dos radicais podem ser altamente reativos no organismo atacando lipídios, proteínas e DNA, outros são reativos apenas com os lipídios. Existem ainda alguns que são pouco reativos, mas apesar disso podem gerar espécies danosas (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

O radical livre, em geral, apresenta alta instabilidade, reage rapidamente com diversos compostos e pode atacar componentes celulares. A susceptibilidade de uma célula ao estresse oxidativo depende de fatores, como a disponibilidade de antioxidantes e a capacidade de inativação ou eliminação dos produtos radiculares durante o metabolismo (JORDÃO et al, 1998).

Em baixas concentrações, radicais livres, são necessários para diversas funções celulares, como manter o estado redox e o funcionamento do sistema imune. No entanto, quantidades elevadas ou superiores aos níveis de compostos antioxidantes provocam danos às funções normais das células (COMINETTI et al, 2011). Dentre os prejuízos ao metabolismo celular, pode ocorrer

ruptura das fitas de DNA, aumento na concentração de cálcio intracelular livre, danos em proteínas específicas e peroxidação de lipídios (HALLIWELL; CHIRICO, 1993 apud COMINETTI et al, 2011).

As alterações bioquímicas que ocorrem na transformação do músculo em carne oferecem também condições favoráveis para que ocorra a oxidação nas membranas celulares, onde o balanço entre as espécies reativas e antioxidantes não é controlada (PEARSON et al., 1983; OLIVO, 2006).

3.1.1 Oxidação Lipídica

Os lipídios são importantes componentes dos produtos cárneos, conferindo características desejáveis como suculência, sabor e aroma. Contudo, são facilmente oxidáveis levando ao desenvolvimento de aromas desagradáveis além da formação de produtos tóxicos (PEARSON, et al., 1983). Assim, a oxidação lipídica é uma das causas primárias da perda da qualidade em carnes e produtos cárneos (MORRISSEY et al., 1998).

A combinação de catalisadores da oxidação lipídica, sistemas de membranas altamente insaturadas e períodos de alta oxigenação propiciam as reações oxidativas no músculo esquelético, que inicialmente ocorrem ao nível de membranas celulares (CHAN; DECKER, 1994). A carne de frango, por exemplo, possui concentração relativamente elevada de ácidos graxos poliinsaturados tornando-se mais suscetível à rancidez oxidativa em comparação aos outros tipos de carnes, sendo superada apenas pela carne de peixe (BYRNE et al., 2002).

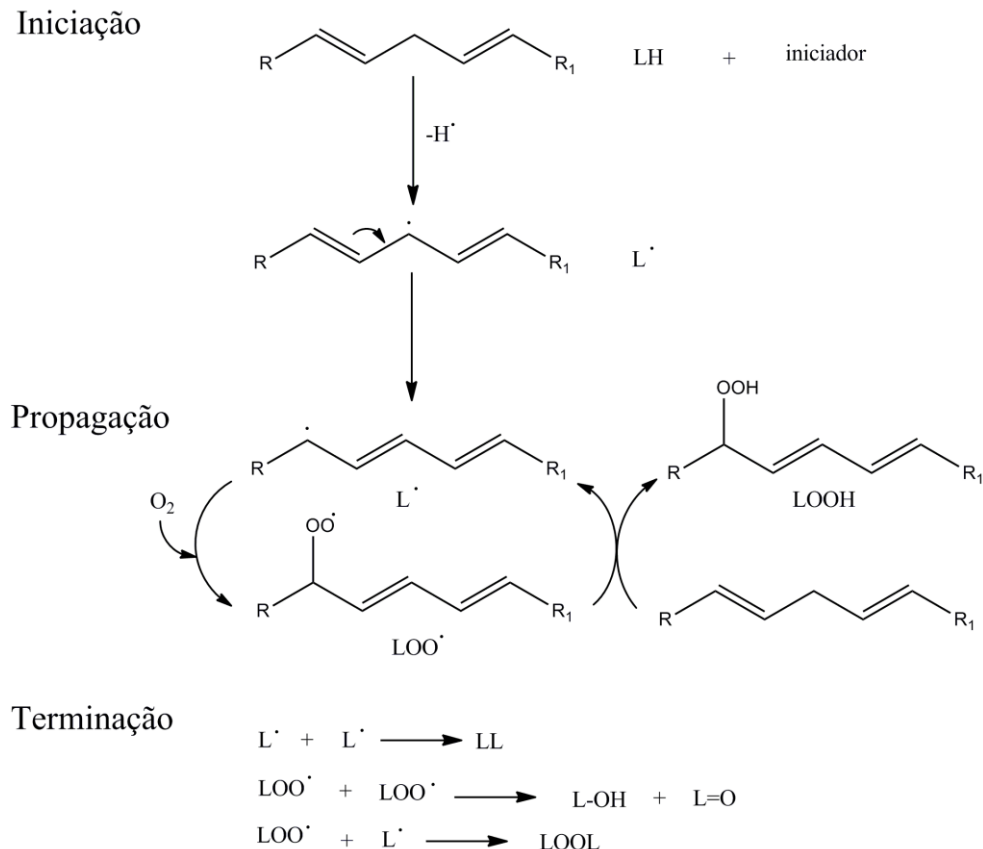
Os radicais livres HO[•] atacam a cadeia lipídica em sítios susceptíveis como o grupo metilênico alílico, convertendo-o em novo centro de radical livre. Os ácidos graxos poliinsaturados são mais susceptíveis ao ataque por radicais livres, devido ao carbono metilênico *bis*-alílico e quanto maior for o número de instaurações mais rápido será o ataque (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

A reação entre espécies reativas e ácidos graxos poliinsaturados, presentes na membrana celular, inicia um processo em cadeia, conhecido como peroxidação lipídica, que pode ser avaliado e servir como indicador de estresse oxidativo celular (LIMA; ABDALLA, 2001). Em consequência, provoca alterações nas membranas, as quais levam a transtornos da permeabilidade, o que resulta na perda da seletividade para entrada e/ou saída de nutrientes e substâncias tóxicas à célula,

alterações do DNA e comprometimento dos componentes da matriz extracelular (VACA; WILHEM; HARMS-RINGDAHL, 1988; BABER; HARRIS, 1994 apud LIMA; ABDALLA, 2001).

O mecanismo da oxidação de lipídios é constituído de três fases conforme apresentado na Figura 1. A primeira fase, iniciação, ocorre na etapa *ante-mortem*, nas membranas celulares (PIKUL et al., 1984; CHIZZOLINI et al., 1998). Embora possuam mecanismos de defesa, as células animais podem continuar sofrendo ação de agentes estressores, oriundos de fontes internas e externas. Muito destes agentes podem atuar como aceleradores das reações de peroxidação com formação de radicais livres (HALLIWELL, 1996; BERGAMAN et al., 2001; SOARES, 2002). Nesta fase, o ácido graxo poliinsaturado sofre ataque de uma espécie que é suficientemente reativa (agente iniciador) para abstrair um átomo de hidrogênio a partir de um grupo metileno (-CH₂-), formando um radical de carbono. Este radical, por sua vez, é estabilizado por rearranjo molecular para formar um dieno conjugado. (LIMA; ABDALLA, 2001).

FIGURA 1: Representação das reações, em etapas, da oxidação lipídica.



Fonte: LIMA; ABDALLA (2001)

A segunda fase, propagação, ocorre no momento do abate e pós abate, quando se instala o *rigor mortis*. As transformações que predisõem a carne à oxidação são a paralisação da circulação sanguínea e nutriente, metabolismo anaeróbico, comprometimento do sistema antioxidante, perda da capacidade de acúmulo de cálcio pelo retículo sarcoplasmático, ativação das PLA₂ e a oxidação lipídica inicial das membranas (MORRISSEY et al., 1998). Nesta fase, a participação do oxigênio é importante, o radical alquila inicialmente formado se combina com o oxigênio resultando no radical peroxila, o qual pode abstrair um hidrogênio de outro ácido graxo, gerando outro radical de carbono e promovendo a etapa de propagação (LIMA; ABDALLA, 2001).

Posteriormente, a última etapa da peroxidação lipídica, é marcada pela interrupção das reações em cadeia e formação de compostos mais estáveis, ou seja, produtos não radicalares. A fase de terminação ocorre durante o processamento e armazenamento da carne (DECKER; CRUM, 1993).

A combinação destas transformações bioquímicas e de fatores como luz, temperatura, metais pesados, hemoglobinas, mioglobinas, citocromos e micro-organismos formam sistemas catalíticos, atuando como iniciadores da oxidação lipídica mesmo após a morte do animal (TICHIVANGANA; MORRISSEY, 1985 apud SOARES, 1999).

No abate de um animal, com o término de fluxo de sangue do músculo e a conseqüente interrupção do suprimento de oxigênio, ocorrem intensas modificações químicas e estruturais que levam à transformação do músculo em carne ou à mudança *post mortem* do músculo (KUBOTA; OLIVO; SHIMOKOMAKI, 1993). Neste processo há aumento do cálcio sarcoplasmático livre que pode alterar as enzimas lipolíticas como a fosfolipase A₂ (MAUGHAN et al, 1989)

As fosfolipases A₂ (PLA₂), cálcio-dependentes, podem ser encontradas tanto no interior como exterior das células. As PLA₂ intracelulares estão freqüentemente associadas a membranas e envolvidas no metabolismo dos fosfolipídios (DENNIS, 1997; apud OLIVEIRA, 2008). A ação catalítica da enzima PLA₂ ocorre na posição Sn-2 dos glicerofosfolipídios, produzindo o ácido araquidônico (MURKAMI; KUDO, 2002), aumentando a suscetibilidade à oxidação em carnes (FERRARI, 1998).

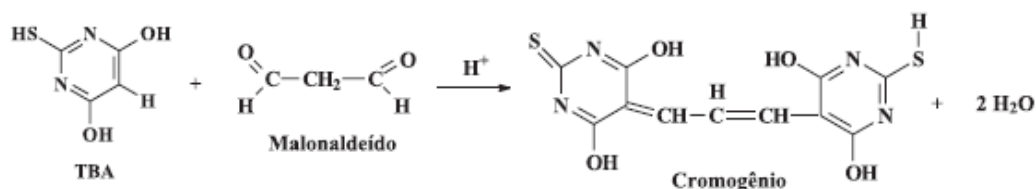
Soares et al. (2003) demonstraram que o estresse térmico pré-abate em frangos promove maior atividade da PLA₂ na presença de alta concentração de

Ca²⁺ e consideraram esta enzima como indutora das reações bioquímicas e fisiológicas que ocasionam carnes com anomalia PSE (*Pale, Soft, Exudative*). Soares et al. (2009) observaram que no perfil de ácidos graxos das carnes PSE a fração correspondente ao ácido araquidônico foi 38,6% maior que nas carnes normais e a oxidação lipídica foi 27% maior que as carnes normais.

Chen et al. (2010) determinaram a atividade de PLA₂ e enzimas antioxidantes, entre elas a glutaciona peroxidase, tanto em carnes suínas normais e carnes suínas com anomalia PSE. As carnes PSE apresentaram valores mais elevados para atividade enzimática de PLA₂ e menores para atividade da glutaciona peroxidase, comparados à carne suína normal. Estes resultados foram relacionados com o maior valor de oxidação lipídica em carnes PSE e a sua ocorrência.

O método mais usual na avaliação da oxidação de lipídios em carnes e produtos cárneos é o teste de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico), atualmente denominado TBARS (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico) devido à sua simplicidade e rapidez (GRAY, 1978; RAHARJO; SOFOS, 1993). O teste de TBARS quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, e outros produtos formados durante o processo oxidativo. A reação envolve a condensação entre o TBA e o malonaldeído (Figura 2), produzindo um composto de cor vermelha, medido espectrofotometricamente a 500 a 550 nm. Os resultados são expressos em valor de TBARS, definidos como a massa, em mg de malonaldeído e outras substâncias que reagem com TBA por kg de amostra (OSAWA; FELÍCIO, GONÇALVES, 2005).

FIGURA 2: Reação do teste de TBA entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído, formando o composto colorido, medido espectrofotometricamente a 500 a 550 nm



Fonte: OSAWA; FELÍCIO; GONÇALVES (2005).

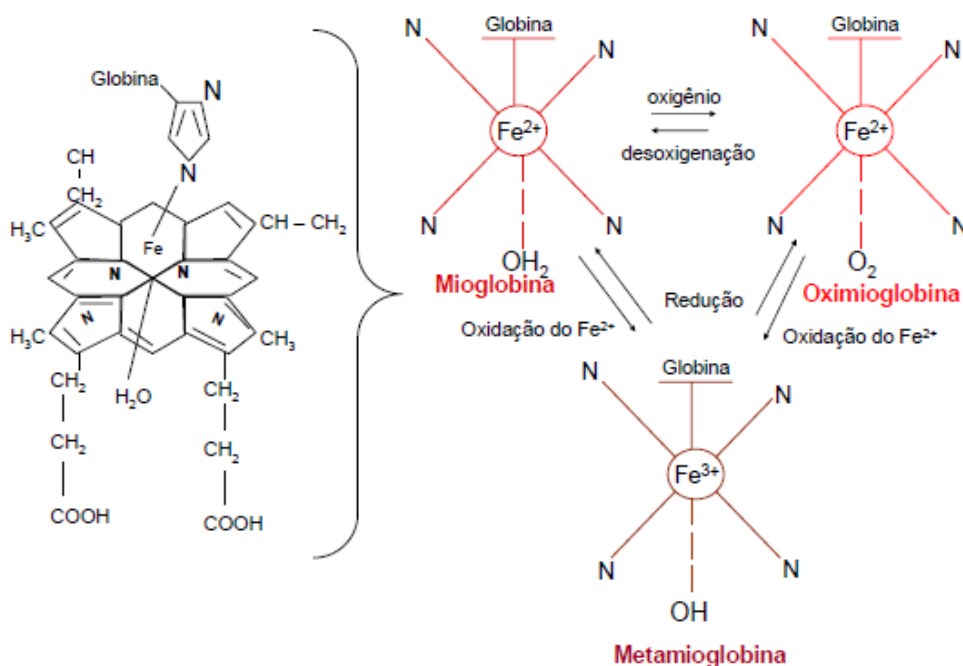
A oxidação lipídica, em fim, provoca perdas no valor nutricional devido à destruição de nutrientes essenciais como os ácidos graxos linoleico (ômega 6) e

linolênico (ômega 3) (YANG et al., 2002; CONEGLIAN, 2011), leva a formação de produtos indesejáveis do ponto de vista sensorial (OSAWA; FELÍCIO, GONÇALVES, 2005) e a formação de compostos tóxicos como malonaldeídos e óxidos de colesterol (PEARSON et al, 1983). Assim, a oxidação lipídica conduz a diminuição do tempo de vida útil da carne (LAWRENCE; FOWLER, 1997). Além disso, a oxidação lipídica está diretamente relacionada com a oxidação de pigmentos da carne, alterando negativamente a cor dos produtos cárneos, e promovendo maior oxidação proteica (OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2002; TROUT, 2003).

3.1.2 Oxidação da Mioglobina

A mioglobina é uma proteína conjugada, a qual é responsável pela coloração vermelho púrpura da carne fresca. Esta proteína constitui-se de uma porção protéica, denominada globina, e uma porção não protéica, constituída pelo átomo de ferro, denominada grupo heme. Quando a mioglobina (Fe^{2+}) se oxida, forma-se o estado férrico (Fe^{3+}), denominado de metamioglobina, dando características á carne de coloração marrom (FIGURA 3) (FENNEMA, PARKIN; BARMODARAN, 2010). Estes pigmentos coexistem na carne e a cor final do produto cárneo dependera da proporção relativa de cada um.

FIGURA 3: Esquema da molécula mioglobina e suas formas.



Fonte: ORDOÑES (2005)

Pesquisas sustentam que existe interdependência entre a oxidação lipídica e a oxidação da mioglobina (LIU et al, 1995; OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2002). Os radicais livres produzidos durante a oxidação lipídica podem também oxidar o pigmento heme, bem como provocar a desnaturação da parte protéica, levando a mudanças de cor indesejáveis na carne (LIU et al, 1995).

De acordo com Trout (2003) tanto a oxidação da mioglobina é catalisada pelos produtos da oxidação lipídica, quanto os radicais liberados pela mioglobina oxidada poderão contribuir para oxidação lipídica. Músculos que apresentam lipídios suscetíveis à oxidação tendem a gerar uma maior quantidade de compostos reativos, que por sua vez são capazes de acelerar a oxidação da mioglobina (TROUT, 2003). Makenna et al (2005) observaram em músculos bovino de maior estabilidade de cor, menores valores de TBARS e vice-versa, demonstrando uma provável correlação entre os processos oxidativos. Sendo assim, mecanismos capazes de retardar a oxidação lipídica, conseqüentemente, aumentarão a estabilidade da cor.

O aumento na estabilidade da cor e a redução na oxidação lipídica foram promovidos quando houve aumento nos níveis de α -tocoferol na carne,

provavelmente por produzir efeito competitivo entre α -tocoferol e a mioglobina, pelos radicais livres oriundos da oxidação lipídica (O'GRANDY; MONAHAN; MOONEY 2001; LANARI et al, 1996).

A oxidação lipídica pode promover o estresse oxidativo nas proteínas, em geral, produzindo compostos indesejáveis, afetando a qualidade da carne como perda das propriedades nutricionais, perda na capacidade de retenção de água, desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis, decréscimo na solubilidade proteica comprometendo a formação de emulsões (BATIFOULIER et al., 2002).

A oxidação de proteínas pode ser induzida além dos produtos secundários de oxidação lipídica, mas também por peróxidos de hidrogênio, metais de transição (Fe e Cu) e luz ultravioleta (SHACTER, 2000 apud ROTTA, 2007).

Nos aminoácidos e proteínas, o radical HO• pode reagir na cadeia lateral, onde ataca preferencialmente cisteína, histidina, triptofano, metionina e fenilalanina, e, em menores proporções, arginina e asparagina (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). A perda da protonação dos grupos aminos resulta na carbonilação das proteínas, alterando a distribuição das cargas elétricas e por fim o ponto isoelétrico das proteínas. A consequência direta desta modificação química é o desbalanço entre as interações intermoleculares de proteína e proteína-água, causando perda na solubilidade proteica, favorecendo interação proteína-proteína e eventualmente uma desnaturação (XIONG et al, 2000; ÉSTEVEZ, 2011).

As carbonilas proteicas podem também ocasionar formação de ligações cruzadas, contribuindo para perda da sua funcionalidade. As ligações cruzadas inter e intra molecular em proteínas oxidadas são consideradas a causa das mudanças estruturais. Desta forma, contribuem para formação e estabilização de agregados proteicos, causando a perda na capacidade de retenção de água pelo musculo e assim a sua suculência (XIONG et al, 2000; LIU; XIONG; CHEN, 2010; ÉSTEVEZ, 2011).

Os ataques aos aminoácidos que compõem as proteínas podem gerar danos como clivagens de ligações com ou sem consequência da perda de atividade enzimática, dificuldades no transporte ativo através das membranas celulares, citólise e morte celular (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

3.2 ANTIOXIDANTES

Segundo a Foods and Drug Administration (FDA), antioxidantes são substâncias utilizadas para preservar os alimentos, por retardarem a deterioração, rancidez e mudanças na coloração decorrentes das reações oxidativas (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009).

Os antioxidantes, para serem empregados em alimentos, devem ser efetivos em pequenas concentrações, apresentarem ausência de cor, odor ou sabor, serem estáveis aos processamentos e facilmente incorporados ao alimento. Além destes fatores deve-se considerar também a lei vigente, custo e preferência do consumidor (SELANI, 2010).

Atualmente, existe uma tendência crescente no consumo de alimentos naturais ou com dosagem mínima de aditivos. Sendo assim, tem-se buscado alternativas para reduzir o uso de antioxidantes aplicados diretamente nos alimentos (exógenos), substituindo-os pelos endógenos (ingestão pela dieta) (JESEN; LAURIDSEN; BERTELSEN, 1998). A inclusão de antioxidantes na dieta de animais destinados à produção de carne é um método efetivo para aumentar a estabilidade oxidativa dos produtos cárneos, principalmente onde a adição exógena de antioxidante é dificultada (SOUZA, 2001).

Alguns compostos administrados não são propriamente antioxidantes, e sim nutrientes essenciais para o funcionamento de sistemas antioxidantes endógenos. Um exemplo é o mineral selênio (Se), cofator de sistema enzimático antioxidante (PAPAS, 1999).

Portanto, a busca por maiores rendimentos na produção e melhor qualidade da carne de frango implicou na necessidade de desenvolvimento de estudos na área de nutrição animal. Para que um animal possa produzir de maneira adequada, o mesmo precisa ter acesso a um alimento que forneça todos os nutrientes necessários, sendo a biodisponibilidade dos mesmos muito importantes para produtividade (BOIAGO, 2006).

3.2.1 Selênio

O selênio (Se) é um micromineral essencial, pois tem impacto significativo no desempenho e imunidade animal, induzindo mudanças fisiológicas

no tecido muscular, o que pode afetar positivamente a qualidade da carne de frango (HESS; DOWNS; BILGILI, 2003; ASSIS et al., 2008).

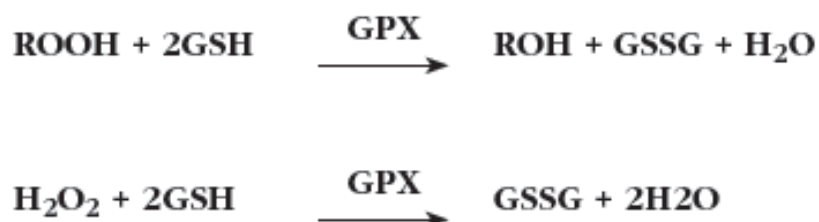
Nos alimentos e suplementos, o selênio pode ser encontrado na forma orgânica, como selenometionina, em fontes vegetais e animais e em alguns suplementos; e como selenocisteína, principalmente em fontes animais. Enquanto que a forma inorgânica encontra-se como selenito e selenato, basicamente em suplementos (COMINETTI et al, 2011).

O papel do Se na melhora da qualidade da carne deve-se ao fato de exercer suas funções por meio das selenoproteínas, as quais apresentam ação antioxidante. A síntese de selenoproteínas é totalmente dependente da disponibilidade de selênio. Em razão disso, algumas enzimas perdem sua atividade mais rapidamente devido a deficiência de selênio, o que implica menor defesa antioxidante (COMINETTI et al, 2011).

A glutathiona peroxidase (GSH-Px) é a selenoproteína presente no citosol das células (COMINETTI et al, 2011), que apresenta um resíduo de cisteína contendo selênio covalentemente ligado ao restante da enzima (JUNIOR et al, 2001).

O metabolismo da GSH-Px é um dos mecanismos de defesa antioxidante mais importante do sistema biológico (FIGURA 4). A sua função catalítica é agir sobre os hidroperóxidos orgânicos e peróxidos de hidrogênio, convertendo-os em álcool e água, respectivamente, a partir da glutathiona reduzida (GSH).

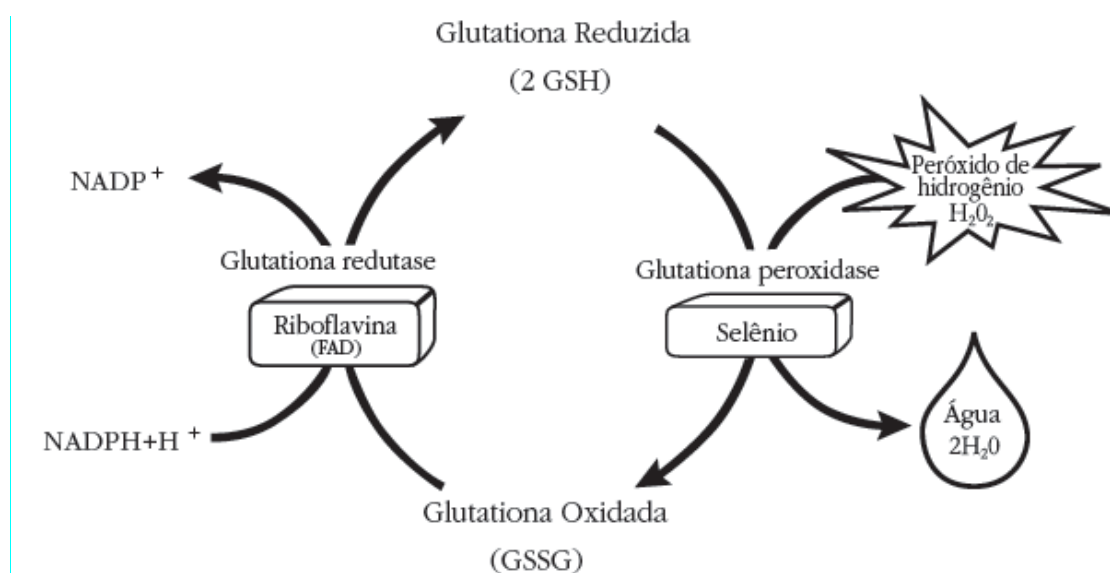
FIGURA 4: Metabolismo da glutathiona peroxidase (GPX) e glutathiona reduzida (GSH), sobre os hidroperóxido lipídico e de hidrogênio



Fonte: COMINETTI et al. (2011).

Outra enzima que age conjuntamente com a GSH-Px é a enzima glutationa redutase (GR), uma enzima que não age diretamente na remoção de espécies radiculares, porém é responsável pela regeneração da glutaciona à sua forma reduzida (GSH) na presença de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH), tendo como objetivo impedir a paralisação do ciclo metabólico da glutaciona (JÚNIOR et al., 2001) (FIGURA 5).

FIGURA 5: Interconversão de glutaciona nas suas formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) pela ação das enzimas glutaciona peroxidase (GSH-Px) e glutaciona redutase (GR)



Fonte: COMINETTI et al. (2011)

O Se, quando componente da GSH-Px, age como segunda linha de defesa, auxiliando a vitamina E a evitar a formação dos peróxidos metabólicos (JORDÃO et al, 1998). A deficiência de Se, então, torna as células mais susceptíveis ao processo oxidativo, além de aumentar a necessidade de vitamina E (KOHRLÉ et al., 2000). Na maioria dos casos, vitamina E e Selênio agem mutuamente, apresentando sinergismo e cada um age como auxiliar, possuindo forte influência na manutenção do sistema antioxidante do animal (COMBS, 1981; MCDOWELL, 1992).

Wang; Xu (2008) suplementaram a dieta de frangos de corte com 0,2 mg Se/kg na forma de selenito de sódio ou Se levedura e observaram diferença significativa para conversão alimentar das aves tratadas com Se em relação às aves do tratamento controle, porém não foram observadas diferenças para peso final,

viabilidade e ganho diário entre as fontes de Se. Foi observado também que os frangos do tratamento controle apresentaram menor conteúdo de Se no músculo, fígado, rim e pâncreas.

Características qualitativas da carne foram avaliadas por De Lyons (1998), que observou melhora na cor, textura e concentração de pigmentos quando utilizou 0,25 mg Se/ kg de ração, na forma de selenometionina (Sel-Plex®). Observou-se, também, a redução de 6,9% na concentração lipídica da carne em relação aos outros tratamentos com utilização de fonte orgânica de selênio

O efeito da suplementação de Se em dietas de aves pode variar de acordo com a fonte utilizada (CANTOR et al., 1997). Fontes de minerais quelatados são mais facilmente absorvidos e retidos pelas aves em relação às fontes inorgânicas, podendo assim atuar melhorando o desempenho e reduzindo a excreção dos microminerais que potencialmente poluem o ambiente (BRITO *et al.*, 2006). Yonn; Werner; Butler (2007) observaram maior concentração de Se no sangue e maior retenção do mesmo em frangos que receberam diferentes fontes de Se quelatado, Se levedura, em relação à forma inorgânica.

Edens et al. (2004) trabalharam com quatro formas de Se (sem suplementação de Se; 0,2 ppm de Se como Selenito de Sódio; 0,2 ppm de Se como Selenometionina e, combinação das duas formas: 0,1 ppm como Selenito de Sódio + 0,1 ppm como Selenometionina) na dieta de frangos de corte. Os resultados mostraram que o ganho de peso e conversão alimentar, foram melhores em todos os tratamentos que continham Se, independente da sua forma. Edens (1996) observou que a perda por gotejamento da carne de frango, foi menor quando os frangos foram suplementados com Se quelatado. Estes resultados corroboram com outros estudos que apresentaram melhores rendimentos de carcaça e peito, além de reduzida perda por gotejamento em carcaças dos frangos suplementados com Se, atribuindo assim, o fato a uma melhora na resistência da membrana celular aos danos provocados pelos radicais livres (CHOCT; NAYLOR; REINKE, 2004; PERIC et al., 2009).

Boiago (2006) em seu experimento forneceu às aves dietas suplementadas com concentrações de 0,3 e 0,5 mg de Se/ Kg de ração de diferentes fontes do mineral, Sel-Plex e selenito de sódio. A utilização da fonte orgânica (Sel-Plex) ao invés de selenito de sódio proporcionou menor oxidação da

carne do peito das aves armazenadas por 7 e 15 dias a 4°C, além de menor luminosidade e maior pH.

Skrivan et al. (2008) avaliaram a suplementação na forma de selenito de sódio e selenometionina e observaram que estes promoveram aumento dos níveis de Se na carne do peito com ambas as fontes. Além disto, o selenometionina proporcionou maior proteção à carne, visto que este produziu menor teor de malonaldeído quando comparado com o selenito de sódio e com o controle. No armazenamento da carne de aves por 12 dias, Ryu et al. (2005) obtiveram valores menores para oxidação lipídica em aves suplementadas com Se.

Srimongkol; Angkanaporn; Kijparkkorn (2004) ao avaliarem a adição de selenometionina na ração de frangos de corte, verificaram aumento da atividade da enzima GSH-Px. Choct; Naylor; Reinke (2004) também observaram um aumento significativo na atividade enzimática de GSH-Px em frangos suplementados com selênio na forma inorgânica como selenito de sódio. No entanto, Cichoski et al. (2012) verificaram que a atividade da GSH-Px em coxas de frango não alterou significativamente com a inclusão de selênio na dieta independente das fontes (orgânico e inorgânico) utilizadas. Holovska-Junior et al. (2003) também, observaram que a dieta não influenciou significativamente a atividade desta enzima, quando investigaram o efeito de 4 dietas (sem selênio, 0,2mg de Se inorgânico, 0,2mg de Se orgânico e 0,3mg de Se inorgânico) na atividade hepática da GSH-Px de frango.

Skrivan et al. (2008) avaliaram a suplementação de 0,3 mg/kg da dieta, na forma de selenito de sódio e selenometionina e observaram que a suplementação de Se promoveu uma maior deposição da vitamina E na carne, visto que as carnes das aves que receberam selenometionina apresentavam maiores valores de α -tocoferol.

O fornecimento de concentrações adequadas de Se na dieta em combinação com a vitamina E é um passo importante para maximizar o desempenho animal, pois formam um sistema antioxidante. Os antioxidantes atuam no organismo para operar em conjunto e formar um sistema integrado, responsável pela proteção dos danos causados por radicais livres e produtos tóxicos de seu metabolismo (KARADAS; SURAI, 2004).

Combs (1981), investigando o efeito da vitamina E e Se em dietas para frangos de corte com 14 dias de idade, utilizou uma dieta basal suplementada ou não com vitamina E (zero; 100UI kg⁻¹) e/ou selênio (zero; 0,10ppm). A dieta basal

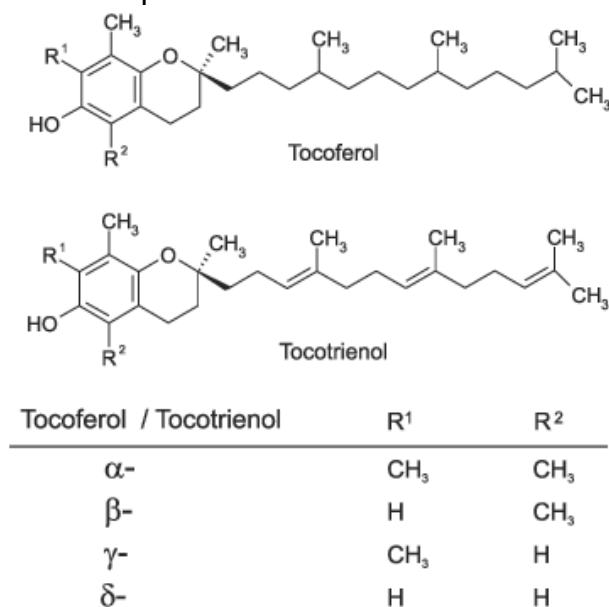
(não suplementada) diminuiu significativamente o ganho de peso e a conversão alimentar quando comparada às dietas suplementadas; diátese exudativa e mortalidade foram significativamente maiores nas aves alimentadas com a dieta basal.

3.2.2 Vitamina E

A vitamina E tem sido reconhecida como nutriente essencial para o crescimento e saúde de todas as espécies de animais. Isso deve principalmente à sua função antioxidante (LIU; LANARY; SCHAEFER, 1995).

Vitamina E é um termo genérico que se refere aos tocoferóis, grupo composto por quatro isômeros diferentes com relação ao número e posição do grupo metila, ligado ao anel fenólico (FIGURA 6). Os isômeros do tocoferol também contêm uma cadeia lateral alifática, que pode ser saturada, no caso dos tocoferóis e insaturadas, no caso dos tocotrienóis, perfazendo então oito homólogos naturais da vitamina E (JORDÃO et al, 1998; PACKER; WEBER; RIMBACH, 2001; CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007).

FIGURA 6: Estrutura dos componentes naturais da vitamina E



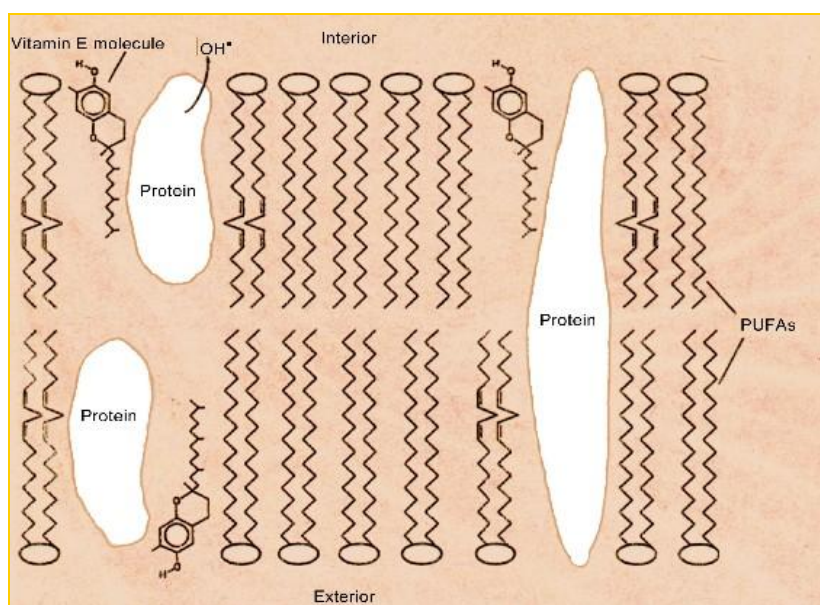
Fonte: CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO (2007).

A isoforma tocoferol que possui maior atividade biológica e encontra-se com grande frequência nos compostos para formulação de alimentos para animais é

a α -tocoferol (BARROETA; BAUCCELLS; CASTRO, 2002). A sua ação antioxidante é efetivamente maior quando a vitamina E é incorporada, tanto na forma de acetato de α -tocoferol (BUCKLEY; MORRISEY; GRAY, 1995) ou em suas formas sintéticas (LIU; LANARY; SCHAEFER, 1995), na dieta do animal (MITSUMOTO et al ., 1993; LIU et al ., 1995; JENSEN; LAURIDSEN; BERTELSEN, 1998; MORRISSEY et al., 1998) ao invés de ser aplicada no momento do processamento de carnes, mesmo que aumente a estabilidade da cor do produto ou diminua a oxidação lipídica (BARRETO et al ., 1996; MITSUMOTO et al ., 1991)

A localização específica do α -tocoferol na membrana celular (FIGURA 7) e a mobilidade da cadeia lateral da molécula, permite maior proteção de ácidos graxos polinsaturados à peroxidação por espécies reativas (BUCKLEY; MORRISEY; GRAY, 1995).

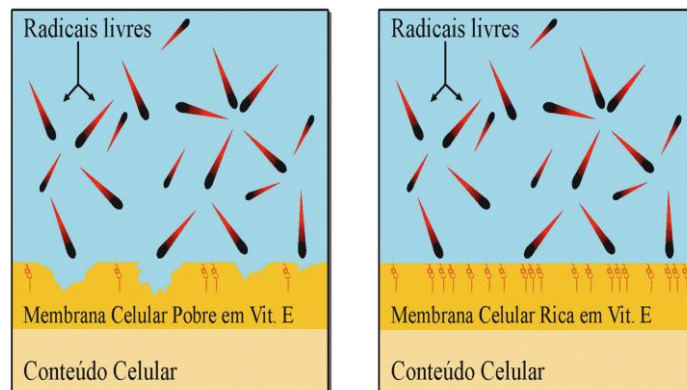
FIGURA 7: Representação diagramática do α -tocoferol na membrana celular



Fonte: BUCKLEY; MORRISEY; GRAY (1995 apud OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2002).

Segundo Barroeta; Baucells; Castro (2002), o α -tocoferol tem a função de proteção aos fosfolipídios das membranas contra reações de oxidação lipídica, devido a neutralização dos radicais livres (MCDONALD; EDWARDS; GREENHALGH, 1995; SURAI; NOBLE; SPEAKE, 1999), conforme representado na Figura 8.

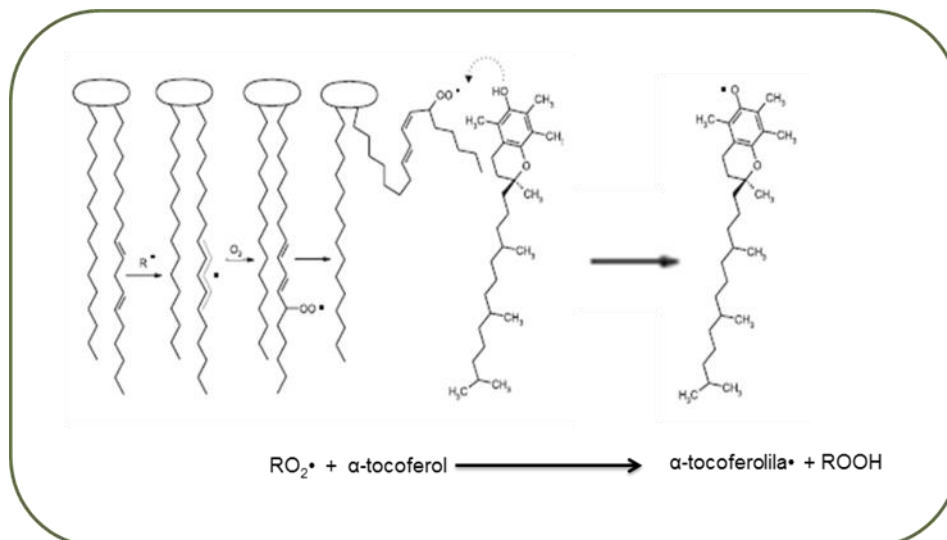
FIGURA 8: Representação da proteção da vitamina E contra ataques de radicais livres à membrana celular



Fonte: BUCKLEY; MORRISEY; GRAY (1995 apud OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2002)

Neste processo o α -tocoferol atua, doando um átomo de hidrogênio para os radicais peroxila e alcóxila, derivados da oxidação lipídica. Estes por sua vez, oxidam a vitamina E e produzem o radical tocoferolila, um radical estável e que não se propaga em cadeia (FIGURA 9) (JORDÃO et al, 1998).

FIGURA 9: Etapas da lipoperoxidação e ação antioxidante do α -tocoferol



Fonte: CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO (2007).

Cada tocoferol pode reagir com até dois radicais peroxila e, nesse caso, o tocoferol é irreversivelmente desativado. Para que eles não se desativem, necessitam do mecanismo de regeneração sinérgico nas membranas celulares. A reação de doação do H fenólico para os radicais é acelerada pela presença de um grupo metoxi em *para*, pois este estabiliza o radical formado por ressonância, e

pelos grupos metila em *orto* ou em *orto* e *meta* que apresentam pequeno impedimento estérico (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

O mecanismo, detalhado acima, interrompe a reação em cadeia da peroxidação lipídica. O elétron desemparelhado do radical α -tocoferolila• é muito menos eficiente no ataque a cadeias laterais de ácidos graxos que o radical alquilperoxila ($RO_2\bullet$) (CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007).

Higgins et al. (1998), suplementando a dieta de perus com vitamina E (600 mg/kg), verificaram diminuição na taxa oxidativa pelo método de TBARS no músculo do peito. Da mesma maneira, Combs; Regenstein (1980) observaram que a suplementação da dieta com vitamina E reduziu os danos causados pela peroxidação na carne da coxa de frangos de corte. Este estudo também mostrou melhora quando a dieta foi suplementada em combinação com Selênio.

Cortinas et al. (2005) concluíram que a suplementação com até 200 ppm de α -tocoferol previne até 88% da máxima oxidação lipídica, no entanto, níveis superiores a este não melhoraram a estabilidade da carne de coxa de frangos. Resultados semelhantes foram obtidos por BARTOV; FRIGG (1992 *apud* FELIX; MAIORKA; SOBARA, 2009), os quais encontraram maior estabilidade da carne de frangos suplementados com 150 ppm de α -tocoferol durante todo o ciclo produtivo, em comparação com os suplementados apenas nas últimas duas semanas. A vitamina E, também, atua possivelmente inibindo a atividade da PLA_2 e consequentemente a oxidação lipídica em carnes de frango (SOARES et al., 2003).

O acúmulo da isoforma α -tocoferol da vitamina E é dependente da quantidade e do tempo de suplementação, podendo variar seus níveis nos diferentes tecidos (ARNOLD et al., 1993 ; LIU et al., 1996; GUIDERA et al., 1997; MORRISSEY et al., 1997). Em geral, 200 UI/Kg de ração é a quantidade necessária para conferir a estabilidade lipídica às carnes (JENSEN; LAURIDSEN; BERTELSEN, 1998; MORRISSEY et al., 1998). Buckey; Morrissey (1992) concluíram que a vitamina E quando adicionada *post-mortem* não é tão efetiva quanto a incorporação através da dieta animal, possivelmente por não permanecer como parte integrante da membrana celular.

O aumento da concentração de α -tocoferol nos tecidos protege não apenas os lipídios localizados na membrana, mas também a oxidação da oximioglobina (GUIDERA et al., 1997; SHIMOKOMAKI et al., 1997). Diversos trabalhos demonstraram redução na descoloração da superfície de carnes ou

retenção da cor vermelha em carnes suplementadas com α -tocoferol (LIU et al., 1995; GUIDERA et al., 1997; SHIMOKOMAKI; OLIVO; FRANCO, 1997; OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2002). O fato foi atribuído a hipótese do efeito estabilizador do pigmento heme na forma de oximioglobina (vermelho brilhante) (MITSUMOTO et al., 1998; OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2002).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS E TRATAMENTOS

Os pintinhos de corte machos da linhagem *Hubbard* (n= 500) de 1 dia de idade foram divididos em 4 tratamentos: C-Controle (sem suplementação); SE (suplementação com 150 mg de vitamina E.kg⁻¹ de ração); SS (suplementação com 0,5 mg de selênio.kg⁻¹ de ração) e SSE (suplementação com 0,5 mg de selênio e 150 mg de vitamina E.kg⁻¹ de ração). As rações experimentais atenderam as exigências mínimas preconizadas por Rostagno et al. (2011), sendo suplementadas com vitamina E na forma de α -tocoferol e o selênio na forma de selenito de sódio. Os frangos foram criados na Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina, onde receberam água e alimento *ad libitum* durante todo o período experimental de 42 dias. Após este período, foram abatidos 15 animais de cada tratamento seguindo as práticas comerciais de insensibilização elétrica, sangria, escaldagem, depenagem, evisceração e *chiller*. Os filés de peito (*Pectoralis major*) foram armazenados a 4°C (4 dias) e a -18°C (30 dias) para posterior análises. A pesquisa foi avaliada e aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (registro processo 38013.2011.89).

Os filés de frango (*Pectoralis major*) foram armazenados a 4°C (4 dias) e a -18°C (30 dias) para análises de oxidação lipídica e aroma de requentado (WOF), pelo método de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), razão a*/b* e perda de água por cozimento (PPC). As análises de perfil de ácidos graxos, atividade da fosfolipase A₂, glutathione peroxidase e determinação do teor de Selênio e Vitamina E foram realizadas apenas em filés de frangos refrigerados (4 dias).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Medida de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico- TBARS

A oxidação lipídica, em filés de frango, foi determinada pelo método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) conforme procedimento descrito por Tarladgis; Pearson; Dugan (1964). Neste procedimento, 20 g de filé de

frango foram homogeneizados com 98 mL de água destilada, 2,5 mL de ácido clorídrico 4N, 2 gotas de anti-espumante e algumas pérolas de vidro. Esta solução destilou durante 10 minutos e o destilado foi coletado. Em uma alíquota de 5 mL do destilado adicionou-se 5 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,02 M, permanecendo em banho-maria fervente, por 35 minutos. Após o resfriar a alíquota pode-se, então, realizar a leitura em espectrofotômetro a 530nm. Uma curva padrão utilizando solução de 1,1,3,3-tetraetoxipropano em água destilada, nas concentrações de 0,7 a 2,0 M foi preparada. Os resultados foram expressos em mg de TBARS.kg⁻¹ de amostra.

4.2.2 Perda de Peso por Cozimento (PPC)

A PPC foi determinada de acordo com metodologia descrita por Honikel (1998). As amostras foram primeiramente pesadas, aproximadamente 30 g, acondicionadas em sacos plásticos hermeticamente fechados e, em seguida, cozidas em banho-maria a 80°C até atingirem temperatura interna de 75°C. Após o cozimento a água exsudada foi desprezada e as amostras resfriadas até a temperatura ambiente, para que fossem novamente pesadas. O resultado foi expresso em % de água perdida, considerando o peso inicial e final da amostra.

4.2.3 Aroma de Requentado (WOF)

Determinou-se o aroma de requentado pelo procedimento descrito por Igene; Pearson (1979). Os filés de frango foram cozidos conforme descrito anteriormente para análise de PPC. Após o cozimento a água exsudada foi desprezada e os filés armazenados a 4°C sob luz fluorescente por 48h e reaquecidos em banho-maria por 6 minutos. Somente, então, determinou-se a oxidação lipídica através da análise de TBARS.

4.2.4 Perfil de Ácidos Graxos

A extração dos lipídios seguiu a metodologia de Bligh; Dyer (1959). Neste procedimento, uma porção de 40g da amostra foi homogeneizada com 100mL

de clorofórmio e metanol (2:1 v/v). Em seguida adicionou-se 40mL de clorofórmio e 40 mL de água destilada, sob agitação por 1 hora. O homogenato foi filtrado em funil de buchner com papel filtro Watman nº1, empregando vácuo. O filtrado foi transferido para um funil de separação e acrescentado solução aquosa de NaCl 0,9%, equivalente a 1/5 do volume filtrado. Após a separação de fases, recolheu-se a fase contendo clorofórmio e a matéria graxa total em um balão volumétrico de fundo chato, para que o solvente fosse evaporado em um rotavapor com temperatura controlada de 33-34°C.

A hidrólise e transesterificação dos ácidos graxos seguiu o método 5509 da ISO (1978). Em 200mg da matéria graxa adicionou-se 2 mL de n-heptano e feita uma rigorosa agitação até completa solubilização dos lipídios. Em seguida, adicionou-se 2 mL de solução de NaOH/ metanol 2M e novamente submetido a agitação. A solução permaneceu em repouso até completa separação das fases. A fase superior, contendo n-heptano e ésteres metílicos de ácidos graxos, foi extraída com auxílio de um pipetador automático e transferida para um vial âmbar e armazenado a -18°C até o momento da análise.

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados utilizando cromatógrafo Shimadzu modelo 17A Gas Chromatograph, equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar (100m x 0,25 mm) com 0,25 µm de cianopropil polisiloxano CP SII 88. A rampa de temperatura da coluna foi programada para: 65°C por 15 minutos; 10°C.min⁻¹ até 165°C e mantido por 2 minutos; 4°C.min⁻¹ até 185°C e mantido por 8 minutos; 4°C.min⁻¹ até 235° e mantido por 5 minutos. O detector e o injetor foram mantidos a 260°C, foi utilizado Split de 1/100. O fluxo de gases foi de 1,2 mL .min⁻¹ para o gás de arraste (H₂), 30 mL.min⁻¹ para o gás auxiliar (N₂), 30 e 300 mL. min⁻¹ para os gases da chama, H₂ e ar sintético, respectivamente. A identificação dos ácidos graxos foi baseada em padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma). A área dos picos foi determinada por integrador acoplado ao cromatógrafo gasoso. Os resultados foram expressos como percentagens relativas dos ácidos graxos identificados.

4.2.5 Determinação da Metamioglobina

A determinação da metamioglobina foi medida através da determinação da cor pela razão a*/ b* (OLIVO, 2001), sendo a* (componente

vermelho-verde) e b^* (componente amarelo-azul) do Sistema de cor CIELab. A medida de cor foi realizada utilizando o colorímetro Minolta® CR400, com iluminante D65 e ângulo de visão de 10°.

4.2.6 Determinação da Atividade da Fosfolipase A₂ (PLA₂)

A atividade da PLA₂ foi acompanhada pela hidrólise do arachidonoyl Thio-PC, que é detectada por DTNB (5,5-dithio-bis (2-Nitrobenzoic Acid), utilizando kit produzido pela Cayman Chemical Company. Basicamente, 5,0 g de amostra foram homogeneizadas em ultra-turrax na velocidade de 18000 rpm em banho de gelo, com 25 mL de tampão pH 7,4 contendo 50 mmol.L⁻¹ de fosfato, 1 mmol.L⁻¹ de EDTA e centrifugados por 15 minutos a 10.000 g a 4 °C (CHEN et al., 2010). A atividade de PLA₂ foi expressa em 1U.mg⁻¹ de proteína, sendo 1 U definido como 1 μmol de arachidonoyl Thio-PC hidrolisado.min⁻¹ a 25 °C. A determinação de proteína foi realizada conforme metodologia descrita por Lowry et al. (1951).

4.2.7 Determinação de Glutathione Peroxidase (GSH-Px)

A determinação da GSH-Px foi baseada na medida de oxidação do NADPH acompanhada pela diminuição da absorvância a 340 nm (CHEN; LINDMARK-MANSSON; AKESSON, 2000). Homogeneizou-se 5 g de amostra em tampão fosfato (pH 7,6), contendo 5 mmol.L⁻¹ de EDTA e 2 mmol.L⁻¹ de glutathione reduzida, em Ultra Turrax na velocidade de 18000 rpm por 20 segundos, em banho de gelo. Posteriormente, centrifugou-se por 20 minutos a 5000g (4°C) e o sobrenadante foi filtrado em papel Whatman n°41 e estocado a -80°C até análise. Em um tubo de ensaio foram acrescentados 100 μL do filtrado, 200 μL de tampão Fosfato de Potássio (0,25 M) e EDTA (25 mM) pH 7,4, 11,1μL de Glutathione Redutase (5U), 50μL Glutathione Reduzida (40 mM) em Tampão Fosfato de Potássio (0,25 M, pH 7), 620μL Tampão Fosfato de Potássio (0,25 M, pH 7,4) e incubados por 10 minutos, em banho-maria (37°C). Em seguida, adicionou-se 10μL NADPH (20 mM) em NaHCO₃ 0,1%, permanecendo por mais 2 minutos de incubação em banho-maria (37°C). A reação iniciou-se pela adição de 20μL de t-butilhidroperóxido(15 mM). A leitura no espectrofotômetro (340 nm) foi realizada após a adição do ultimo reagente e foi acompanhada por 6 minutos, em intervalo de

1 minuto. Um branco foi utilizado sem adição de GSHPx. A atividade de GSHPx foi expressa em 1U.g^{-1} de amostra, sendo 1U definido como $1\mu\text{mol}$ de NADPH oxidado. min^{-1} .

4.2.8 Determinação de Selênio na carne

A determinação de selênio na carne foi realizada após digestão de 250 mg de amostra com 6 mL de ácido nítrico concentrado bidestilado em frascos de PTFE (politetrafluoretileno) em um forno de micro-ondas (mod. Multiwave 3000, Anton Paar, Graz, Áustria) com pressão máxima de operação de 40 bar. Em seguida, as amostras foram transferidas para frascos de polipropileno e aferidas a 30 mL com água. A concentração de selênio foi determinada por Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS, mod. Elan-DRC2, PerkinElmer) empregando as condições analíticas recomendadas pelo fabricante.

4.2.9 Determinação da Vitamina E na carne

O conteúdo de vitamina E em filés de peito de frango foi determinado por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (UPLC) da marca Waters, modelo Acquity e injetor automático de amostras, seguindo a metodologia descrita por LIU *et al.* (1996) e Olivo *et al.* (2001). A extração de α -tocoferol foi realizada através da homogeneização de 1,0g de amostra, 250mg de ácido ascórbico e 7,8mL de solução de saponificação (11% de KOH, 45% de etanol e 55% de água destilada). Posteriormente, a mistura foi aquecida a 80°C por 15 minutos e 4mL de isoctano foram adicionados e homogeneizados. Após a separação das fases, $3\mu\text{L}$ da fase de isoctano foram injetados no UPLC.

As condições de separação da vitamina E por UPLC foram: coluna de fase reversa modelo Aquity-UPLC BEH C18 (Waters, $2,1\text{ mnx } 50\text{mn}$, partículas de $1,7\mu\text{m}$), com vazão de $0,5\text{mL.minuto}^{-1}$, fase móvel 60% de acetonitrila e 40% de metanol, no tempo de corrida de 3 minutos a 25°C . Para detecção, foi utilizado o detector de arranjo de diodos da marca Waters, ajustado o comprimento de onda para 280nm. Uma curva padrão utilizando acetato de α -Tocoferol (Sigma) em

isooctano, nas concentrações 3,1 a 77,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, foi preparada. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g } \alpha\text{-Tocoferol.g}^{-1}$ de amostra em base seca.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram analisados utilizando o programa STATISTICA versão 7.0 *for Windows*. Foi aplicada análise de variância seguido pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação dos resultados obtidos entre os filés de frango dos tratamentos: C-Controle (sem suplemento), SE (suplementação com 150 mg. kg^{-1} de vitamina E), SS (suplementação com 0,5 mg. kg^{-1} selênio), SSE (suplementado com 0,5 mg. kg^{-1} de selênio e 150 mg. kg^{-1} de vitamina E).

5. REFERÊNCIAS

- ARNOLD, R. N. et al. Tissue equilibration and subcellular distribution of vitamin E relative to myoglobin and lipid oxidation in displayed beef. **Journal Animal Science**, v.71, n.1, p.105-118, 1993
- ASSIS, A. P., et al. Níveis de selênio orgânico na ração de frangos de corte mantidos em Ambiente de alta temperatura. **Zootec**, João Pessoa, PB – UFPB/ABZ, 2008.
- AVEWORLD, 2013. Notícias: Mercado: Industria de frango vê alta nas importações em 2013; Disponível em: <aveworld.com.br/noticias>. Acesso em: 25/01/2013.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quimica Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006
- BARRETO, A.C.S. et al. Modelling for controlling poultry sliced sausage lipid oxidation and discoloration by response surface methodology. In: **INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AN TECHNOLOGY**, n.42,1996, Lillehammer. Proceedings. Matforsk, Norwegian Food Research Institute, 1996. P.119-120
- BARROETA, A., BAUCCELLS, M. B.; CASTRO, A. Óptima nutrición vitamínica óptima de los animales para la producción de alimentos de calidad. In: **Nutrición Vitamínica Óptima en Ponedoras**, 2002, Barcelona, Espanha. Pulso Ediciones, 2002. 133-169
- BATIFOULIER, F., ET AL. Influence of vitamin E on lipid and protein oxidation induced by H₂O₂-activated MetMb in microsomal membranes from turkey muscle. **Meat Science**, v.61, 389-395, 2002
- BARBER, D. A.; HARRIS, S. R. Oxygen free radicals and antioxidants: A Review. **American Pharmacy**, v.34, n.9, p. 26-35, 1994.
- BARTOV, I.; FRIG, M. Effect of high concentrations 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**, v.33, p.393-402, 1992
- BERGAMAN, R. et al. The oxidation activity of aqueous spinach extract: Chemical identification of active fractions. **Phytochemistry**. v. 58, p. 143-152, 2001
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Journal of Biochemistry Physiology**, v.31, p.911-917, 1959.
- BRASIL. **Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilâncias Sanitária**. Portaria nº 1004, de 11 de dezembro de 1998, que aprova o Regulamento Técnico: "Atribuição de Função de Aditivos, Aditivos e seus Limites Máximos de uso para a Categoria 8 – Carne e Produtos Cárneos", constante do Anexo desta Portaria. Publicada no Diário Oficial da União em 14 de dezembro de 1998.

BOIAGO, M. M.. **Características produtivas e qualitativas da carne de frangos alimentados com diferentes concentrações e fontes de Selenio**. Dissertação (Mestre em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, 2006.

BRITO, J. A. G. D. et al. Uso de microminerais sob a forma de complexo orgânico em rações para frangas de reposição no período 7 a 12 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1342-1348, 2006

BUCKLEY, D. J.; MORRISEY, P. A.; GRAY, J. I. Influence of dietary vitamin E on oxidative stability and quality of pig meat. **Journal Animal Science**, v.73, p. 3122-3130, 1995

BYRNE, D. V. et al. Sensory and chemical investigations on the effect of oven cooking on warmed-over flavor development in chicken meat. **Meat science**. v.61, p. 127-139, 2002

CANTOR, A.H. The role of selenium in poultry nutrition. In: LYONS, T.P.; JACQUES, K.A. Biotechnology in the feed industry. 13 th Annual Symposium. Proceedings... Nottingham, UK: Nottingham University Press, 1997.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v.30, n.2, p. 441-449, 2007

CHAN, K. M.; DECKER, E. A. Endogenous skeletal muscle antioxidants. **Critical Reviews In Food Science and Nutrition**, v.34, n.4, p. 403-426, 1994

CHEN, J.; LINDMARK-MANSSON, H.; AKESSON, B. Optimisation of a coupled enzymatic assay of glutathione peroxidase activity in bovine milk and whey. **International Dairy Journal** ,v.10, p. 347-351, 2000

CHEN, Tao *et al.*. Phospholipase A2 and antioxidant enzyme activities in normal and PSE pork. **Meat Science**, v. 84, p. 143–146, 2010

CHIZOLINI, R.; NOVELLI, E.; ZANARDI, E. Oxidation in traditional mediterranean meat products. **Meat Science**. v. 49, n.1, p. 87-99, 1998

CHOCT, M., NAYLOR, J. The effect of dietary Se source and vitamin E levels on performance of male broilers. **Asian-Australian Journal of Poultry Science**, v. 17, n.7, p. 1000-1006, 2004.

CHOCT, M., NAYLOR, A. J., REINKE, N. Selenium supplementation affects broiler growth performance, meat yield and feather coverage. **British Poultry Science**, v. 45, n.5, p. 677-683, 2004

CICHOSKI, A.J. et al. Investigation of glutathione peroxidase activity in chicken meat under different experimental conditions. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.32, n.4, p.661-667, 2012.

COMBS, G.F. Influences of dietary vitamin E and selenium on the oxidant defense system of the chick. **Poultry Science**, v.60, p.2098-2105, 1981.

COMBS, Jr. G. F., REGENSTEIN, J. M. Influence of selenium, vitamin E and ethoxyquin on lipid peroxidation in muscle tissues from fowl during low temperature storage. **Poultry Science**, v. 59, p. 347-351, 1980.

COMINETTI, C. et al. Estresse oxidativo, selênio e nutrigenética. **Nutrire: Ver. Soc. Bras. Alim. Nutri.; J. Brazilian Soc. Food Nutr.** v.36, n.3, 131-153, 2011

CONEGLIAN, S.M. et al. Utilização de antioxidantes nas rações. **PUBVET**, Londrina, v. 5, n. 5, ed. 152, art. 1026, 2011.

CORTINAS, L. et al. Influence of the dietary polyunsaturation level on chicken meat quality: lipid oxidation. **Poultry Science**, v.84, n.1, p. 48-55, 2005

DE LYONS, M. S. Organic Selenium as a Supplement for Atlantic Salmon: effects on meat quality. In: **Biotechnology in the Fee Industry: Alltech's Annual Symposium**, 14, 1998. Nottingham University Press. Proceedings... p. 505 – 508.

DECKER, E. A.; CRUM, A. Inhibition of oxidative rancidity in salted ground pork by carnosine. **Journal of Food Science**. v.56, p.1179-1181, 1993.

DECKER, E.A.; XU, Z. Minimizing rancidity in Muscle foods. **Food Technology**. v. 52, n.10, p. 340-348, 1998.

DENNIS, E. A. **History, classification, structure and function of phospholipase A₂**. p. 1-10, 1997

ECOFINANÇAS, 2012. Notícias: Para USDA, Brasil inicia próxima década com 44% do comércio mundial de carne avícola. Disponível em : < ecofinancas.com/noticias>. Acesso em: 07/03/2012

EDENS, F. W. Sodium selenite versus selenium yeast in diets fed broilers: effects on performance, feathering, meat quality and yields. In: **12th Annual Symposium of Biotechnology in the Feed and Food Industries**, Kentucky, 1996.

EDENS, F. W. et al. Influence of selenium yeast (Sel-plex) on performance and carcass yield of broiler males grown in a cage environment. In: **Annual Symposium Alltech of Biotechnology in the Feed and Food Industries**, v.20, p. 31, 2004, Kentucky

ESTÉVEZ, Mario. Protein carbonyls in meat systems: A review. **Meat Science**, v.89, p. 259-279, 2011.

FÉLIX, A. P.; MAIORKA, A.; SORBARA, J. O. B. Níveis vitamínicos para frangos de corte. **Ciência Rural**, v.39, n.2, mar-abr, 2009.

FENNEMA, O. R.; PARKIN, K. L.; DAMODARAN, S.. **Química de alimentos**. Edição 4, editora Artemed, 2010

FERKET, P.R, et al. Vitamine E affects performance, immunity, and meat quality. **World Poultry**, v.11, n.2,p.10-15, 1995

FERRARI, C. K. B. Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. **Revista Nutrição**, Campinas, v.11, n.1,p.3-14, 1998

FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009. Dossiê Antioxidantes: Os antioxidantes. Disponível em: <www.revista-fi>. Acesso em: 20/03/2012

GALYEAN, M.L.; PERINO, L.J.; DUFF, G.C. Interaction of cattle health/immunity and nutrition. **Journal of Animal Science**, 77, 1120-1134, 1999.

GLOBO RURAL, 2010. Reportagem Brasil deve superar produção de frangos da China em 2011. Disponível em: <revistagloborural.globo.com>. Acesso em 08/07/2011

GRAY, J.I. Measurement of Lipid Oxidation: A Review. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v.55, p.539-546, 1978.

GUIDERA.J. et al. The effect of dietary vitamine E supplementation on the quality of fresh and frozen lamb meat. **Meat Science**, Barking, v.45, n.1, p.33-43, 1997

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease . **Annual Reviews Nutrition**. v.16, p.33-50, 1996.

HALLIWELL, B.; CHIRICO, S. Lipid peroxidation: its mechanisms, measurement, and significance. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.57, n.5, p.715-724, 1993

HESS,J. B.; DOWNS, K. M.; BILGILI, S.F. Selenium nutrition an poultry meat quality. **In: Nutritional Biotechnology in the Feed and food industries, Proceedines of Altech´s 19th international Symposium**, 2003, Norttingham University Press, Norttingham, United kingdom.

HIGGINS, F. M. et al. Assesment of alfa–tocopheryl acetate supplementation, addition of salt and packaging on the oxidative stability of raw turkey meat. **British Poultry Science**, v. 39, p. 596-600, 1998.

HOLOVSKA-JUNIOR, K. et al. Antioxidant enzyme activities in liver tissue of chickens fed diets supplemented with various forms and amounts of selenium. **Journal of Animal and Feed Science**, v.12, p.143-12, 2003.

HONIKEL, K. O. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. **Meat Science**,v. 49,n.4, p.447–457, 1998.

IGENE, J.O; PEARSON, A.M. Role of phospholids and triglycerides in warmed-over falvor development in meat model systems. **Journal of Food Science**, v44, n5, 1979

ISO - International Organization for Standardization. **Animal and vegetable fats and oils - preparation of methyl esters of fatty acids**. Method ISSO 5509, 1978

JENSEN, C.; LAURIDSEN, C.; BERTELSEN, G. Dietary vitamin E: quality and storage stability of pork and poultry. **Trends in Food Science e Technology**, v.9, p. 62-72, 1998.

JORDÃO, A. A. J. et al. Peroxidação lipídica e etanol: papel da glutathione reduzida e da vitamina E. **Medicina**, v.31, p.434-449, 1998

JUNIOR, Laércio Rover *et al.* Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutathione associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p.112-119, 2001.

KARADAS, F., SURAI, P. F. Interações entre Selênio e Vitamina E In: **Simpósio Brasileiro Alltech**, 2004, Curitiba. Anais... p. 57-73.

KOHRLE, J. et al. Selenium in biology: facts and medical perspectives. **Biol. Chem.** v.381, n.9-10, p. 849-864, 2000

KUBOTA, E.H.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Maturação da carne. Um processo enzimático. **Revista nacional da carne**, v.18, n.200, p.12-14, 1993.

LANARI, M. C. et al. Kinetics of pigments oxidation in beef from steers supplemented with vitamin E. **Journal of Food Science**, v.61, n.5, p. 884-889, 1996

LAWRENCE, T.J.L.; FOWLER, V.R.; TISSUES. In: Growth of farm animals. CAB INTERNATIONAL, Londres.1997, p.331, 1997

LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 19, p. 265-275, 1951.

LIU, Q.; LANARY, M. C.; SCHAEFER, D. M. A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, p. 3131-3140, 1995.

LIU, Q. et al. Color coordinates for assessment of dietary vitamin E effects on beef color stability **Journal of Animal Science**., Champaign, v.74, p.106-116, 1996

LIU, Z; XIONG, Y. L.; CHEN, J.. Protein oxidation enhances hydration but suppresses water-holding capacity in porcine longissimus muscle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.8, p. 10697-1734, 2010.

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 37, n. 3, 2001

MAKENNA, D. R. et al, Biochemical and physical factor affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscle. **Meat Science**, v.70, p.6655-682, 2005

- MAUGHAN, R. J. et al. Delayed onset muscle damage and lipid peroxidation in man after a downhill run. **Muscle and Nerve**. V.12, 1989
- McDOWELL, L.R. **Minerals in Animal and Human Nutrition**. New York: Academic Press, 1992.
- MCDONALD, P.; EDWARDS, R.A.; GREENHALGH, J.F.D. **Animal Nutrition**. New York : 5th Ed., *Longman Scientific & Technical*, 1995.
- MITSUMOTO, M. et al. Improvement of color and lipid stability in beef longissimus with dietary vitamin E and vitamin C dip treatment. **Journal Food Science**, Chicago, v.56, p.-1489-1492, 1991
- MITSUMOTO, M. et al. Dietary versus postmortem supplementation of vitamin E on pigment and lipid stability in ground beef. **Journal of Animal Science**, Champaign, p. 1812-1816, 1993
- MITSUMOTO, M. et al. Effect of week before slaughter on drip, colour and lipid stability during display in Japanese black steer beef. **Meat Science**, v.49, n.2, p. 165-174, 1998.
- MORRISSEY, P. A. et al. Lipid stability in meat and meat products. **Meat Science**, Barking, v. 49, suppl., p.73-86, 1998
- MORRISSEY, P.A. et al. Tissue content of alpha-tocopherol and oxidative stability of broilers receiving alpha-tocopheryl acetate supplement for various periods pre-slaughter. *British Poultry Science*, v. 38, p.84-88, 1997.
- MURAKAMI, M.; KUDO, I. Phospholipase A2. **Journal Biochemistry** ,v. 131, p. 285-292, 2002.
- O'GRANDY, M. N.; MONAHAN, F. J.; MOONEY, M. T. Oxymyoglobin oxidation and lipid oxidation in bovine muscle-mechanistic studie. **Journal of Food Science**, v.66, n.3, p. 386-392, 2001
- OLIVEIRA, F.C. **Aspectos da lesão tecidual local e da regeneração induzidas pelo BnSP-7, uma miotoxina isolada da peçonheta da serpente *Bothrops pauloensis*: Um estudo da liberação das citocinas pró-inflamatórias e da expressão metaloproteases de matriz**. 2008. Dissertação de Mestrado em Genética e Bioquímica. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG
- OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. **Carnes: No caminho da pesquisa**. 2 ed., Cocal do Sul, Sc: Editora imprimit, 2002, p.155
- OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M.; FUKUSHIMA. Carnes PSE em frangos. *Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes*, 2006, p.95-104
- OLIVO, R. et al. Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional properties. **Journal of Food Biochemistry**, v.25, n. 4, 271-283, 2001.

ORDOÑEZ, J. A. P. Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal. Porto Alegre: Artmed, 2005, 279 p.

OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E.; GONÇALVES, L. A. G. Teste de Tba Aplicado a Carnes e Derivados: Métodos Tradicionais, Modificados e Alternativos. **Quimica Nova**, v. 28, n. 4, p.655-663, 2005.

PAKER, L; WEBER, S.U.; RIMBACH, G. Molecular Aspects of alfa-Tocotrienol Antioxidant Action and Cell Signalling. **Journal of Nutrition**, v. 131p. 369-373, 2001.

PAPAS, A. M. Diet and antioxidant status. **Food and Chemical Toxicology**, v. 37, p.999-1007, 1999.

PEARSON, A. M. et al. Safety implications of oxidized ins muscle foods. **Food Technology** , Chicago, v.37, n.7, p.121-129, 1983.

PERIC L.et al. Effect of selenium sources on performance and meat characteristics of broiler chickens, **Journal Of Applied Poultry Research**, 18:403-409, 2009.

PIKUL J. Evaluation of tree modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 37, n.5, p1309-1313, 1989.

PIKUL, J. *et al.*. Relative role of phospholipids, triacylglycerols and cholesterol esters on malonaldehyde formation in fat extracted from chicken meat. **Journal Food Science**, v.49, p.704-708, 1984.

RAHARJO, S.; SOFOS, J.N. methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: A Review. **Meat Science**, v. 35, p. 145-169, 1993.

ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. – Viçosa, MG: UFV, DZO, 2011, 252p.

ROTTA, R. B. **Estudo da atividade enzimatica da glutationala peroxidase em carne de frango**. 2007. Dissertação de mestrado em Engenharia de Alimentos- Universidade Reginal Integrada do Alto Uruguai e Nações, Campu Erechim, Erechim –Rio grande do Sul.

RYU, Y. C. et al. Effects of different levels of dietary supplemental selenium on performance, lipid oxidation and color stability of broiler chicks. **Poultry Science**, v.84, p. 809 – 815, 2005.

SELANI, M. M. **Extrato de bagaço de uva como antioxidante natural em carne de frango processada sob congelamento**. 2010. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

SKRIVAN, M. et al. Dietary selenium increases vitamin E contents of egg yolk and chick meat. **British Poultry Science**, v.49, p. 482-486, 2008.

SCHAETER, D.M. et al. Supranutritional admistration of vitamins E and C improves oxidative stability of beef. **The Journal of Nutrition**, v.125, n.65, 1995

SHACTER, E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. **Drug Metabolism Reviews**, v.32, p. 307-326, 2000.

SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; FRANCO, E.O. Qualidade da carne de frango suplementado com dieta contend vitamina E. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS. 2., Campinas, 1997. Proceedings. Campinas, 1997. P.179

SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N. N.; FRANCO, B.D.C.M. **Atualidades em ciência e tecnologia de carnes**. Editora Varela, São Paulo, 2006. 236p.

SKRIVAN, M. et al. Effect of dietary selenium on lipid oxidation, selenium and vitamin E content in the meat of broiler chickens. **Journal of Animal Science**, v.53, p.306-311, 2008.

SOARES, Adriana Lourenço. **Ação de Ácido Fítico e Vitamina E na Oxidação Lipídica e Aroma de Requentado em Filés de Peito de Frango**. 1999. Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina –PR

SOARES, A.L.; LARA, J.A.F.; IDA, E.I.; GUARNIERI, P.D.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Variation in the colour of Brazilian broiler breast fillet. In: Proceedings 48th International Congress of Meat Science and Technology. Rome: 48th ICoMST, v. 48. p.540-541. 2002

SOARES, A., L.; IDA, E. I.; MIYAMOTO, S.; BLAZQUEZ, F. J. H.; OLIVO, R.; PINHEIRO, J.W.; SHIMOKOMAKI, M. Phospholipase A2 activity in poultry PSE, *Pale, Soft, Exudative*, **Journal of Food Biochemistry**, v. 27, n. 4, p. 309-319, 2003.

SOARES, A.L. et al. Lipid Oxidation and Fatty Acid Profile Related to Broiler Breast Meat Color Abnormalities. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v.52 n.6, p. 1513-1518, 2009

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista Nutrição**. v.15, p. 3-16, 2002.

SOUZA, V. L. F. **Influência das dietas suplementadas com vitamina E desde o crescimento e terminação do suíno até o presunto cozido no seu periodo de validade: índice zootécnico, estado oxidação, perfil de ácidos graxos, colesterol e óxido de colesterol**, 2001. Tese de Doutorado em Ciências de Alimentos Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR

SRIMONGKOL, C., ANGGANAPORN, K., KIJPARKKORN, S. Effect of selenium supplementation on performance, thyroid hormone levels, antioxidant enzyme and disaccharidase activities in broilers. In: **Annual Symposium Alltech of Biotechnology in the Feed and Food Industries**, 20, 2004, Kentucky. p.13.

STADTMAN, E. R., BERLETT, B. S. Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease. **Chemical Research Toxicology**, v. 10, n.5, p. 485-9,1997

SURAI, P.F.; NOBLE, R.C.; SPEAKE, B.K. Relationship between vitamin E content a susceptibility to lipid peroxidation in tissues of the newly hatched chick. **British Poultry Science**, 40: 406-410, 1999.

TARLADGIS, B. G.; PEARSON, A. M. ; DUGAN, L. R. Jr. Chemistry of the 2-thiobarbituric test for determination of oxidative rancidity in foods ii. Formation of the tba-malonaldehyde complex without acid-heat treatment. **Brazilian Archives of Biology and Technology**.,v.5, p. 602-604, 1964

TICHIVANGANA, J. Z., MORRISSEY, P. A. Metmyoglobin and inorganic metals as prooxidants in raw and cooked muscle systems. **Meat Science**. v.15, 1995

TROUT, R. G. Biochemistry of lipid and myoglobin oxidation in *post-mortem* muscle and processed meat product- effect on rancidity. **Brazilian Journal of Animal Science**., Special Issue, p-50-55, 2003

UBABEF, 2012. Relatório Annual 2012. Disponível em:<
<http://www.abef.com.br/ubabef/exibenoticiaubabef.php?notcodigo=3293>>. Acesso em 25/01/2013

VACA, C.E., WILHEM, J., HARMS-RINGDAHL, M. Interaction of lipid peroxidation products with DNA. **A Review. Mut. Res.**, v.195, p.137-149.1988

WANG Y.B., XU B.H. Effect of different selenium source (sodium selenite and selenium yeast) on broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, p.306–314, 2008

XIONG, Y. L. Protein oxidation and implications for muscle foods quality. IN E. A. Decker; C. Faustman; C. J. Lopoez-Bote (Eds), **Antioxidantes in muscle foods**, p. 85-111, 2000. New York: Wiley

YANG, A. et al. Warmed-over flavor and lipid stability of beef: effects of prior nutrition. **Food Chemical toxicology**. V.7, n.9, p.3309-3313, 2002

YOON, I.; WERNER, M.; BUTLER, J. M. Effect of source and concentration of selenium on growth performance and selenium retention in broiler chickens. **Poultry Science** v.86, p.727–730, 2007

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os Resultados e Discussão desta Dissertação foram redigidos na forma de artigo científico, o qual está apresentado a seguir.

6.1 ARTIGO CIENTÍFICO

Efeito da Suplementação de Selênio e Vitamina E na Ração e Qualidade de Filés de Frango

Effect of dietary supplementation selenium and vitamin E on breast meat fillet quality

Gleice Rocha dos Santos, Juliana Nunes de Almeida, Aniele Pissinati, Fernanda Jéssica Mendonça, Alexandre Oba, Massami Shimokomaki, Adriana Lourenço Soares

Efeito da Suplementação de Selênio e Vitamina E na Ração e Qualidade de Filés de Frango

Effect of dietary supplementation selenium and vitamin E on breast meat fillet quality

Gleice Rocha dos Santos, Juliana Nunes de Almeida, Aniele Pissinati, Fernanda Jéssica Mendonça, Alexandre Oba, Massami Shimokomaki, Adriana Lourenço Soares

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da suplementação da vitamina E e selênio na ração sobre a qualidade da carne de frango. Pintainhos de corte da linhagem *Hubbard* de 1 dia de idade (n=60) foram divididos em 4 tratamentos: C Controle (sem suplementação), SE Suplementação com 150 mg de vitamina E por kg de ração, SS suplementação com 0,5 mg de selênio por kg de ração e SSE suplementação com 0,5 mg de selênio e 150 mg de vitamina E por kg de ração. Após 42 dias as aves foram abatidas e os filés de peito (*Pectoralis major*) foram coletados e armazenados a 4°C (4 dias) e a -18°C (30 dias). Os filés foram avaliados quanto à oxidação lipídica e aroma de requentado (WOF- Warmed over flavor) pelo método de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), perda de água por cozimento (PPC), razão a*/b*, perfil de ácidos graxos, atividades das enzimas fosfolipase A₂ (PLA₂) e glutathiona peroxidase (GSH-Px), conteúdo de Selênio e Vitamina E. O teor de selênio foi 1,23 vezes maior para os filés dos tratamentos SS e SSE e a concentração de α-tocoferol foi 3,5 vezes maior para os filés dos tratamentos SE e SSE. A suplementação com vitamina E inibiu a oxidação lipídica, o desenvolvimento de WOF, alterações da cor e atividade da PLA₂ dependente de Ca²⁺, não alterando o perfil de ácidos graxos, atividade de GSH-Px e a perda de peso por cozimento dos filés. A suplementação com selênio não aumentou a atividade da GSH-Px e nem inibiu os processos oxidativos dos filés. A qualidade da carne de frango foi melhorada pela suplementação com 150mg de vitamina E por kg de ração e não foi observado efeito sinérgico entre a vitamina E e o selênio fornecidos pela dieta na prevenção de processos oxidativos dos filés.

Palavras-chave: oxidação lipídica. Perfil de ácidos graxos. Fosfolipase A₂. Glutathiona peroxidase

Abstract

The aim of the study was evaluated the effect of dietary supplementation of selenium and vitamin E on the breast meat fillet quality. Hubbard chicks with 1 day of age (n=60) were divided into four treatments: C-Control (without supplementation), SE-supplementation with 150 mg of vitamin E for kg of feed, SS- supplementation with 0.5 mg of selenium for kg of feed and SSE-supplementation with com 0.5 mg of selenium and 150 mg of vitamin E for kg of feed. After 42 days, the birds were slaughtered and fillets (*Pectoralis major*) were collected and stored at 4°C (4 days) and at -18°C (30 days). The fillets were analyzed for the lipid oxidation and Warmed over flavor (WOF) by Thiobarbituric-Acid-Reactive Substances (TBARS), cooking loss, a*/b* ration, fatty acid profile, phospholipase A₂ (PLA₂) and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities, selenium and vitamin E contents. The selenium content was 1.23 times higher (p≤0.05) for samples of SS and SSE treatments and α-tocopherol concentration was 3.5 times higher (p≤0.05) for samples of SE and SSE treatments. The vitamin E dietary supplementation inhibited lipid oxidation, WOF development, color changes and PLA₂- dependent Ca²⁺ activity, did not change fatty acid profile, GSH-Px activity and cooking loss of fillets. The selenium dietary supplementation did not increase the GSH-Px activity and neither inhibited the oxidative process of fillets. The poultry meat quality was improved by supplementation with 150mg of vitamin E for kg of feed and the synergistic effect was observed between vitamin E and selenium supplied by diet on prevention of oxidative process of fillet.

Key words: Lipid oxidation. Fatty acid profile. Phospholipase A₂. Glutathione peroxidase

INTRODUÇÃO

A oxidação lipídica é um dos principais mecanismos responsável pela perda da qualidade da carne. A composição química da carne de frango, rica em proteínas e ácidos graxos poliinsaturados, torna-a mais suscetível a processos oxidativos (PEARSON *et al*, 1983).

A oxidação lipídica é uma reação em cadeia que envolve a formação de radicais livres (COMINETTI *et al*, 2011), que conduzem a perda de nutrientes essenciais como os ácidos graxos linoleico (ômega 6) e linolênico (ômega 3) (YANG *et al.*, 2002; CONEGLIAN *et al.*, 2011), a formação de odores e aromas indesejáveis (OSAWA; FELÍCIO; GONÇALVES, 2005) e de compostos tóxicos como

malonaldeídos e óxidos de colesterol (PEARSON *et al*, 1983), diminuindo assim o tempo de vida útil da carne (LAWRENCE; FOWLER, 1997). Além disso, existe uma correlação entre a oxidação lipídica, a oxidação da mioglobina e das proteínas, alterando negativamente a cor das carnes e a funcionalidade das proteínas (TROUT, 2003).

A carne contém diversos pró-oxidantes e antioxidantes endógenos e seu potencial oxidativo é determinado pela relação entre pró e antioxidante (DECKER; XU, 1998). A fosfolipase A₂ (PLA₂) é uma enzima lipolítica que apresenta ação pró-oxidante, uma vez que atua nos glicerofosfolípidios das membranas liberando ácido araquidônico (MURAKAMI; KUDO, 2002; SOARES *et al.*, 2003; CHEN *et al.*, 2010). Como antioxidante endógeno tem-se a ação de enzimas, como a glutathiona peroxidase (GSH-Px), catalase e superóxido desmutase (CHEN *et al.*, 2010) e a vitamina E (α -tocoferol) (SOARES *et al.*, 2004). A GSH-Px é uma enzima selênio dependente que atua reduzindo os peróxidos lipídicos (COMINETTI *et al*, 2011). A vitamina E quando endógena apresenta potente efeito antioxidante nas membranas celulares inibindo a oxidação lipídica e alterações de cor (SCHAEFER *et al*, 1995 *apud* SOARES, 1999).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da suplementação de selênio e vitamina E na ração sobre qualidade em filés de frango.

MATERIAS E MÉTODOS

Animais e Tratamentos

Os pintinhos de corte machos da linhagem *Hubbard* (n= 500) de 1 dia de idade foram divididos em 4 tratamentos: C-Control (sem suplementação); SE (suplementação com 150 mg de vitamina E.kg⁻¹ de ração); SS (suplementação com 0,5 mg de selênio.kg⁻¹ de ração) e SSE (suplementação com 0,5 mg de selênio e 150 mg de vitamina E.kg⁻¹ de ração). As rações experimentais atenderam as exigências mínimas preconizadas por Rostagno *et al.* (2011), sendo suplementadas com vitamina E na forma de acetato α -tocoferol e o selênio na forma de selenito de sódio. Os frangos foram criados na Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina, onde receberam água e alimento *ad libitum* durante todo o período experimental de 42 dias. Após este período, foram abatidos 15 animais de cada

tratamento seguindo as práticas comerciais de insensibilização elétrica, sangria, escaldagem, depenagem, evisceração e *chiller*. A pesquisa foi avaliada e aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (registro processo 38013.2011.89).

Os filés de frango (*Pectoralis major*) foram armazenados a 4°C (4 dias) e a -18°C (30 dias) para análises de oxidação lipídica e aroma de requentado (WOF), pelo método de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), razão a^*/b^* e perda de água por cozimento (PPC). As análises de perfil de ácidos graxos, atividade da fosfolipase A₂, glutathiona peroxidase e determinação do teor de Selênio e Vitamina foram realizadas apenas em filés de frangos refrigerados (4 dias).

Medida de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico- TBARS

A oxidação lipídica foi determinada pelo método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) conforme procedimento descrito por Tarladgis; Pearson; Dugan (1964). Uma curva padrão utilizando solução de 1,1,3,3-tetraetoxipropano em água destilada, nas concentrações de 0,7 a 2,0 M foi preparada e a leitura realizada em espectrofotômetro a 530 nm. Os resultados foram expressos em mg de TBARS.kg⁻¹ de amostra. O método apresentou uma recuperação de 78%.

Aroma de Requentado (WOF)

O aroma de requentado foi determinado conforme descrito por Igene; Pearson (1979). As amostras foram cozidas, armazenadas a 4°C por 48 h, reaquecidas e a oxidação determinada pela análise de TBARS. Os resultados foram expressos em mg de TBARS.kg⁻¹ de amostra.

Determinação de Metamioglobina

A oxidação da metamioglobina foi medida através da determinação da cor pela razão a^*/b^* (OLIVO et al. 2001), sendo a^* (componente vermelho-verde) e b^* (componente amarelo-azul) do Sistema de cor CIELab. A medida de cor foi

realizada utilizando o colorímetro Minolta® CR400, com iluminante D65 e ângulo de visão de 10°.

Perda de Peso por Cozimento (PPC)

A PPC foi determinada de acordo com metodologia descrita por Honikel (1998). O resultado foi expresso em % de água perdida, considerando o peso inicial e final da amostra.

Determinação da Atividade da Fosfolipase A₂ (PLA₂)

A atividade da PLA₂ foi acompanhada pela hidrólise do arachidonoyl Thio-PC, que é detectada por DTNB (5,5-dithio-bis (2-Nitrobenzoic Acid), utilizando kit produzido pela Cayman Chemical Company. A atividade de PLA₂ foi expressa em 1U.mg⁻¹ de proteína, sendo 1 U definido como 1 μmol de arachidonoyl Thio-PC hidrolisado.min⁻¹ a 25 °C. A determinação de proteína foi realizada conforme metodologia descrita por Lowry *et al.* (1951). O extrato enzimático obtido conforme procedimento descrito por Chen *et al.* (2010).

Determinação de Glutathione Peroxidase (GSH-Px)

A atividade de GSH-Px foi determinada pela de oxidação do NADPH (Nicotinamida Adenina Dinucleotídio Fosfato) acompanhada pela diminuição da absorbância a 340 nm (CHEN; LINDMARK-MANSSON; AKESSON, 2000; MOREIRA *et al.*, 2001). Um branco foi utilizado sem adição de GSHPx. O extrato enzimático foi realizado conforme Moreira *et al.* (2001). A atividade de GSHPx foi expressa em 1U.g⁻¹ de amostra, sendo 1U definido como 1μmol de NADPH oxidado/min.

Perfil de Ácidos Graxos

A extração dos lipídios seguiu a metodologia de Bligh; Dyer (1959). A hidrólise e transesterificação dos ácidos graxos seguiu o método 5509 da ISO (1978). Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados utilizando cromatógrafo Shimadzu modelo 17A Gas Chromatograph, equipado com detector de

ionização de chama e coluna capilar (100m x 0,25 mm) com 0,25 μm de cianopropil polisiloxano CP SII 88. A identificação dos ácidos graxos foi baseada em padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma). A área dos picos foi determinada por integrador acoplado ao cromatógrafo gasoso. Os resultados foram expressos como percentagens relativas dos ácidos graxos identificados.

Determinação de Selênio na carne

A concentração de selênio na carne foi determinada por Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS, mod. Elan-DRC2, Perkin Elmer), após digestão nitroperclórica das amostras. O resultado foi expresso em mg de Se.kg⁻¹ de amostra em base seca.

Determinação da Vitamina E na carne

O conteúdo de vitamina E em filés de frango foi determinado por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (UPLC) (Waters, modelo Acquity), seguindo a metodologia descrita por Liu et al. (1996) e Olivo et al. (2001). Uma curva padrão foi preparada utilizando acetado de α -Tocoferol (Sigma) em isoctano, nas concentrações 3,1 a 77,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Os resultados foram expressos em μg de α -Tocoferol.g⁻¹ de amostra em base seca.

ANÁLISE E,STATÍSTICA

Os dados obtidos foram analisados utilizando o programa STATISTICA versão 7.0 *for Windows*. Foi aplicada análise de variância seguido pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação dos resultados obtidos entre os filés de frango dos tratamentos: C-Control (sem suplemento), SE (suplementação com 150 mg. kg⁻¹ de vitamina E), SS (suplementação com 0,5 mg. kg⁻¹ selênio), SSE (suplementado com 0,5 mg. kg⁻¹ de selênio e 150 mg.kg⁻¹ de vitamina E).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Tabela 1 apresenta a concentração de selênio e de α -tocoferol de filés de frango. O teor de selênio foi de 1,23 vezes ($p \leq 0,05$) maior para os filés dos tratamentos SS e SSE quando comparados com os tratamentos C e SE, demonstrando que a suplementação de selênio foi efetiva para maior deposição deste mineral na carne. Com relação à vitamina E, observa-se que os filés de frango dos tratamentos SE e SSE apresentaram concentração de α -tocoferol significativamente maior que os filés dos tratamentos C e SS (TABELA 1). Assim, a suplementação de vitamina E promoveu um aumento de 3,5 vezes ($p \leq 0,05$) na deposição de α -tocoferol na carne. Os filés de frango suplementados com selênio e vitamina E em conjunto (SSE) não apresentaram teor de α -tocoferol significativamente superior aos filés do tratamento SE, embora haja relatos de que o selênio aumenta a deposição de vitamina E na carne através atividade da GSH-Px poupando a ação antioxidante da vitamina E (SKRIVAN et al., 2008).

Os valores de oxidação lipídica, aroma de requentado, razão a^*/b^* e perda de peso por cozimento (PPC) dos filés de frango refrigerados e congelados para os 4 tratamentos estão dispostos na Tabela 2. Observa-se que a oxidação lipídica foi significativamente menor para os filés de frango refrigerados que receberam suplementação de vitamina E na ração (SE e SSE). Os filés de frango suplementados apenas com selênio (SS) não diferiram significativamente dos filés de frango sem suplementação (C) com relação à oxidação lipídica medida a 4°C. Estes resultados demonstraram que a vitamina E atuou como antioxidante inibindo em aproximadamente 68% a oxidação lipídica em carnes refrigeradas enquanto que o selênio não apresentou efeito antioxidante. A atuação de selênio como antioxidante está diretamente relacionado com a atividade da GSH-Px (COMINETTI et al, 2011), neste trabalho não foi observada diferença significativa na atividade desta enzima entre os tratamentos (TABELA 3), explicando o fato do selênio não ter prevenido a oxidação lipídica dos filés.

Nas amostras congeladas, apenas os filés de frango do tratamento SE apresentaram valores de oxidação lipídica significativamente menores comparadas com os demais tratamentos. Assim a vitamina E permaneceu atuando como antioxidante reduzindo em aproximadamente 30,6% a oxidação lipídica em relação

aos filés do tratamento controle (sem suplementação). Souza et al (2006) também observaram redução nos valores de TBARS em carnes de frangos de cortes suplementados com vitamina E (100, 150 e 200 mg.kg⁻¹ de ração). Higgins et al. (1998) e Mercier et al. (1998) obtiveram menor oxidação de lipídios, utilizando níveis de 300, 400 e 600 mg/kg de vitamina E, na dieta de perus. No entanto, Cortinas *et al.* (2005) concluíram que a suplementação com até 200 ppm de α -tocoferol previne até 88% da máxima oxidação lipídica.

Na avaliação da reação lipídica de carne cozida e reaquecida medida pelo aroma de requeimado (WOF), note-se que os filés de frango refrigerados do tratamento SS apresentaram maiores valores de oxidação lipídica (2,072 mg de TBARS.kg⁻¹ de amostra), seguido pelos filés dos tratamentos C (1,640 mg de TBARS.kg⁻¹ de amostra) (TABELA 2). Os filés de frango dos tratamentos com suplementação de vitamina E (SE e SSE) apresentaram valores de oxidação lipídica 0,300 e 0,362 mg de TBARS.kg⁻¹ de amostra, respectivamente significativamente menores. No aroma de requeimado (WOF) dos filés de frangos congelados, também os menores valores de oxidação foram obtidos para os tratamentos com suplementação de vitamina E (SE e SSE) de 0,428 e 0,318 mg de TBARS.kg⁻¹ de amostra, respectivamente. Estes resultados indicam que mesmo após o cozimento das carnes a vitamina E continuou atuando como antioxidante. Resultados semelhantes foram descritos por Soares et al (2004) que constataram que a suplementação da vitamina E na dieta de frangos inibiu 78,9% o desenvolvimento do WOF em filés.

Estudos sustentam que existe interdependência entre a oxidação lipídica e a oxidação da mioglobina (OLIVO e SIMOKOMAKI, 2002; TROUT, 2003; MACKENNA *et al.*, 2005). De acordo com Trout (2003) tanto a oxidação da mioglobina é catalisada pelos produtos da oxidação lipídica, quanto os radicais liberados pela mioglobina oxidada poderão contribuir para oxidação. A razão a*/b* é uma medida indireta da concentração de oxi e metamioglobina, quanto maior esta razão maior o teor de oximioglobina e quanto menor maior o teor de metamioglobina, pigmento oxidado (OLIVO et al., 2001). A razão a*/b* de filés refrigerados foi significativamente maior para os tratamentos SE e SSE (TABELA 2), indicando que nestes filés a mioglobina permaneceu na forma reduzida (oximioglobina), não sofrendo oxidação. Isto ocorreu devido à ação da vitamina E que foi efetiva na inibição da oxidação lipídica e da oxidação da mioglobina. Alguns

autores relataram que a vitamina E possui ação na manutenção da cor das carnes (LIU et al., 1995; GUIDERA et al., 1997; SHIMOKOMAKI; OLIVO; FRANCO, 1997; OLIVO e SHIMOKOMAKI, 2002).

A relação direta entre a oxidação lipídica e oxidação da mioglobina pode ser constatada através dos tratamentos C e SS, que foram os que apresentaram maiores valores de oxidação lipídica e menores razão a^*/b^* . A suplementação com selênio não foi eficiente na manutenção da cor, uma vez que a razão a^*/b^* destes filés (SS) foi significativamente menor que a razão a^*/b^* dos tratamentos C, SE, SSE. Isto é consequência do fato do selênio não ter inibido a oxidação lipídica. Nas amostras congeladas não foram observadas diferenças significativas na razão a^*/b^* entre os tratamentos, indicando que a vitamina E e o selênio não foram eficientes na estabilidade da cor.

A oxidação lipídica promove, em geral, o estresse oxidativo em proteínas, podendo provocar também a perda na capacidade de retenção de água, e assim, a suculência da carne (BATIFOULIER *et al.*, 2002). As proteínas quando oxidadas sofrem carbonilação das proteínas, que altera a distribuição das cargas elétricas e o ponto isoelétrico das proteínas, provocando o desbalanço entre as interações intermoleculares de proteína e proteína-água e consequente perda da capacidade de retenção de água (XIONG et al, 2000; LIU et al, 2010; ÉSTEVEZ, 2011). A perda de peso por cozimento (PPC) em filés de frango refrigerados não diferiu significativamente entre os tratamentos, indicando que a suplementação de vitamina E não foi eficiente na prevenção da oxidação proteica, embora tenha inibido a oxidação lipídica. No entanto, para amostras congeladas, observou-se uma redução significativa de perda de peso por cozimento nos filés do tratamento SSE, sugerindo um possível sinergismo entre a vitamina E e o selênio na inibição da oxidação proteica.

A atividade enzimática da GSH-Px não diferiu significativamente entre os tratamentos (TABELA 3), embora os filés de frango dos tratamentos SS e SSE tenham depositado em média 18,5% mais de selênio. Possivelmente, o selênio tenha sido utilizado para a síntese de outras selenoproteínas, uma vez que 30 selenoproteínas já foram relatadas e que a distribuição do selênio no corpo do animal é regulada por suas necessidades metabólicas (FINLEY, 2007). Outros autores também relataram não ter encontrado diferenças significativas para atividade da GSH-Px quando frangos foram suplementados com selênio orgânico

e/ou inorgânico (HOLOVSKA-JUNIOR et al., 2003; CICHOSKI et al., 2012; ALMEIDA et al., 2012).

A atividade da PLA₂ total de filés de frango não diferiu significativamente entre os quatros tratamentos (TABELA 3). No entanto, a atividade da PLA₂ dependente de Ca²⁺ foi significativamente maior para os filés do tratamento C (sem suplementação). A enzima PLA₂ dependente de Ca²⁺ está diretamente relacionada com a cascata de ativação da inflamação (EVANS et al., 2001). A PLA₂ tem sido considerada a iniciadora do desenvolvimento de carnes PSE (*Pale, Soft, Exudative*) em suínos (CHEAH; CHEAH, 1981) e em frangos (SOARES et al., 2003) e sua atividade é significativamente maior nestas carnes (CHEAH; CHEAH, 1981; SOARES et al., 2003; CHEN et al., 2010). A suplementação com vitamina E na dieta animal previne a formação de carnes PSE em suínos (CHEAH; CHEAH; KRAUSGRILLE, 1995), em perus (FERKET et al., 1995) e em frangos (OLIVO et al., 2001), devido a estabilização das membranas, promovida pela deposição de vitamina E (SOARES et al., 2003), inibindo assim a ação da PLA₂. Os resultados obtidos neste trabalho confirmam a atuação da vitamina E como agente inibidora da PLA₂ dependente de Ca²⁺ e conseqüentemente de processos inflamatórios.

O efeito da suplementação de selênio e vitamina E sobre o perfil de ácidos graxos de filés de frango refrigerados está apresentado na Tabela 4. A suplementação com vitamina E não alterou significativamente o perfil de ácidos graxos dos filés de frango. Resultados similares foram observados por outros autores que também não encontraram nenhuma variação na composição de ácidos graxos em filés e coxas de frango suplementados com α -tocoferol (LIN et al, 1989; CHERIAN; WOLFE; SIM, 1996; BOU et al, 2004). Os filés do tratamento SS apresentaram concentrações significativamente maiores do ácido graxo ácido cervônico (22:6 n3) quando comparados com os filés dos tratamentos C, SE, SSE. Haug et al. (2007) também relataram que a suplementação de selênio na dieta de frangos aumentou a concentração de ácidos graxos n-3 de cadeia longa (20:5 n3; 22:5n3 3 22:6n3) dos filés. Estes resultados estão de acordo com o relatado por Miettnem et al., 1983; Vunta et al., 2007, que constataram que o selênio apresenta efeito anti-inflamatório em mamíferos.

A suplementação de vitamina E na dieta de frangos inibiu a oxidação lipídica, o desenvolvimento de WOF, alterações da cor e atividade da PLA₂, não alterando o perfil de ácidos graxos, atividade de GSH-Px e a perda de peso por

cozimento dos filés. A suplementação com selênio na dieta de frangos não aumentou a atividade da GSH-Px e nem inibiu os processos oxidativos dos filés. Não houve um efeito sinérgico entre vitamina E e selênio fornecidos na dieta na prevenção de processos oxidativos na carne.

CONCLUSÃO

A suplementação com 150 mg de vitamina E.kg⁻¹ de ração melhorou a qualidade de carne e não houve sinergismo entre vitamina E e selênio na prevenção de processos oxidativos em filés de frango.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/CAPES/MEC pela bolsa de Mestrado.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J.N. de, et al. Suplementação de selênio quelatado na ração e qualidade da carne de frango. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, suplemento 2, p. 3117-3122, 2012.
- BATIFOULIER, F. et al. Influence of vitamin E on lipid and protein oxidation induced by H₂O₂-activated MetMb in microsomal membranes from turkey muscle. **Meat Science**, v.61, 389-395, 2002
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Journal of Biochemistry Physiology**, v.31, p.911-917, 1959
- BOU, R. et al. Effect of dietary fish oil, α -tocopherol acetate, and zinc supplementation on composition and consumer acceptability of chicken meat. **Poultry Science**, v. 83, p.282–292, 2004
- CICHOSKI, A.J. et al. Investigation of glutathione peroxidase activity in chicken meat under different experimental conditions. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.32, n.4, p.661-667, 2012.
- CHEAH, K. S.; CHEAH, A. M. Skeletal muscle mitochondrial phospholipase A2 and the interaction of mitochondrial and sarcoplasmic reticulum in porcine malignant hyperthermia. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.638, p.40–49, 1981
- CHEAH, K.S.; CHEAH, A.M.; KRAUSGRILLE, D.I. Effect of dietary supplementation of vitamin E on pig meat quality. **Meat Science**, v.39, p.255-264, 1995.
- CHEN, J.; LINDMARK-MANSSON, H.; AKESSON, B. Optimisation of a coupled enzymatic assay of glutathione peroxidase activity in bovine milk and whey. **International Dairy Journal**, v.10, p. 347-351, 2000
- CHEN, Tao *et al.*. Phospholipase A2 and antioxidant enzyme activities in normal and PSE pork. **Meat Science**, v. 84, p. 143–146, 2010
- CHERIAN, G.; WOLFE, F. W.; SIM, J.S. Dietary oils added tocopherols: Effects on egg or tissue tocopherols, fatty acids, and oxidative stability. **Poultry Science**, v.75, p.423–431, 1996.
- COMINETTI, C. et al. Estresse oxidativo, selênio e nutrigenética. **Nutrire: Ver. Soc. Bras. Alim. Nutri.; J. Brazilian Soc. Food Nutr.** v.36, n.3, 131-153, 2011
- CONEGLIAN, S.M. et al. Utilização de antioxidantes nas rações. **PUBVET**, Londrina, v. 5, n. 5, ed. 152, art. 1026, 2011.
- CORTINAS, L. et al. Influence of the dietary polyunsaturation level on chicken meat quality: lipid oxidation. **Poultry Science**, v.84, n.1, p. 48-55, 2005

DECKER, E.A.; XU, Z. Minimizing rancidity in Muscle foods. **Food Technology**. v. 52, n.10, p. 340-348, 1998.

ESTÉVEZ, Mario. Protein carbonyls in meat systems: A review. **Meat Science**, v.89, p. 259-279, 2011.

EVANS, J. H. et al. Intracellular calcium signals regulation cytosolic phospholipase A₂ translocation to internal membranes. *Journal Biol. Chem.* V. 276, n. 32, p. 30150-30160, 2001

FERKET, P.R, et al. Vitamine E affects performance, immunity, and meat quality. **World Poultry**, v.11, n.2,p.10-15, 1995

FINLEY, J. W. Increased intakes of selenium-enriched foods may benefit human health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.87, p.1620-1629, 2007.

GUIDERA. J. et al. The effect of dietary vitamine E supplematation on the quality of fresh and frozen lamb meat. **Meat Science**, Barking, v.45, n.1, p.33-43, 1997

HAUG, A.; et al. Effect of dietary selenium and ômega-3 fatty acids on muscle composition and quality in broilers. **Lipid in Health and Disease**, v.6, n.29, p.1-9, 2007.

HIGGINS, F. M. et al. Assesement of alfa-tocopheryl acetate supplementation, addition of salt and packaging on the oxidative stability of raw turkey meat. **British Poultry Science**, v. 39, p. 596-600, 1998.

HONIKEL, K. O. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. **Meat Science**,v. 49,n.4, p.447-457, 1998.

HOLOVSKA JUNIOR, K. et al. Antioxidant enzyme activities in liver tissue of chickens fed diets supplemented with various forms and amounts of selenium. **Journal of Animal and Feed Science**, v.12, p.143-12, 2003.

IGENE, J.O; PEARSON, A.M. Role of phospholids and triglycerides in warmed-over falvor development in meat model systems. **Journal of Food Science**, v44, n5, 1979

LAWRENCE, T.J.L.; FOWLER, V.R.; In: Growth of farm animals. CAB INTERNATIONAL, Londres.1997, p.331, 1997

LIN, C. F., et al. Effects of dietary oils and α -tocopherol supplementation on lipid composition and stability of broiler meat. **J Journal of Food Science**, v.54, p.457-1460, 1989

LIU, Q.; LANARY, M. C.; SCHAEFER, D. M. A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. **Journal of Animal Science**, Champaing, v.73, p. 3131-3140, 1995.

- LIU, Q. et al. Color coordinates for assessment of dietary vitamin E effects on beef color stability **Journal of Animal Science.**, Champaign, v.74, p.106-116, 1996
- LIU, Z; XIONG, Y. L.; CHEN, J.. Protein oxidation enhances hydration but suppresses water-holding capacity in porcine longissimus muscle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.8, p. 10697-1734, 2010.
- LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 19, p. 265-275, 1951.
- MAKENNA, D. R. et al, Biochemical and physical factor affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscle. **Meat Science**, v.70, p.6655-682, 2005
- MERCIER, Y, et al. Effect of dietary fat and vitamin E on color and stability on lipid protein oxidation in turkey meat during storage. **Meat Science**, v.48, p. 301-318, 1998.
- MIETTINEN, T. A.; et al. Serum selenium concentration related to myocardial infarction and fatty acid content of serum lipids. **British Medical Journal**, v.287, p.517-519, 1983.
- MOREIRA, J. et al. Efeito de fonte e níveis de selênio na atividade enzimática da glutatona peroxidase e no desempenho de frangos de corte. **Ciências agrotecnicas**, v.25, n.3, p.645-649, maio/jun., 2001
- MURAKAMI, M.; KUDO, I. Phospholipase A2. **Journal Biochemistry** ,v. 131, p. 285-292, 2002.
- OLIVO, R. et al. Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional properties. **Journal of Food Biochemistry**, v.25, n. 4, 271-283, 2001.
- OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. **Carnes: No caminho da pesquisa**. 2 ed., Cocal do Sul, Sc: Editora imprimit, 2002, p.155
- OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E.; GONÇALVES, L. A. G. Teste de TBA Aplicado a Carnes e Derivados: Métodos Tradicionais, Modificados e Alternativos. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p.655-663, 2005.
- PEARSON, A. M. et al. Safety implications of oxidized ins muscle foods. **Food Technology** , Chicago, v.37, n.7, p.121-129, 1983.
- ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. – Viçosa, MG: UFV, DZO, 2011, 252p.
- RYU, Y. C. et al. Effects of different levels of dietary supplemental selenium on performance, lipid oxidation and color stability of broiler chicks. **Poultry Science**, v.84, p. 809 – 815, 2005.
- SCHAETER, D.M. et al. Supranutritional admistration of vitamins E and C improves oxidative stability of beef. **The Journal of Nutrition**, v.125, n.65, 1995

SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; FRANCO, E.O. Qualidade da carne de frango suplementado com dieta contendo vitamina E. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS. 2., Campinas, 1997. Proceedings. Campinas, 1997. P.179

SKRIVAN, M. et al. Effect of dietary selenium on lipid oxidation, selenium and vitamin E content in the meat of broiler chickens. **Journal of Animal Science**, v.53, p.306-311, 2008.

SOARES, A., L. et al. Synergism between Dietary Vitamin E and Exogenous Phytic Acid in Prevention of Warmed-Over Flavour Development in Chicken Breast Meat, *Pectoralis major* M. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, n. 1, p. 57-62, 2004

SOARES, Adriana Lourenço. **Ação de Ácido Fítico e Vitamina E na Oxidação Lipídica e Aroma de Requentado em Filés de Peito de Frango**. 1999. Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina -PR

SOUZA, P. A. et al. Efeito da suplementação de vitamina E no desempenho e na qualidade da carne de frangos de corte. **Revista Portuguesa de Ciências Agrárias**, v. 101, p. 87-94, 2006.

TARLADGIS, B. G.; PEARSON, A. M. ; DUGAN, L. R. Jr. Chemistry of the 2-thiobarbituric test for determination of oxidative rancidity in foods ii. Formation of the tba-malonaldehyde complex without acid-heat treatment. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.5, p. 602-604, 1964

TROUT, R. G. Biochemistry of lipid and myoglobin oxidation in *post-mortem* muscle and processed meat product- effect on rancidity. **Brazilian Journal of Animal Science**, Special Issue, p-50-55, 2003

VUNTA, H.; et al. The Anti-inflammatory effects of selenium are mediated through 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂ in macrophages. **The Journal of Biological Chemistry**, v.282, n.25, p.17964-17973, 2007.

XIONG, Y. L. Protein oxidation and implications for muscle foods quality. IN E. A. Decker; C. Faustman; C. J. Lopez-Bote (Eds), **Antioxidantes in muscle foods**, p. 85-111, 2000. New York: Wiley

YANG, A. et al. Warmed-over flavor and lipid stability of beef: effects of prior nutrition. **Food Chemical toxicology**. V.7, n.9, p.3309-3313, 2002

TABELA 1: Concentração de α -Tocoferol e de Selênio em filés de frangos armazenados a 4 dias (4 °C) dos tratamentos C-Controle (sem suplemento), SE (suplementação com 150 mg de vitamina E.kg⁻¹ de ração), SS (suplementação com 0,5 mg de selênio.kg⁻¹ de ração), SSE (suplementado com 0,5 mg. de selênio e 150 mg. de vitamina E.kg⁻¹ de ração).

TRATAMENTOS	Vitamina E ($\mu\text{g } \alpha$ -Tocoferol.g ⁻¹ de amostra base seca)	Selênio (mg de Se. Kg ⁻¹ amostra base seca)
C	13,84 \pm 2,22 ^B	0,443 \pm 0,028 ^B
SE	44,47 \pm 8,20 ^A	0,449 \pm 0,003 ^B
SS	11,29 \pm 2,46 ^B	0,563 \pm 0,015 ^A
SSE	43,98 \pm 8,09 ^A	0,531 \pm 0,006 ^A

^{A-B} Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de *Tukey* a 5,0% de probabilidade ($p \leq 0,05$).

TABELA 2: Oxidação lipídica, aroma de requeijado (WOF), perda de peso por cozimento (PPC) e razão a*/b* de filés de frangos armazenados a 4 dias (4 °C) e 30 dias (-18°C) dos tratamentos C-Controle (sem suplemento), SE (suplementação com 150 mg de vitamina E.kg⁻¹ de ração), SS (suplementação com 0,5 mg de selênio.kg⁻¹ de ração), SSE (suplementado com 0,5 mg. de selênio e 150 mg. de vitamina E.kg⁻¹ de ração).

		TRATAMENTOS			
		C	SE	SS	SSE
Oxidação Lipídica (mg TBARS.kg ⁻¹ de amostra)	4 dias (4°C)	0,031 ± 0,013 ^A	0,005 ± 0,002 ^B	0,026 ± 0,012 ^A	0,013 ± 0,004 ^B
	30 dias (-18°C)	0,134 ± 0,035 ^A	0,093 ± 0,022 ^B	0,123 ± 0,032 ^{AB}	0,114 ± 0,046 ^{AB}
WOF (mg TBARS.kg ⁻¹ de amostra)	4 dias (4°C)	1,640 ± 0,53 ^B	0,300 ± 0,127 ^C	2,072 ± 0,520 ^A	0,362 ± 0,109 ^C
	30 dias (-18°C)	1,567 ± 0,646 ^A	0,428 ± 0,117 ^B	1,513 ± 0,474 ^A	0,318 ± 0,110 ^B
RAZÃO a*/b*	4 dias (4°C)	0,15 ± 0,06 ^{BC}	0,25 ± 0,08 ^A	0,09 ± 0,05 ^C	0,24 ± 0,11 ^{AB}
	30 dias (-18°C)	0,76 ± 0,18 ^A	0,60 ± 0,13 ^{AB}	0,74 ± 0,20 ^{AB}	0,72 ± 0,21 ^{AB}
PPC (%)	4 dias (4°C)	21,24 ± 3,45 ^A	19,73 ± 3,51 ^A	20,81 ± 1,99 ^A	22,32 ± 4,94 ^A
	30 dias (-18°C)	17,07 ± 2,09 ^A	16,97 ± 1,93 ^A	17,07 ± 1,66 ^A	14,45 ± 1,97 ^B

^{A-C} Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de *Tukey* a 5,0% de probabilidade ($p \leq 0,05$).

TABELA 3: Atividade enzimática de glutathiona peroxidase (GSH-Px) e de fosfolipase A₂ total e dependente de cálcio em filés de frangos armazenados a 4 dias (4 °C) e dos tratamentos C-Control (sem suplemento), SE (suplementação com 150 mg de vitamina E.kg⁻¹ de ração), SS (suplementação com 0,5 mg de selênio.kg⁻¹ de ração), SSE (suplementado com 0,5 mg. de selênio e 150 mg. de vitamina E.kg⁻¹ de ração).

TRATAMENTOS	GSH-Px (U.g ⁻¹ de amostra)	PLA ₂ total (UA.g ⁻¹ de proteína)	PLA ₂
			Dependente Ca ²⁺ (UA.g ⁻¹ de proteína)
C	0,493 ± 0,116 ^A	0,056 ± 0,025 ^A	0,054 ± 0,020 ^A
SE	0,449 ± 0,092 ^A	0,042 ± 0,005 ^A	0,031 ± 0,003 ^B
SS	0,448 ± 0,109 ^A	0,059 ± 0,019 ^A	0,028 ± 0,004 ^B
SSE	0,414 ± 0,139 ^A	0,045 ± 0,015 ^A	0,030 ± 0,007 ^B

^{A-B} Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de *Tukey* a 5,0% de probabilidade ($p \leq 0,05$).

TABELA 4: Perfil de ácidos graxos de filés de frangos armazenados 4 dias (4 °C) dos tratamentos C-Controle (sem suplemento), SE (suplementação com 150 mg de vitamina E.kg⁻¹ de ração), SS (suplementação com 0,5 mg de selênio.kg⁻¹ de ração), SSE (suplementado com 0,5 mg. de selênio e 150 mg. de vitamina E.kg⁻¹ de ração).

Ácidos Graxos	C	SE	SS	SSE
14:0	0,353 ±0,041 ^A	0,324 ±0,068 ^A	0,295 ±0,016 ^A	0,354 ±0,065 ^A
14:1	0,063 ±0,014 ^{AB}	0,065 ±0,013 ^A	0,041 ±0,012 ^B	0,047 ±0,009 ^{AB}
15:0	0,062 ±0,006 ^A	0,055 ±0,006 ^A	0,054 ±0,005 ^A	0,065 ±0,006 ^A
16:0	19,318 ±1,089 ^B	20,356 ±1,072 ^{AB}	21,124 ±0,706 ^A	19,983 ±0,766 ^{AB}
16:1n9	0,346 ±0,061 ^A	0,284 ±0,029 ^A	0,309 ±0,022 ^A	0,356 ±0,043 ^A
16:1n7	2,217 ±0,55 ^A	2,614 ±0,448 ^A	2,066 ±0,489 ^A	1,838 ±0,377 ^A
17:0	0,135 ±0,012 ^A	0,119 ±0,014 ^A	0,124 ±0,008 ^A	0,138 ±0,016 ^A
18:0	6,190 ±0,308 ^A	6,583 ±0,492 ^A	7,157 ±0,797 ^A	6,975 ±0,457 ^A
18:1n9	31,297 ±1,443 ^A	30,713 ±1,433 ^A	29,007 ±2,069 ^A	29,554 ±0,554 ^A
18:1n7	2,221 ±0,142 ^A	2,165 ±0,226 ^A	2,330 ±0,187 ^A	2,112 ±0,239 ^A
18:2n6	30,979 ±1,856 ^A	29,630 ±2,406 ^A	28,050 ±1,327 ^A	30,965 ±2,817 ^A
20:0	0,076 ±0,010 ^A	0,083 ±0,014 ^A	0,069 ±0,013 ^A	0,086 ±0,009 ^A
18:3n3	1,668 ±0,168 ^A	1,601 ±0,262 ^A	1,344 ±0,173 ^A	1,800 ±0,328 ^A
20:2	0,422 ±0,119 ^A	0,378 ±0,083 ^A	0,353 ±0,080 ^A	0,433 ±0,070 ^A
22:0	0,017±0,007 ^A	0,016 ±0,007 ^A	0,022 ±0,009 ^A	0,021 ±0,010 ^A
20:3n6	0,379 ±0,053 ^A	0,410 ±0,090 ^A	0,406 ±0,135 ^A	0,416 ±0,124 ^A
20:4n6	2,370 ±0,729 ^A	2,521 ±0,813 ^A	3,925 ±1,337 ^A	2,735 ±1,321 ^A
20:3n3	0,057 ±0,016 ^A	0,087 ±0,046 ^A	0,109 ±0,059 ^A	0,088 ±0,052 ^A
23:0	ND ^B	0,019 ± 0,003 ^A	0,022 ±0,004 ^A	0,020 ±0,002 ^A

22:2	0,080 ±0,020 ^{AB}	0,105 ±0,037 ^{AB}	0,137 ±0,049 ^A	0,052 ±0,028 ^B
22:4n6	0,876 ±0,305 ^A	0,893 ±0,313 ^A	1,053 ±0,360 ^A	1,062 ±0,259 ^A
22:1n9	0,199 ±0,075 ^A	0,197 ±0,055 ^A	0,324 ±0,104 ^A	0,301 ±0,114 ^A
22:5n6	0,368 ±0,132 ^A	0,407 ±0,132 ^A	0,600 ±0,161 ^A	0,333 ±0,153 ^A
22:6n3	0,310 ±0,116 ^B	0,303 ±0,098 ^B	0,673 ±0,238 ^A	0,271 ±0,185 ^B
AGS*	26,274 ±1,289 ^A	27,607 ±1,514 ^A	26,009 ±4,052 ^A	27,683 ±0,681 ^A
AGMI**	36,329 ±2,006 ^A	36,038 ±1,915 ^A	34,079 ±2,217 ^A	34,110 ±0,754 ^A
AGPI***	37,435 ±2,614 ^A	36,337 ±1,725 ^A	36,668 ±1,725 ^A	37,803 ±1,028 ^A
AGPI/AGMI	1,438 ±0,153 ^A	1,329 ±0,110 ^A	1,448 ±0,219 ^A	1,364 ±0,087 ^A
N6/N3	17,842 ±0,809 ^A	17,033 ±0,555 ^A	16,305 ±2.218 ^A	16,952 ±1,679 ^A

^{A-B} Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de *Tukey* a 5,0% de probabilidade ($p \leq 0,05$).

*AGS – Ácido Graxo Saturado;

**AGMI– Ácido Graxo Monoinsaturado;

***AGPI – Ácido Graxo Poliinsaturado.

ND- Não Detectado

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A suplementação de vitamina E na dieta de frangos inibiu a oxidação lipídica, o desenvolvimento de WOF, alterações da cor e atividade da PLA₂, não alterando o perfil de ácidos graxos, atividade de GSH-Px e a perda de peso por cozimento dos filés. A suplementação com selênio na dieta de frangos não aumentou a atividade da GSH-Px e nem inibiu os processos oxidativos dos filés. Não houve um efeito sinérgico entre vitamina E e selênio fornecidos na dieta na prevenção de processos oxidativos na carne.

ANEXO

Durante o desenvolvimento do Mestrado foram publicados os trabalhos:

Artigo Científico

SANTOS, G.R.; MARCHI, D.F.; ALMEIDA, J.N.; MENDONÇA, F.; SHIMOKOMAKI, M.; SOARES, A.L. Atividades de fosfolipase A₂ secretada e glutathione peroxidase em filés PSE (Pale, Soft, Exudative) de frango. **SEMINA: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, suplemento 2, p. 3111-3116, 2012

ALMEIDA, J. N.; SANTOS, G. R.; MEDEIROS, L. G.; OBA, A.; SHIMOKOMAKI, M.; SOARES, A. L. Suplementação de Selênio Quelatado na Ração e Qualidade da Carne de Frango. **SEMINA: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, suplemento 2, p. 3117-3122, 2012

DENIS, F. M.; SANTILLI, J. C.; SOARES, A. L.; SANTOS, G. R.; OBA, A.; SHIMOKOMAKI, M.; IDA, E. I. Atividades de creatina quinase e lactato desidrogenase na identificação de frangos com estresse e filés PSE (*pale, soft, exudative*). **SEMINA: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, suplemento 2, p. 3103-3110, 2012

Trabalhos Publicados em Anais de Eventos:

SANTOS, G. R. ; MARCHI, D.F.; ALMEIDA, J.N.; SHIMOKOMAKI, M.; SOARES, A.L. Glutathione peroxidase and secreted phospholipase A₂ enzymatic activities in PSE (Pale, Soft, Exudative) poultry meat. **In: 16th World Congress of Food Science and Technology, 2012**, Foz do Iguaçu. IUFOST. Foz do Iguaçu: IUFOST, 2012. v. 16.

ALMEIDA, J.N.; BETETO, F.M.; MEDEIROS, L.G.; OBA, A.; SHIMOKOMAKI, M.; SOARES, A.L. Effect of dietary supplementation of chelated selenium on the poultry meat quality. **In: 16th World Congress of Food Science and Technology, 2012**, Foz do Iguaçu. IUFOST. Foz do Iguaçu: IUFOST, 2012. v. 16.

DENIS, F. M.; ALMEIDA, G. R. S., BETETO, F. M., SOARES, A. L., BLAZQUEZ, F.; PEDRAO, M. R.; IDA, E. I.; SHIMOKOMAKI, M. Biochemical changes in PSE (Pale,

Soft, Exudative) broiler breast during ageing and meat qualities. **In: 16th World Congress of Food Science and Technology, 2012**, Foz do Iguaçu. IUFOST. Foz do Iguaçu: IUFOST, 2012. v. 16.

TABELA: Nomenclatura usual e UIQPA dos principais ácidos graxos e sua respectiva simbologia.

SIMBOLOGIA	NOMENCLATURA UIQPA	NOMENCLATURA USUAL
14:0	Ácido tetradecanoico	Ácido mirístico
14:1	Ácido-9- tetradecenoico	Á miristoléico
15:0	Ácido pentadecanoico	Ácido pentadecílico
16:0	Ácido hexadecanoico	Ácido palmítico
16:1n9		
16:1n7	Ácido 9-hexadecenoico	Ácido palmitoleico
17:0	Ácido heptadecanoico	Ácido margárico
18:0	Ácido octadecanoico	Ácido esteárico
18:1n9	Ácido 9-octadecenoico	Ácido oléico
18:1n7	Ácido 11-octadecenoico	Ácido cis-vaccênico
18:2n6	Ácido 9,12- octadecenoico	Ácido linoleico
20:0	Ácido eicosanoico	Ácido araquídico
18:3n3	Ácido 9,12,15- octadecatrienoico	Ácido α -linolênico (LNA)
20:2		
22:0	Ácido docosanoico	Ácido behênico
20:3n6	Ácido 8,11,14- eicosatrienoico	Ácido di-homo- γ - linolênico
20:4n6	Ácido 5,8,11,14- eicosatetraenoico	Ácido araquidônico
20:3n3	Ácido 11,14,17- eicosatrienoico	Ácido di-homo-(α)- linolênico
23:0	Ácido tricosanoico	-
22:2		
22:4n6	Ácido 7,10,13,16- docosatetraenoico	Ácido adrênico
22:1n9	Ácido 13-docosenoico	Ácido erúcico
22:5n6	Ácido- 4,7,10,13,16- docosapentaenóico	Ácido docosapentaenóico
22:6n3	Ácido 4,7,10,13,16,19- docosahexaenóico	Ácido cervônico (DHA)