

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

ESCUELA DE ZOOTECNIA

Efecto de la suplementación con selenio orgánico en el desempeño productivo de
gallinas ponedoras y su transferencia al huevo de mesa

Marisol Rodríguez Alfaro

Tesis presentada para optar por el título en el grado académico de Licenciatura en
Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia

CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO

2014

Esta tesis fue aceptada por la Comisión de Trabajos Finales de Graduación de la Escuela de Zootecnia de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia.



Ing. Jorge Sánchez González, M.Sc.

Director de Escuela



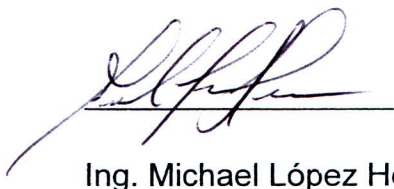
Inga. Catalina Salas Durán, Ph.D.

Directora de tesis



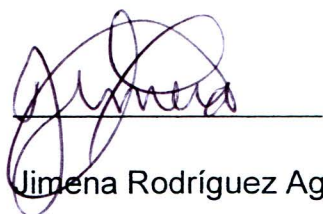
Ing. Ramiro Sosa Quirós, M.Sc.

Miembro del tribunal



Ing. Michael López Herrera, Lic.

Miembro del tribunal



Jimena Rodríguez Aguilar, Licda.

Miembro del tribunal



Bach. Marisol Rodríguez Alfaro

Sustentante

DEDICATORIA

A mis padres Linci Alfaro Madrigal y Sergio Rodríguez Concha por su gran ejemplo e inmenso apoyo.

Por ser mis compañeras en todo a mis hermanas Carolina y Fabiola Rodríguez Alfaro.

A Jeffry Sánchez Salas por hacerme sentir segura y apoyada todo el tiempo.

AGRADECIMIENTO

A Catalina Salas Durán y Carlos Orozco Vidaorreta, por darme una excelente oportunidad, y apoyarme, guiarme y acompañarme en este importante proceso.

A Ronald Arce, Guido Villalobos, Ricardo Arroyo, Gustavo Villegas, Freddy Armijo y todas las personas que forman parte del equipo de trabajo de Avicultores Unidos S.A. que me ayudaron en este ensayo.

A Oscar Calderón, Yeimy Briceño, Cinthya Baccaglio y Laura Navarro de Alltech.

A los miembros del tribunal examinador, Jorge Sánchez, Michael López, Ramiro Sosa y Jimena Rodríguez.

A Lorena Acuña, Orlando Morales, Roberto Montero y Rose de Faryvet.

A Agueda Serrano de la Escuela de Zootecnia de la Universidad de Costa Rica.

No tengo palabras para agradecerles a todos por su colaboración en este proyecto de investigación.

ÍNDICE

Contenido	Página
Portada	i
Hoja de aprobación	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimiento	iv
Índice	v
Índice de cuadros	vii
Índice de figuras	viii
Índice de anexos	ix
Resumen	x
Introducción	1
Revisión de literatura	3
Generalidades del selenio	3
Selenio en el ambiente	4
Formas de selenio	5
Selenoproteínas y sistema inmune	8
Transformación bioquímica del selenio	14
Importancia del selenio en humanos	15
El selenio en avicultura	19
Fortificación o enriquecimiento de alimentos con selenio	22

Objetivos	25
General	25
Específicos	25
Materiales y métodos	26
General	26
Ensayo 1	26
Ensayo 2	26
Manejo de los huevos	27
Valoración zootécnica	27
Muestreo de huevo	27
Muestreo de alimento balanceado	28
Protocolo de calidad de huevo	28
Descripción de los análisis de calidad	29
Descripción de los análisis de selenio	29
Análisis de datos	30
Resultados y discusión	31
Parámetros zootécnicos	31
Parámetros de calidad del huevo	36
Contenido de selenio en huevo	43
Conclusiones y recomendaciones	46
Literatura citada	48

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
1	Diferencias entre el selenio orgánico y el selenito	7
2	Las selenoproteínas y su localización dentro de las células	10
3	Consumo diario recomendado (CDR) y límite superior de selenio según edad y estado fisiológico	18
4	Mejorías por el efecto del uso del selenio orgánico en la avicultura según el tipo de producción	20
5	Semanas de edad de las aves en cada periodo, en cada ensayo y muestreo de huevo.	28
6	Efecto de la suplementación con selenio sobre el peso del huevo, la masa del huevo, las unidades Haugh, el color de la yema y el grosor de la cáscara, según el tratamiento y los días de almacenamiento en el ensayo 1.	39
7	Efecto de la suplementación con selenio sobre el peso del huevo, la masa del huevo, las unidades Haugh, el color de la yema y el grosor de la cáscara, según el tratamiento y los días de almacenamiento en el ensayo 2.	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Clasificación de las selenoproteínas de acuerdo con su función	12
2	Mecanismo de defensa antioxidante de la célula	13
3	Vías metabólicas del selenio de la dieta	15
4	Porcentaje de postura, huevos acumulados por gallina alojada y porcentaje de mortalidad de aves de los ensayos 1 y 2.	33
5	Consumo diario de alimento (g), peso de las aves (g), peso del huevo (g) y conversión alimenticia de las aves en los ensayos 1 y 2.	34
6	Consumo diario de alimento (g) de las aves y temperatura promedio (°C) del ensayo 1.	35
7	Consumo diario de alimento (g) de las aves y temperatura promedio (°C) del ensayo 2.	35
8	Temperatura (°C) y grosor de la cáscara (mm) según las semanas de edad de las aves del ensayo 1.	41
9	Efecto de los días de almacenamiento de los huevos sobre las unidades Haugh y el color de la yema en cada tratamiento en los ensayos 1 y 2.	42
10	Concentración de selenio en el alimento de las aves según el periodo en ambos ensayos.	44
11	Concentración de selenio en el huevo según los periodos en ambos ensayos.	45

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo	Título	Página
1	Protocolo de análisis de calidad del huevo	66

RESUMEN

Se realizó una investigación en gallinas ponedoras para determinar el efecto de la suplementación con selenio orgánico en los parámetros zootécnicos de las aves, en la calidad del huevo y en la concentración de este mineral en el huevo. Se evaluaron dos lotes de gallinas ponedoras de la línea genética Isa Brown, con edades entre 32 y 52 semanas, durante 13 semanas: cuatro semanas de periodo control, seis semanas de suplementación con 0,4 ppm de selenio orgánico, a partir de Sel-Plex 2000; y tres semanas de efecto residual. Se observaron los parámetros zootécnicos de los lotes: porcentaje de postura, huevos acumulados por ave alojada, porcentaje de mortalidad, consumo de alimento, peso de huevo, conversión alimenticia y peso de las aves. Para determinar los parámetros de calidad del huevo (unidades Haugh, grosor de la cáscara, color de la yema, masa de huevo y peso de huevo), se analizaron muestras semanalmente; en fresco y luego de ser almacenadas a temperatura ambiente. La concentración de selenio en huevo se midió durante todo el estudio, para evaluar su nivel antes, durante y después de la suplementación. Los resultados de los parámetros zootécnicos observados no presentaron ninguna variación aparente debido a adición del selenio orgánico. En cuanto a la calidad del huevo en ambos ensayos no se vio efecto del selenio en ningún parámetro con excepción del color de la yema que se mejoró en el ensayo 1. El almacenamiento del huevo afectó significativamente ($p < 0,05$) las unidades Haugh y el color de la yema en ambos ensayos, además en el ensayo 1 también afectó el peso y la masa del huevo. La suplementación con selenio orgánico en la dieta de las gallinas ponedoras provocó un aumento en el contenido de selenio de los huevos, que varió de no ser detectado en el laboratorio (10,5 ug/L) a 0,14 ug/g en el primer ensayo y 0,39 ug/g en el segundo ensayo. A pesar de no observar ninguna mejora en el desempeño productivo de las aves ni en la calidad del huevo (a excepción del color de la yema en el ensayo 1), la suplementación de gallinas ponedoras con selenio orgánico puede llevar a producir huevos con un mayor contenido de selenio que representen una fuente de este mineral para la población.

INTRODUCCIÓN

El selenio es un mineral traza esencial para la salud humana y animal, forma parte de las selenoproteínas y tiene una función como antioxidante, protegiendo al organismo de las enfermedades cardiovasculares, el cáncer y ayuda a disminuir el proceso de envejecimiento celular (Ministerio de Salud 2012).

En los años 2008 y 2009 el Ministerio de Salud de Costa Rica realizó por primera vez la evaluación de los niveles séricos de selenio en la población adulta, por medio de La Encuesta Nacional de Nutrición, la cual evidenció que el nivel promedio de selenio en sangre es de 69,6 µg/l, que se encuentra por encima del nivel que indica una deficiencia de este mineral (<60 µg/l), y que se asemeja a los datos encontrados en otros países Latinoamericanos y de Europa. Además, este estudio demostró una deficiencia de selenio en el 35% de las personas adultas; con 42% en mujeres en edad fértil, 31,7% en mujeres adultas y 29,0% en hombres adultos. Por lo tanto, entre las recomendaciones de esta encuesta se sugiere promover la fortificación de alimentos con selenio, que sean de alto consumo para el grupo deficiente de la población (Ministerio de Salud 2010 y 2012).

La fortificación de alimentos, medida que consiste en incorporar uno o más nutrientes a los alimentos, ha sido muy utilizada para solucionar las deficiencias de micronutrientes en la población debido a que se considera de gran cobertura, bajo costo y alta efectividad (CIGA 2007).

Para este fin, se busca fortificar alimentos que sean accesibles para toda la población y de alto consumo. El huevo es un excelente alimento para fortificar; ya que además de cumplir con estas características es un producto muy versátil y de alto valor nutricional; es fuente de proteínas de alto valor biológico, grasas insaturadas, vitaminas A, E, D y otras del complejo B; y minerales como hierro, calcio, fósforo, magnesio y potasio (CANAVI 2006).

De acuerdo con varios estudios, el selenio orgánico suplementado en la dieta de gallinas ponedoras produce no sólo un aumento en el contenido de selenio en el huevo, sino que también mejora la producción de huevos, el peso del huevo, la conversión alimenticia y la calidad de huevo (Egorov et al. 2007, Liem 2007). En cuanto a la calidad del huevo se ha visto que la adición de selenio produce mejoras en el grosor de la cáscara, la gravedad específica, el peso de la cáscara, la fuerza de rotura, las unidades Haugh y el color de la yema (Hooge 2007).

La suplementación de gallinas ponedoras con selenio orgánico en la dieta hace que sea posible generar un producto diferenciado como lo es el huevo enriquecido con selenio. El producto se puede colocar en el mercado a un precio diferenciado para el productor y aún accesible para el consumidor. Este último adquiere el huevo como un alimento funcional, es decir, que no solo es una excelente fuente de nutrientes sino que además ayuda a mejorar la salud (Fisinin et al. 2008).

En el 2012, Unimer realizó una encuesta en Costa Rica, en donde de un total de 600 personas, el 56% (340) consideraron que es muy importante observar el contenido nutricional de los alimentos que compran y el 62% indicó que generalmente come saludablemente. Además, 189 personas (31,5%) casi siempre o siempre compran suplementos alimenticios (mencionado por Arce 2012). Por otro lado, según un estudio realizado por Arce (2012), la población está demandando productos más saludables, demanda que está creciendo en el país.

Por lo mencionado anteriormente, el huevo enriquecido con selenio orgánico representa un producto que puede mostrar una alta aceptación en un mercado que no solo requiere aumentar el consumo de este mineral para disminuir la deficiencia en la dieta, sino que cada vez está buscando más formas de consumir alimentos que sean altamente nutritivos, y que tengan un beneficio adicional para la salud.

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades del selenio

El selenio es un elemento de la tabla periódica que posee el número atómico 34, se encuentra en el Grupo VI A y se clasifica como un metaloide, por lo que posee propiedades tanto de metal como de no metal. Su masa atómica es 78,96 y se presenta en cuatro formas: seleniuro (-2), selenio elemental (0), selenito (+4) y selenato (+6) (Payne 2004).

Jons Jakob Berzelius, un químico sueco, fue quien descubrió el selenio en el año 1817. Sin embargo, hasta 140 años más tarde, en 1957 fue que se reveló su esencialidad nutricional como mineral; cuando Schwarz y Foltz identificaron el selenio como uno de los tres compuestos que impedían la necrosis hepática en ratas. De la misma forma, se ha indicado que el selenio es fundamental para el adecuado funcionamiento de la enzima glutatión peroxidada (Rotruck *et al.* 1973, Sager 1993, Dvorska y Surai 2006).

El selenio entonces es un mineral esencial, y de acuerdo con el Codex Alimentarius (1987), por nutriente esencial se entiende toda sustancia normalmente consumida como constituyente de un alimento necesario para el crecimiento, desarrollo y el mantenimiento de una vida sana y que no puede ser sintetizada en cantidades suficientes por el cuerpo.

El selenio además es un elemento traza o microelemento, por lo que, a pesar de que se encuentra en los organismos en concentraciones menores a 1000 mg/kg, presenta una gran importancia biológica. Debido a su relevancia, cuando se da una carencia de algún elemento traza en plantas, animales o humanos se presenta la incidencia de enfermedades o desórdenes que disminuyen su crecimiento o su viabilidad (Benavides *et al.* 2010).

Selenio en el ambiente

Los suelos son la principal fuente de selenio para las plantas, y estas a su vez para los animales; y las plantas y los alimentos de origen animal son los que le proveen selenio al ser humano. Sin embargo, la cantidad de selenio en la dieta, tanto de animales como de humanos, depende principalmente del contenido de éste en el suelo donde se planten los cultivos, el cual es muy variable entre distintas áreas aunque se trate del mismo cultivo (Lyons *et al.* 2007, Fairweather-Tait *et al.* 2010).

Sin embargo, la disponibilidad del selenio en los suelos se puede ver comprometida al llevar a cabo ciertas prácticas agrícolas, como la acidificación y la poca aireación del suelo (Surai *et al.* 2003a, Lyons *et al.* 2007). Además, Pickering *et al.* (2000), añaden que otros factores que la afectan son: el potencial de oxidación-reducción, la composición mineral del suelo, la tasa de fertilización artificial y las precipitaciones.

Asimismo, el uso de fertilizantes artificiales que tienen un alto contenido de azufre en sus fórmulas puede afectar la disponibilidad del selenio en los suelos, ya que un alto contenido de azufre en el suelo provoca una disminución en la absorción del selenio. Esto se le atribuye al hecho de que ambos minerales son absorbidos en las plantas por medio de la vía de asimilación del azufre, debido a que poseen similitudes químicas que hacen que sea muy difícil distinguir entre uno u otro; como similares longitudes de los enlaces iónicos y covalentes, y similar electronegatividad (Arthur *et al.* 1992, Terry *et al.* 2000, Payne 2004).

Los suelos con un alto contenido de selenio están asociados con rocas sedimentarias, areniscas, calizas y suelos con carbón. Asimismo, el selenio se incorpora a los suelos a través de la deposición atmosférica, derivada de la actividad volcánica, la erosión de las rocas, los aerosoles marinos y la volatilización ocasionada de los desechos orgánicos (Fordyce 2005b, Broadley *et al.* 2006, Johnson *et al.* 2010).

Por otro lado, los aportes de selenio a los suelos que resultan de las actividades del ser humano provienen de la combustión de combustibles fósiles, el procesamiento de metales, las aplicaciones de fertilizantes, cal y estiércol, y la eliminación de lodos y aguas residuales (Fordyce 2005b, Broadley *et al.* 2006, Johnson *et al.* 2010). Y, de acuerdo con Haygarth *et al.* (1993), estos flujos de selenio hacia los suelos son mayores que los de todas las fuentes naturales en conjunto. Efecto que se puede ver en experimentos agrícolas a largo plazo, donde las prácticas de combustión de combustibles fósiles se correlacionan con la deposición de selenio en los cultivos y los suelos.

A nivel mundial, la concentración de selenio en el suelo se encuentra entre 0,01 mg/kg y 2,0 mg/kg, con un promedio de 0,4 mg/kg. Sin embargo, en ciertos lugares de Estados Unidos, Canadá, Suramérica, China y Rusia la concentración de selenio en el suelo puede ser mayor a 1200 mg/kg, debido a que los suelos derivan de materiales seleníferos (Fordyce 2005a, Johnson *et al.* 2010).

El selenio se puede encontrar en el suelo en varias formas, como selenato y selenito o en su forma orgánica, esta última proviene en su mayoría del proceso de descomposición de las plantas que acumulan selenio. En cuanto al selenito y al selenato son comunes en la mayoría de los suelos, y son altamente solubles, móviles, bio-disponibles y potencialmente tóxicos (Martens y Suárez 1996, Barceloux 1999).

Formas de selenio

En la naturaleza el selenio se puede encontrar en dos formas químicas: orgánica e inorgánica. A su vez, el selenio inorgánico existe como selenito, selenato, seleniuro y como óxido de selenio. Por otro lado, el selenio orgánico es el que está presente en diversos ingredientes alimenticios para animales y humanos, como forrajes, granos y harinas de oleaginosas, siendo la seleniometionina su principal forma, debido a que se metaboliza en el cuerpo como un aminoácido, al igual que la metionina (Dvorska y Surai 2006, Lyons *et al.* 2007).

En el Cuadro 1 se resumen las diferencias entre el selenio orgánico y el selenito (inorgánico). Entre estas, la principal ventaja del selenio orgánico es la retención en el cuerpo por medio de reservas; las cuales son indispensables en condiciones de estrés, ya que el requerimiento de selenio aumenta (Schrauzer 2000). Este tipo de selenio se puede acumular en tejidos como el hígado y el músculo (Lyons *et al.* 2007).

Como señala Payne (2004), el selenio inorgánico se absorbe en el tracto gastrointestinal a una tasa más baja que el orgánico, por lo que se da una mayor excreción del primero en las heces. Luego de la absorción, aproximadamente el 90% del selenio inorgánico en plasma se transfiere al hígado. Después del hígado, una parte regresa al tracto gastrointestinal a través de la bilis, mientras el resto se desplaza al plasma. De éste, prácticamente todo el selenio inorgánico se mueve a tejidos de rápida rotación donde se recicla más del 70%. El restante selenio inorgánico en los tejidos fluye al plasma, donde una pequeña cantidad de éste es devuelto al hígado y el resto es excretado vía orina.

En cuanto al selenio orgánico, más del 95% de éste se absorbe en el tracto gastrointestinal, y una vez absorbido, el hígado metaboliza más del 50% inmediatamente, mientras que el restante fluye a través de un pool de plasma antes de llegar al hígado. De la misma forma que el selenio inorgánico, una parte del selenio orgánico se recicla a través del tracto gastrointestinal vía bilis. Luego de estar en el hígado, el selenio orgánico entra en el plasma donde la mitad del selenio va a tejidos de rápida rotación y la otra mitad del selenio va a tejidos de lenta rotación, como el músculo. El selenio orgánico de ambos tipos de tejidos luego entrará al plasma donde casi todo se recicla de vuelta al hígado, mientras que la mayoría del selenio inorgánico se excreta vía orina (Payne 2004).

Cuadro 1. Diferencias entre el selenio orgánico y el selenio inorgánico.

Característica	Selenio orgánico	Selenio inorgánico
Absorción	Similar a la metionina por transporte activo en el intestino	Similar a los otros minerales por transporte pasivo en el intestino
Acumulación	Reservas de selenio en las proteínas	No se acumula en el cuerpo
Toxicidad	Al menos 3 veces menor que el selenito	Altamente tóxico, puede penetrar por la piel causando problemas
Biodisponibilidad	Alta biodisponibilidad en comparación con el selenito	Muy baja biodisponibilidad en los rumiantes
Actividad antioxidante	Alta, y puede recoger óxido nítrico (NO) y otros radicales	Pro-oxidante y puede estimular la producción de radicales libres
Efecto en el ADN	Reparación de enzimas	Puede dañar el ADN
Transferencia a productos (huevos, carne y leche)	Alta transferencia	Pobre
Transferencia vía placenta	Buena	Pobre
Reacciones con otros elementos	Neutral	Muy reactivo
Protección ante el estrés	Protección adicional debido a las reservas	No
Efecto en la pérdida por goteo	No la afecta	La aumenta
Cuestiones ambientales	Alta retención en tejidos, baja pérdida en orina y heces	Baja retención en tejidos, alta pérdida en orina y heces
Estabilidad durante el almacenamiento y procesamiento de alimentos	Estable	Estable
Clasificación según su modo de acción	Aditivo	Droga

Fuente: (Adaptado de Surai 2006a)

La asimilación, distribución y acumulación del selenio en el cuerpo depende de la fuente de selenio. El selenio orgánico se metaboliza de igual forma que los aminoácidos, mientras que el selenito no. Además, la selenometionina posee propiedades antioxidantes por sí misma, lo que puede beneficiar la absorción. Por el contrario, el selenito es prooxidante y en combinación con hierro y zinc puede estimular la peroxidación de lípidos y causar daño en los enterocitos y como resultado disminuir la eficiencia de la absorción de varios nutrientes, incluyendo antioxidantes. Además, la forma natural de selenio, selenometionina, contribuye a crear reservas de selenio en los tejidos dando la posibilidad de respuesta por parte de los animales a situaciones de estrés al sintetizar selenoproteínas adicionales (Lyons *et al.* 2007).

Lo anterior se debe a que, según Dvorska y Surai (2006), en condiciones de estrés, el catabolismo de la proteína del músculo puede liberar selenometionina que puede servir como una fuente de selenio para las selenoproteínas recién sintetizadas como la glutatión peroxidasa, tioredoxina reductasa y metionina sulfóxido reductasa; las cuales pueden ocuparse de la sobreproducción de radicales libres y prevenir una caída en el desempeño productivo y reproductivo de los animales de producción.

Asimismo, Rayman (2004) afirma que los animales suplementados con selenio orgánico pueden mantener una mayor actividad de las selenoenzimas durante una merma de selenio por largos periodos que aquellos que se suplementan con selenio inorgánico debido al reciclaje de selenometionina a partir del catabolismo de las reservas de las proteínas.

Selenoproteínas y el sistema inmune

El selenio es un componente esencial de al menos 25 selenoproteínas que tienen una función antioxidante, y las cuales se clasifican en tres tipos: las que incorporan el selenio, principalmente como metionina; las proteínas que ligan el selenio; y las enzimas que incorporan selenocisteína en su sitio activo (Reilly 2006, Dvorska y Surai 2006, Lyons *et al.* 2007).

Cabe agregar que las más importantes son la glutatión peroxidasa, la tiorredoxina reductasa, la yodotironina deiodinasa que activa o inactiva la hormona tiroidea; y la selenofosfata sintetasa que ayuda en la síntesis de selenocisteína (Reilly 2006, Dvorska y Surai 2006, Lyons *et al.* 2007). Una lista de selenoproteínas se muestra en el Cuadro 2, junto con su localización dentro de las células.

Cuadro 2. Selenoproteínas y su localización dentro de las células

Selenoproteínas	Localización dentro de la célula
Deiodinasa 1 (DIO1)	Membrana plasmática
Deiodinasa 2 (DIO2)	Membrana del retículo endoplasmático
Deiodinasa 3 (DIO3)	Membrana plasmática
Glutación peroxidasa 1 (GPx1)	Citosol, mitocondria
Glutación peroxidasa 2 (GPx2)	Citosol
Glutación peroxidasa 3 (GPx3)	Secretada
Glutación peroxidasa 4 (GPx4)	Citosol, mitocondria, núcleo
Glutación peroxidasa 6 (GPx6)	Desconocida
Metionina sulfóxido reductasa (MsrB1)	Citosol, núcleo
Selenoproteína H (Sel H)	Núcleo
Selenoproteína I (Sel I)	Desconocida
Selenoproteína K (Sel K)	Membrana plasmática y del retículo endoplasmático
Selenoproteína M (Sel M)	Lumen del retículo endoplasmático
Selenoproteína N (Sel N)	Membrana del retículo endoplasmático
Selenoproteína O (Sel O)	Desconocida
Selenoproteína P (Sel P)	Secretada
Selenoproteína S (Sel S)	Membrana plasmática y del retículo endoplasmático
Selenoproteína T (Sel T)	Membrana del retículo endoplasmático
Selenoproteína V (Sel V)	Desconocida
Selenoproteína W (Sel W)	Citosol
Selenoproteína 15-kDa (Sep15)	Lumen del retículo endoplasmático
Selenofosfato sintetasa 2 (SPS2)	Citosol
Tiorredoxina reductasa 1 (TR1)	Citosol, núcleo
Tiorredoxina reductasa 2 (TR2)	Citosol
Tiorredoxina reductasa 3 (TR3)	Mitocondria

Fuente: Adaptado de Shchedrina *et al.* 2010.

De acuerdo con Cañari (2011), las funciones de las selenoproteínas más importantes son:

- Las glutatión peroxidadas son enzimas antioxidantes y de regulación redox que tienen como principal función la catalización de la reducción del peróxido de hidrógeno. Existen cinco de estas selenoproteínas: GPx1, GPx2, GPx3, GPx4 y GPx6; las cuales difieren en la distribución en los tejidos y la especificidad del sustrato para la degradación del peróxido.

- Las deiodinasas (DIO) se encargan del metabolismo de la hormona tiroidea tiroxina, que es de vital importancia para el crecimiento de huesos y la maduración de las neuronas. Existen tres deiodinasas (DIO1, DIO2 y DIO3) que activan o inactivan las hormonas tiroideas por desiodinación reductiva.

- Las tiorredoxina reductasas (TRs) actúan como proteínas antioxidantes de macromoléculas y moléculas pequeñas y como intermediarios redox en la transferencia electrónica del NADPH a diversos sustratos. También mantienen un pool estable de tiorredoxina, y reducen los selenatos y selenitos para obtener precursores de selenoproteínas. Son tres: TR1, TR2 y TR3. La primera se encarga de mantener la tiorredoxina en estado reducido. La TR2 cataliza reacciones mediadas por glutatión y tiorredoxina. Y la tercera tiene como función la reducción de la tiorredoxina mitocondrial y la glutarredoxina.

- La selenoproteína P (Sel P), que se encuentra en el plasma, se sintetiza en el hígado y es la encargada de transportar el selenio a otros órganos y tejidos.

- La metionina sulfóxido reductasa 1 (MsrB1) acelera la reducción estereoespecífica de residuos de metionina en las proteínas.

La Figura 1 indica la clasificación de cada una de las 25 selenoproteínas presentes en los mamíferos según su función primordial.

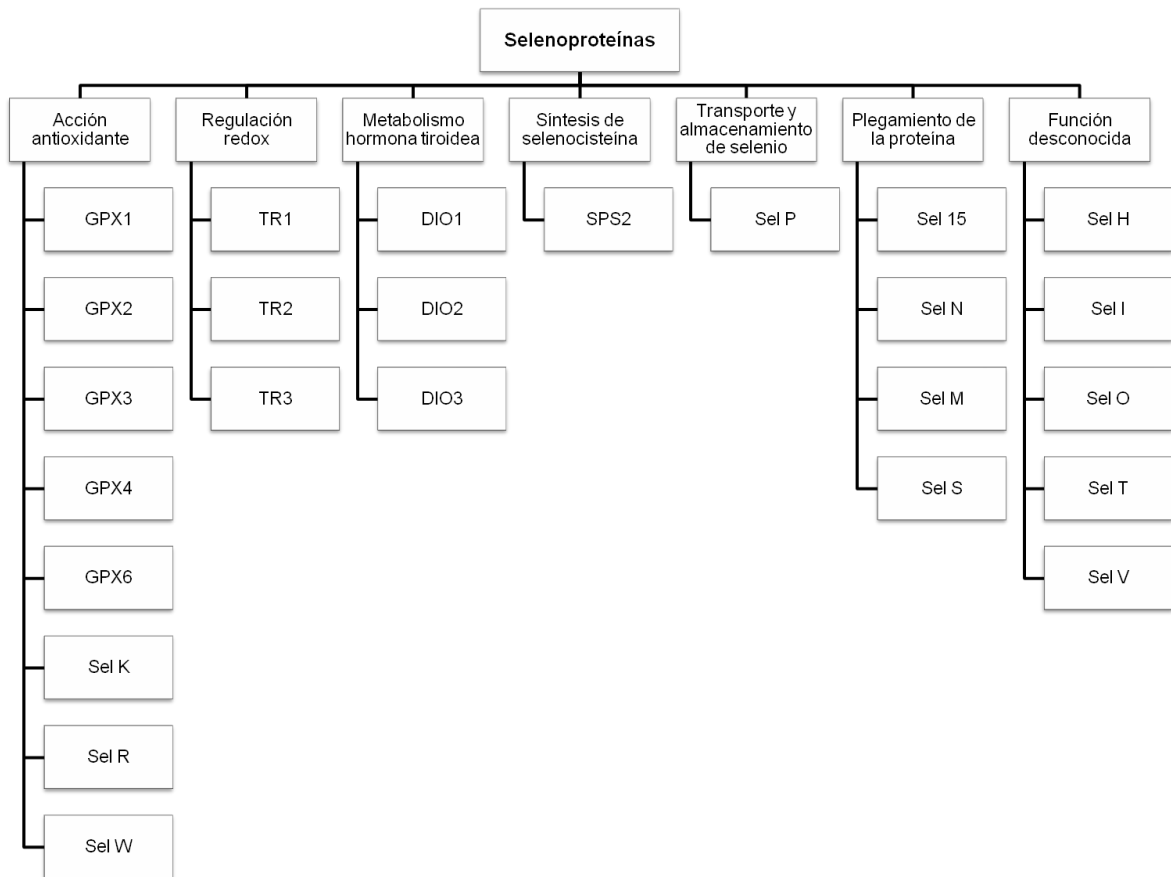
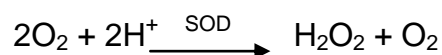


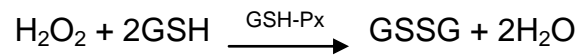
Figura 1. Clasificación de las selenoproteínas de acuerdo con su función. (Adaptado de Riaz y Mehmood 2012).

Las selenoproteínas, como antioxidantes que son, tienen como principal función el prevenir y reducir el daño que causan los radicales libres sobre los ácidos grasos poliinsaturados, el ADN y las proteínas en el cuerpo; que puede comprometer el correcto funcionamiento del sistema inmune y crear susceptibilidad a diversas enfermedades (Yaroshenko *et al.* 2003).

Según Surai (2002), el mecanismo de defensa antioxidante de la célula está compuesto por tres niveles de protección, como se observa en la Figura 2. El primero está conformado por las enzimas superóxido dismutasas (SOD) que llevan a cabo el proceso de dismutación o detoxificación del superóxido radical, que es el mayor radical producido dentro de los sistemas biológicos. Estas actúan produciendo peróxido de hidrógeno y oxígeno, como se indica a continuación:



El peróxido de hidrógeno (H₂O₂) que se genera en ésta reacción aún es tóxico, y puede reaccionar en presencia de metales de transición como el cobre y el hierro, generando radicales libres de mayor poder, por lo que las enzimas glutatión peroxidadas (GSH-Px), que forman parte de esta primera línea de defensa antioxidante, reaccionan con este producto para producir agua. Y la reacción es la siguiente:



La primera línea de defensa antioxidante no previene por completo la formación de radicales, y aquí es donde surge la segunda línea de defensa, que se encarga de restringir y prevenir que se dé la cadena de reacciones que provocan la peroxidación lipídica expulsando los radicales libres. Entre los antioxidantes que conforman este grupo están la vitamina A, la vitamina E, los carotenoides, el ácido ascórbico, los ubiquinoles y el ácido úrico.

Los radicales libres que no pueden ser detoxificados en el segundo nivel de defensa antioxidante provocan daño a los ácidos grasos poliinsaturados, el ADN y las proteínas; que son reparados o eliminados de la célula por medio de la acción del tercer nivel de la defensa antioxidante, el cual se basa en sistemas enzimáticos específicos.

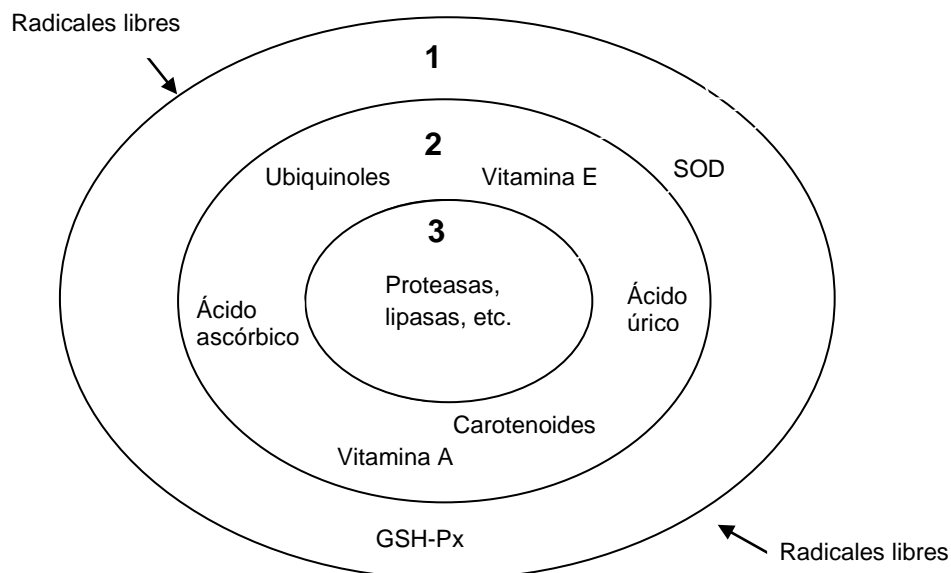


Figura 2. Mecanismo de defensa antioxidante de la célula. (Adaptado de Surai *et al.* 2003b)

Transformación bioquímica del selenio

La transformación del selenio de la dieta a selenoproteínas se produce a través de una serie de interconversiones metabólicas, en donde el seleniuro (H_2Se) se considera como un punto central (Figura 3). Tanto la selenometionina de la dieta como la que es liberada por el catabolismo de las proteínas se convierte en selenocisteína gracias a la acción de la cistationa β -sintetasa y la cistationa γ -liasa. Posteriormente, la selenocisteína β -liasa libera seleniuro (H_2Se) a partir de la selenocisteína, proveniente de la dieta y/o creada a partir de la selenometionina. También se puede liberar seleniuro a partir de la selenometionina a través de la acción de la bacteria intestinal metionasa (Drake 2006, Ohta y Suzuki 2008). La metilselenocisteína de la dieta se puede convertir en metilselenol (CH_3SeH) por la acción de la cistationina γ -liasa, que a su vez puede ser desmetilado para producir seleniuro (Pinto *et al.* 2011, Suzuki *et al.* 2007).

Por otro lado, el selenato de la dieta atraviesa una reducción para convertirse en selenito, y éste a su vez se puede reducir a seleniuro directamente a través de la acción de la tiorredoxina reductasa y la tiorredoxina o puede reaccionar con glutatión para formar selenodiglutatión y reducirse para formar glutatión selenol por medio de la glutatión reductasa y la glutatión selenol reacciona con glutatión para producir seleniuro (Lu *et al.* 2009).

La absorción de seleniuro en las selenoproteínas implica la generación del selenofosfato a través de la actividad de la selenofosfato sintetasa y la incorporación de selenio en selenocisteil-ARNt [Ser] [Sec] a través del O-fosfo-L-seril-ARNt [Ser] [Sec] (Tamura *et al.* 2004, Ganichkin *et al.* 2008).

Asimismo, el seleniuro es también el metabolito intermediario para la excreción del selenio; en bajos niveles de consumo se incorpora a la selenoazúcar para la excreción en la orina y en niveles altos de consumo las metiltransferasas añaden grupos metilo secuencialmente para convertir el seleniuro en metilselenol y luego a dimetilo, que se excreta en el aliento y en las heces, y después a trimetilselenio, que se excreta en la orina (Ohta y Suzuki 2008, Krittaphol *et al.* 2011).

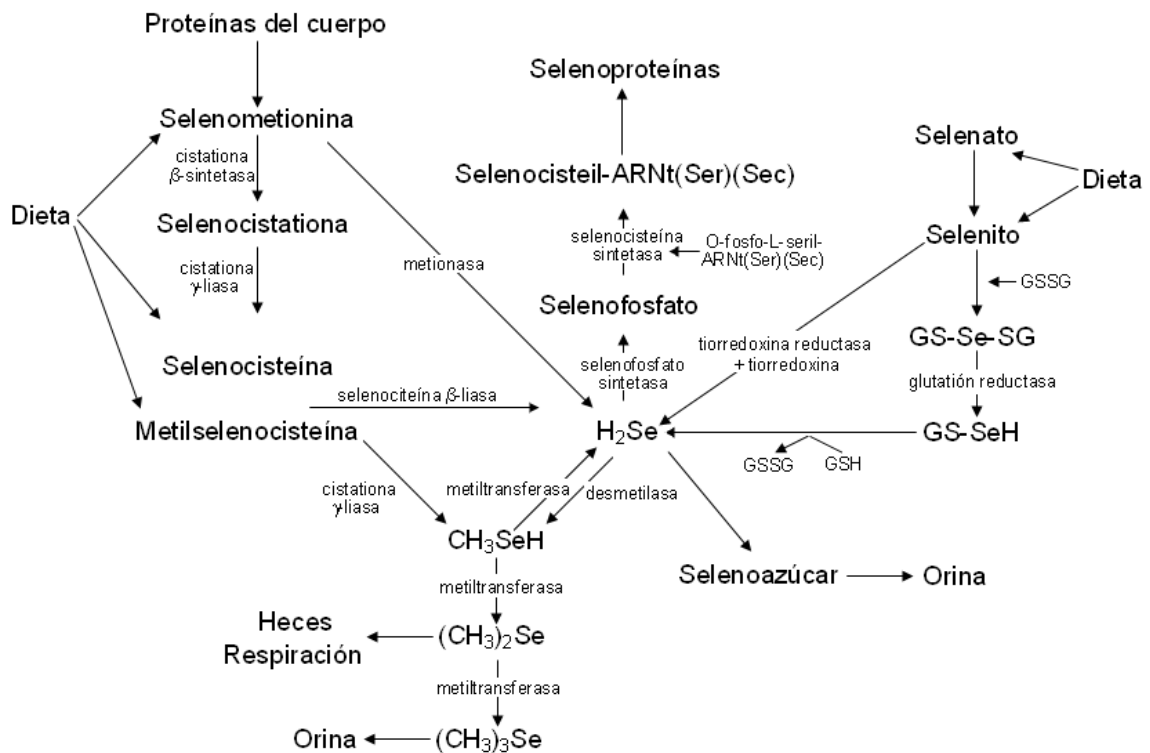


Figura 3. Vías metabólicas del selenio de la dieta (Adaptado de Fairweather *et al.* 2011).

Importancia del selenio en humanos

Durante los últimos años se le ha sumado mucha importancia a la relación entre la dieta de los humanos y su salud, ya que se ha visto cómo una dieta inadecuada puede generar problemas de salud. El inconveniente es que no todas las personas consumen los mismos alimentos, y cada quien intenta cubrir sus necesidades alimenticias de distintas maneras. Sin embargo, los antioxidantes naturales, como el selenio, se considera que presentan gran importancia para la salud humana (Finisin *et al.* 2008).

La esencialidad del selenio para la salud humana depende de su nivel de consumo en la dieta, ya que al ingerirlo en una concentración adecuada va a cumplir con sus funciones de regulación redox por medio de las selenoproteínas; mientras que en concentraciones por encima de su requerimiento, contrario a lo anterior, se puede convertir en un elemento potencialmente pro-oxidante (Hatfield *et al.* 2006).

El consumo diario recomendado de selenio en humanos es de 55 a 60 μg por día, una dosis que incide principalmente con un efecto antioxidante y que fortalece el sistema inmunológico (Institute of Medicine 2000). De acuerdo con el Cuadro 3 este nivel corresponde a personas que van de los 14 años en adelante.

Alrededor del mundo el consumo diario de selenio en la dieta de las personas se estima que se encuentra en un rango de 3 a 7000 $\mu\text{g}/\text{d}$; y que el nivel de consumo de selenio más alto se encuentra en regiones seleníferas de China y Venezuela (Yang *et al.* 1983, Rayman 2002, Rayman 2004, World Health Organization 2004, Fordyce 2005a, Rayman 2005, Rayman 2008).

En general, existen dos formas de adquirir el selenio. La primera es la forma nutricional, por medio de la cual se obtiene el selenio a partir de las plantas y los animales que forman parte la dieta humana. En esta se incluyen también los alimentos enriquecidos. La otra opción es vía suplementación por medio de pastillas de selenio, que pueden contener selenito de sodio, selenometionina u otros compuestos del selenio (Surai 2006a).

Es importante mencionar que el selenio puede ser tóxico en altas dosis, aunque es un mineral traza cuya deficiencia genera problemas de susceptibilidad a nivel global en humanos, por lo que se presenta un mayor riesgo de padecer enfermedades (Lyons *et al.* 2007).

La deficiencia moderada de selenio ha sido vinculada a muchas condiciones, tales como un aumento en el riesgo de cáncer e infecciones, infertilidad masculina, disminución de las funciones inmune y tiroidea. Asimismo, en algunas zonas de China en donde la concentración de selenio en los suelos es sumamente baja se ha manifestado una cardiomiopatía fatal, llamada enfermedad de Keshan (Papp *et al.* 2007).

Los síntomas de la deficiencia de este mineral se han observado en casos extremos, graves y prolongados de privación. Esta se caracteriza por una miocardiopatía necrotizante, miopatía periférica, disminución del tono muscular y trastornos conductuales, cambios en apéndices de la piel (adelgazamiento del cabello y la opacificación de las uñas) y anemia (Mehdi *et al.* 2013).

Por otro lado, la toxicidad por selenio se puede generar por un consumo excesivo por medio de algún complemento o a través del consumo de alimentos con altas concentraciones de selenio. Los síntomas característicos de la selenosis incluyen pelo frágil y quebradizo, uñas engrosadas y estratificadas, olor a ajo en el aliento y la piel; y en casos de intoxicación aguda vómitos y edema pulmonar (Lech 2002, Rayman 2008, MacFarquhar *et al.* 2010). Además, durante una selenosis los compuestos de selenio pueden acumularse en las células y realizar ciclos redox con los tioles intracelulares, lo cual conduce a un estado de estrés oxidativo (Cañari 2011).

La toxicidad del selenio va a variar según la fuente de la que provenga. El selenio inorgánico, proveniente del selenito, es tres veces más tóxico que el selenio orgánico. Además, esta forma inorgánica del selenio presenta otras desventajas como interacciones con vitaminas y otros minerales, baja transferencia a productos de origen animal (leche, carne y huevos), y la nula capacidad de acumularse en el cuerpo para crear reservas (Kim y Mahan 2003, Lyons *et al.* 2007).

De igual forma cuando se presenta toxicidad por selenio su bioeliminación del cuerpo, que normalmente es por vía urinaria en forma metilada ((CH₃)Se⁺) o acetilada (acetilgalactosaminado), se genera a través de las vías secundarias, ya sea por heces, secreciones biológicas, uñas y pelo (Yang *et al.* 1983).

Los escasos datos disponibles en humanos sugieren que la toxicidad crónica de las formas orgánicas e inorgánicas tiene características clínicas similares, pero difieren en la rapidez de aparición y su relación con las concentraciones tisulares de selenio. El límite superior de selenio para adultos de los 14 años en adelante es de 400 µg (5,1 mmol) / día (Cuadro 3) (Institute of Medicine 2000).

Cuadro 3. Consumo diario recomendado (CDR) y límite superior de selenio según edad y estado fisiológico.

Edad o estado fisiológico	CDR	Límite superior
	µg/d	
0-6 meses	15	45
7-12 meses	20	60
1-3 años	20	90
4-8 años	30	150
9-13 años	40	280
14->70 años	55	400
Embarazo	60	400
Lactancia	70	400

Fuente: Institute of Medicine 2000.

El selenio es un antioxidante que colabora a que haya un correcto funcionamiento del sistema inmune y en la reducción o inhibición de la progresión del VIH hacia el SIDA. Este último punto ha sido comprobado en países con altas concentraciones de selenio en el suelo donde está enfermedad presenta menor incidencia que en países con un nivel bajo de selenio en los suelos (Jaques 2006).

De acuerdo con Surai (2000a), al utilizar una suplementación con selenio se reduce la incidencia de artritis, cáncer, cataratas, colestasis, fibrosis cística, diabetes, inmunodeficiencia, anemia linfoblástica, degeneración macular y distrofia muscular.

El selenio en avicultura

La suplementación con selenio orgánico en la dieta de aves de granja se practica desde mediados de la década de los setenta. Esta presenta varias ventajas (Cuadro 4), siendo la principal la transferencia del selenio al huevo, lo que además conlleva a una mejor calidad de la cáscara. Igualmente, las reservas de selenio ayudan a que las aves conserven su desempeño productivo y reproductivo, aún en las condiciones de estrés (Heinz 1996, Dvorska y Surai 2006, DeVink *et al.* 2008).

Las ventajas del selenio orgánico para gallinas ponedoras comerciales están relacionadas con una mejor calidad de la cáscara y la mejora en la producción de huevos. De hecho, es bien sabido que la cáscara de huevo se compone de alrededor de 95% de minerales y 5% de la matriz orgánica. Esta matriz regula la formación de la cáscara, y como el selenio forma parte de esta se cree que puede afectar su calidad (Surai *et al.* 2006).

Otra ventaja del selenio orgánico en las gallinas ponedoras es que ayuda a mantener la producción de huevo en el pico de producción, ayudando a superar el estrés de la producción comercial por medio de la protección antioxidante adicional que le brinda al organismo del ave. Además, el selenio orgánico está relacionado con una mayor frescura de los huevos durante el almacenamiento, ya que al suplementar el selenio en la dieta de las gallinas este se transfiere al huevo y estimula la glutatión peroxidasa que disminuye la oxidación de lípidos y proteínas, y por consiguiente ayuda a mantener las unidades Haugh en un alto nivel (Surai *et al.* 2006).

Cuadro 4. Mejorías por el efecto del uso del selenio orgánico en la avicultura según el tipo de producción.

Reproductores
Mejor calidad espermática
Menos anormalidades espermáticas
Mayor duración de la fertilidad
Mejor fertilidad
Mejor incubabilidad
Mayor producción de huevos
Mejor viabilidad del pollito
Menor mortalidad del pollito
Más pollitos por ave alojada
Engorde
Menor pérdida por goteo
Mejor conversión alimenticia
Mejor emplume
Menos ascitis
Mejor crecimiento del pollo
Menor peroxidación lipídica en la carne
Mejor peso eviscerado
Mejor rendimiento de la pechuga
Ponedoras
Mejor desempeño de las gallinas
Mejor frescura del huevo en almacenamiento
Mejor calidad de la cáscara del huevo
Mayor concentración de selenio en huevo
Mayor peso del huevo
Más aves por jaula
Menor peroxidación lipídica de la yema

Fuente: Dvorska y Surai 2006, Lyons *et al.* 2007.

Con respecto a las funciones biológicas, el selenio en las gallinas ponedoras actúa como antioxidante para prevenir el estrés oxidativo, refuerza la función adecuada de la tiroides, y el desarrollo y mantenimiento de la inmunocompetencia (Hooge 2007).

Se cree que el selenio, así como el resto de los minerales traza, es aportado a la dieta de las aves por medio de los ingredientes convencionales. Sin embargo, debido a su variación en el contenido del suelo y, por consiguiente, en las plantas, para asegurar su consumo adecuado éste se agrega en el alimento balanceado. En el caso de las gallinas ponedoras el requerimiento de selenio varía entre 0,05 y 0,08 ppm, dependiendo del consumo y del tipo de ponedora (NRC 1994).

La deficiencia de selenio en animales de producción, igual que en humanos, provoca un detrimento del sistema inmune, por lo que genera susceptibilidad a sufrir enfermedades. Asimismo, esta carencia también puede conllevar a un deterioro en los rendimientos productivo y reproductivo (Spallholz *et al.* 1990, Arthur *et al.* 2003, Lyons *et al.* 2007, Hoffmann y Berry 2008).

En animales jóvenes el trastorno más común por una deficiencia de selenio es la enfermedad del músculo blanco, que es una miopatía degenerativa que afecta el músculo esquelético, el corazón y la molleja de las aves, y afecta principalmente a los animales con una alta tasa de crecimiento. Los principales síntomas clínicos son trastornos músculo-esqueléticos, posición de micción y cola ligeramente levantada. También temblores musculares, dificultad para tragar y una frecuencia cardíaca rápida. Y algunas veces puede provocar un paro cardíaco repentino (Mehdi *et al.* 2013).

Fortificación o enriquecimiento de alimentos con selenio

Dado que el contenido de selenio en los alimentos a base de plantas depende de su disponibilidad a partir del suelo, el nivel de este elemento en los alimentos de humanos y animales varía entre distintas regiones. Entre las formas de mejorar el consumo de selenio en la población están: la suplementación directa, la fertilización del suelo, la suplementación de alimentos básicos y la producción de alimentos funcionales enriquecidos con selenio. Siendo esta última estrategia la de mayor importancia en los últimos años (Surai 2000b, Surai 2002, Surai 2006a, Surai 2006b).

De acuerdo con el Reglamento Técnico Centroamericano: Etiquetado nutricional de productos alimenticios preenvasados para consumo humano para la población a partir de 3 años de edad (RTCA 67.01.60:10), la fortificación o el enriquecimiento se refiere a la adición de uno o más nutrientes esenciales a un alimento, tanto si está como si no está contenido normalmente en el alimento, con el fin de prevenir o corregir una deficiencia demostrada de uno o más nutrientes en la población o en grupos específicos de la población.

En Costa Rica existen dos tipos de fortificación: la obligatoria y la voluntaria. La primera, como lo indica su nombre, es obligatoria para la industria alimentaria. Para determinarla se crea un reglamento por decreto ejecutivo, y para verificar su adecuado cumplimiento el Ministerio de Salud realiza monitoreos y controles. Por otro lado, la fortificación voluntaria la lleva a cabo la industria alimentaria con fines comerciales, para ofrecerle a los consumidores productos con valor agregado. Al no ser obligatoria no siempre se crea para solventar las necesidades de la población y no existe un control específico por parte del Ministerio de Salud (CIGA 2007).

La fortificación o el enriquecimiento de alimentos es una estrategia, a un costo razonable, que puede generar mejoras relativamente rápidas en el estado nutricional de la población, especialmente si se aprovechan las redes locales de distribución y tecnología existentes. Para esto, un requisito muy importante es que la comida a fortificar sea consumida en cantidades adecuadas por la población. Se debe además, utilizar fortificantes de buena absorción y que no afecten las propiedades sensoriales de los alimentos (WHO y FAO 2006).

El uso de suplementos de selenio orgánico en animales de producción ofrece la oportunidad de producir alimentos de origen animal, como carne, huevos y leche, enriquecidos con selenio, lo que ayuda a mejorar el nivel del mineral en la dieta de la población (Surai 2006a). Esto les brinda a los productores una herramienta para que cumplan con las cada vez más exigentes necesidades de los consumidores, así como de ofrecer un producto que también genera beneficios para la salud (Lyons *et al.* 2007).

El huevo es un excelente medio para la suplementación con selenio, ya que es un alimento tradicional, accesible, de consumo regular y moderado, y es consumido por personas de todas las edades. Por lo tanto, sin cambiar los hábitos alimenticios de las personas se puede combatir su deficiencia en la población en general. A pesar de ser un alimento de consumo regular, al ser también de consumo moderado, se convierte en una fuente segura para la suplementación, ya que para que se presente toxicidad habría que comerlo en grandes cantidades (Surai *et al.* 2003a).

Adicionalmente, el aumento del contenido de selenio en los huevos se puede realizar fácilmente por medio de la suplementación de selenio orgánico en la dieta de las gallinas ponedoras. Con un nivel de 0,3 ppm en el alimento balanceado es posible aumentar la concentración de selenio en el huevo (Surai *et al.* 2003a, Hassanien 2011). Esto se debe a que el selenio orgánico, añadido en forma de selenolevadura al alimento de las aves, se absorbe en forma de selenometionina, la cual se transfiere de forma efectiva al huevo (Finisin *et al.* 2008).

Actualmente, los huevos enriquecidos con selenio están disponibles en más de 25 países alrededor del mundo, entre ellos el Reino Unido, Francia, Bélgica, España, Suiza, Estados Unidos, Turquía, Rusia, Ucrania, Malasia, Tailandia, Filipinas, Irlanda y Nueva Zelanda (Dvorska y Surai 2006, Hassanien 2011).

En Costa Rica, el único producto enriquecido con selenio hasta la fecha es el arroz, el cual, de acuerdo con el decreto n° 34394-S del 2008, debe poseer un nivel de 105 microgramos de selenio por kilogramo de arroz (CIGA 2007). Por otro lado, también en Costa Rica, Sánchez (2012) realizó un estudio de suplementación de vacas lecheras con selenio orgánico en la dieta, lo que generó un aumento del selenio en la leche, que podría significar la posible creación de un producto de origen animal enriquecido con selenio.

De conformidad con el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.60:10 sobre etiquetado nutricional de productos alimenticios preenvasados para consumo humano para la población a partir de los 3 años de edad, para que el huevo sea fuente (enriquecido o fortificado) o buena fuente de selenio debería contener 10% y 20% por porción, respectivamente. En este caso la porción sería un huevo.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el efecto de la suplementación dietaria con selenio orgánico sobre el desempeño productivo de gallinas ponedoras y su transferencia al huevo de mesa para darle valor agregado, y desarrollar un protocolo para el análisis de la calidad del huevo.

Objetivos Específicos

1. Determinar el efecto de la suplementación de selenio orgánico sobre el contenido de selenio en huevo.
2. Evaluar los parámetros zootécnicos de gallinas suplementadas con selenio orgánico.
3. Evaluar los parámetros de calidad de huevo de mesa, a partir de la suplementación de selenio orgánico.
4. Desarrollar un protocolo de análisis de calidad de huevo, para su implementación en la empresa.

MATERIALES Y MÉTODOS

General

Se realizaron dos ensayos en granjas de la empresa Avicultores Unidos (AVUGA), ubicadas en la provincia de Alajuela, durante el primer semestre del año 2013.

Ensayo 1

El estudio se realizó con gallinas ponedoras de la línea genética Isa Brown a partir de las 40 semanas y hasta la semana 52 de edad, en la granja ubicada en Santa Eulalia de Atenas, que se encuentra a una altura de 700 a 800 m.s.n.m. Esta galera tenía ventiladores, manejó una densidad de 8 aves por jaula y presentaba recolección manual de huevo. Además, el alimento balanceado era altamente concentrado debido a que las elevadas temperaturas generaron un bajo consumo en las aves. El lote estaba conformado por un promedio de 33.000 aves. Para la prueba se tomaron las primeras cuatro semanas (40-43) como periodo control; luego, de la semana 44 a la semana 49 de edad la dieta de las ponedoras se suplementó con Sel-Plex 2000®, a razón de 0,4 ppm. Finalmente, entre las semanas 50 y 52 se suspendió la suplementación de selenio orgánico con el fin de medir el efecto residual del mineral.

Ensayo 2

Se llevó a cabo en la granja de la zona de Cañuelas de Naranjo, ubicada a una altura de 800 a 1500 m.s.n.m. El lote de ponedoras de la línea Isa Brown estaba conformado por cerca de 34.000 aves. Al ser una zona más fría la concentración de nutrientes en la dieta de las aves era baja, debido a un mayor consumo. Esta galera no poseía ventilación artificial y la densidad era de 9 a 10 aves por jaula, con sistema de recolección de huevos automático. La prueba contó con cuatro semanas (32-35) de periodo control. Después, en las siguientes seis semanas, de las 36 a las 41, se suplementó a las aves con 0,4 ppm de selenio en el alimento, proveniente de Sel-Plex 2000®. Posteriormente, durante las semanas 42, 43 y 44, se detuvo la suplementación de selenio orgánico para evaluar su efecto residual.

Manejo de los huevos

Los huevos se recolectaron todos los días en cartones de 30 unidades, se rotularon con el número de galera de la granja, la fecha de recolección y el número de colaborador y se almacenaron dentro de cada galera. Aquí los huevos fueron clasificados de acuerdo al color de la cáscara y al tamaño, apartando los huevos defectuosos. Estos huevos se trasladaron el mismo día de la recolección o el día siguiente al centro de acopio en La Garita.

Valoración zootécnica

Durante todo el ensayo de campo se observaron los siguientes parámetros zootécnicos de los lotes: porcentaje de postura, consumo de alimento, peso de huevo, huevos acumulados por ave alojada, conversión alimenticia, porcentaje de mortalidad y peso de las aves. Asimismo, durante ambos ensayos se colocó un Escort iLog en las galeras de los lotes evaluados que registró los datos de la temperatura promedio, máxima y mínima, y la humedad relativa, variables que pudieron afectar el consumo de alimento en las gallinas.

Muestreo de huevo

Para determinar los parámetros de calidad de huevo (unidades Haugh, grosor de la cáscara, color de la yema, masa de huevo y peso de huevo), fueron recolectadas muestras de 45 huevos semanalmente durante las 13 semanas de cada ensayo (Cuadro 5). De cada muestra se analizaron 15 huevos el día del muestreo, y de los restantes 30 huevos, 15 se almacenaron por 7 días y los otros 15 por 14 días a temperatura ambiente, y luego fueron analizados.

La determinación de la concentración de selenio en el huevo se realizó en muestras de 6 huevos cada una. Estas se tomaron en la cuarta semana del ensayo y de la octava hasta la treceava semana (Cuadro 5), para evaluar el nivel de selenio en huevo antes, durante y después de la suplementación.

Los huevos recolectados en el centro de acopio para todas las muestras se tomaron aleatoriamente del total de huevos recolectados en un mismo día.

Cuadro 5. Semanas de edad de las aves en cada periodo, en cada ensayo y muestreo de huevo.

Edad de las aves del ensayo 1	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52
Edad de las aves del ensayo 2	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44
Semanas de ensayo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Periodo													
Control													
Adaptación													
Enriquecimiento													
Residual													
Muestreo													
Calidad del huevo													
Selenio en huevo													

Muestreo de alimento balanceado

El alimento balanceado ofrecido a las aves durante las 13 semanas de ensayo se muestreó para determinar el contenido de selenio en la dieta ofrecida. Las muestras se tomaron los días de fabricación del alimento balanceado que correspondían a los lotes en estudio y de éstas se hizo una muestra compuesta de 500 gramos. Cada una de estas muestras de 500 gramos representó un periodo (control, adaptación, enriquecimiento, residual), lo que permitió evaluar la presencia del mineral en el alimento durante todo el ensayo.

Protocolo de calidad de huevo

Se elaboró un protocolo para el análisis de calidad de huevo que se adecuó a la empresa. Este protocolo se siguió durante el desarrollo de este ensayo (Anexo 1).

Descripción de los análisis de calidad

La determinación de los parámetros de calidad se realizó en cada uno de los huevos que conformaban la muestra, esto según lo indicado en el apartado de muestreo de huevo, y se siguió el procedimiento que se describe a continuación.

Inicialmente, se midió el peso de cada huevo colocándolo en una balanza digital, que posee una exactitud de 0,1 g.

Luego, se procedió a romper el huevo con cuidado y se colocó su contenido en una superficie plana para medir la altura de la albúmina con un pie de rey digital (Precision Instruments, $\pm 0,03\text{mm}$) a un centímetro de la yema del huevo. Se tomaron dos mediciones de la altura de la albúmina y se promediaron, para evitar algún error en la medición por la posible presencia de chalazas o burbujas de aire. Con los datos de peso del huevo y de la altura de la albúmina se calcularon las unidades Haugh utilizando la siguiente ecuación:

$$UH = 100 \log (H - (1,7 G)^{0,37}) + 7,6$$

Donde:

UH: unidades Haugh.

H: altura de la albúmina.

G: peso del huevo en gramos.

Posteriormente, se determinó el color de la yema del huevo con un colorímetro de mano (Konica Minolta CR-400).

Por último, se utilizó el mismo pie de rey digital utilizado para medir la altura de la albúmina en la medición del grosor de las cáscaras.

Descripción de los análisis de selenio

Las mediciones del nivel de selenio en el huevo y en la dieta de las ponedoras se realizaron en un espectrofotómetro de absorción atómica marca Varian SpectrAA, modelo 220Fast Sequential. Se trabajó a una longitud de onda igual a 196 nm y una corriente de 10 mA y corrector de radiación de fondo con lámpara de deuterio. La digestión de las muestras se realizó con ácido nítrico (HNO_3) en un horno de microondas. Los patrones de selenio para obtener la curva de calibración se prepararon a partir de una disolución patrón, con una concentración de (1000 ± 1) mg/L al 5 % en HNO_3 . Los patrones para la curva de calibración se prepararon en el ámbito de $(5-50)$ $\mu\text{g/L}$.

Análisis de datos

Los resultados zootécnicos obtenidos en el ensayo se analizaron de forma descriptiva, para monitorear el comportamiento de los lotes y anotar cualquier anomalía observada.

Las variables de calidad de huevo fueron comparadas entre los periodos de prueba por medio de un análisis de varianza (ANOVA) con una significancia del 5%. El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + A_j + (TxA)_{ij} + e_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = respuesta asociada a la k-ésima repetición del i-ésimo tratamiento y el j-ésimo almacenamiento.

μ = media poblacional.

T_i = efecto del i-ésimo tratamiento.

A_j = efecto del j-ésimo almacenamiento.

$(TxA)_{ij}$ = efecto de la interacción entre el i-ésimo tratamiento y el j-ésimo almacenamiento.

e_{ijk} = error experimental asociado a la k-ésima repetición del i-ésimo tratamiento y el j-ésimo almacenamiento.

El efecto del tratamiento sobre las variables evaluadas se consideró significativo cuando $P \leq 0,05$, utilizando la prueba de Tukey para comparar las medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros zootécnicos

Al observar los parámetros zootécnicos de los lotes evaluados en esta investigación, en las Figuras 4 y 5 no se distingue ningún cambio numérico atribuible a la suplementación de selenio en la dieta de las aves. Tal y como lo reportaron varios autores (Paton *et al.* 2002, Payne *et al.* 2005, Na *et al.* 2006, Vukasinovic *et al.* 2006, Bennett y Cheng 2010) la suplementación de selenio en la dieta no afectó significativamente el consumo de alimento, la producción de huevos ni el peso del huevo. Además, Payne (2004), Chantiratikul *et al.* (2008), Mohiti-Asli *et al.* (2008) y Chinrasri *et al.* (2009) encontraron que, aparte de esos parámetros, tampoco cambió la conversión alimenticia de las aves. Por otro lado, Scheideler *et al.* (2010) tampoco encontraron variación en el peso corporal de las aves y Utterback *et al.* (2005) no observaron cambios en la mortalidad de las aves.

Por el contrario, al aplicar selenio a la dieta de las ponedoras algunos investigadores encontraron mejoras en los parámetros productivos: Stanley *et al.* (2004) y Gjorgovska *et al.* (2012) observaron un aumento en el peso del huevo y la producción de huevos; Rutz *et al.* (2003), Skřivan *et al.* (2006) e Invernizzi *et al.* (2013), reportaron un mayor peso del huevo; un aumento en la producción de huevos y una menor conversión alimenticia fue lo que encontraron Skřivan *et al.* (2013); y una mejora en la conversión alimenticia reportaron De Lange *et al.* (2005). Cabe aclarar que las conclusiones obtenidas en estos ensayos no se evaluaron por medio de un diseño experimental, sino que se analizaron las tendencias respecto a los esperados; ya que para realizar una evaluación de los parámetros zootécnicos se debe plantear un experimento más riguroso.

En las Figuras 4 y 5 se puede observar como en el lote de ponedoras del ensayo 1 la producción de huevos, los huevos acumulados por gallina, la mortalidad de las aves, el peso del huevo y el peso corporal de las aves fueron similares o superiores a lo esperado de acuerdo con el manual de manejo de las aves.

Además, el consumo de alimento de las gallinas estuvo debajo de lo esperado, lo que reflejó en una mejor conversión alimenticia.

Por el contrario, en los resultados productivos de las aves del ensayo 2 la producción de huevos estuvo por debajo de lo esperado hasta las 40 semanas de edad, que fue cuando alcanzaron el nivel de postura deseado para la línea genética. Asimismo, se nota como la cantidad de huevos acumulados por ave alojada siempre fue inferior al valor deseado. En contraste con esto, el porcentaje de mortalidad de las aves y el peso del huevo se mostraron por encima de lo esperado. El consumo de alimento fue variable, teniendo unos puntos por encima y otros por debajo de lo requerido. El peso de las aves siempre fue mayor que el deseado y que el peso de las aves del primer lote. La conversión alimenticia en general fue mejor de lo esperado, pero mayor que el valor del primer lote de aves.

Con respecto a los datos registrados de los parámetros zootécnicos del lote de aves del ensayo 2 se puede pensar que los menores rendimientos productivos se pudieron deber al elevado peso corporal de las aves; ya que como lo indican Harms *et al.* (1982) y Haq *et al.* (2011) en su investigación cuando las aves aumentan de peso consumen más alimento, y el peso de los huevos aumenta. Además, Lacin *et al.* (2008) le agregan a esto una disminución de la producción de huevos. Por otro lado, Pérez-Bonilla *et al.* (2012) reportaron que el consumo de alimento y el peso del huevo aumentaron al ser los animales más pesados. Sin embargo la producción de huevos también fue mayor en los animales más pesados.

En las Figuras 6 y 7 se ve como el consumo de alimento varió con el cambio de temperatura, cuando la temperatura se elevó el consumo tendió a bajar. Esta respuesta por parte de las aves respalda los estudios de Miles y Jacob (2000), Leeson (2001), Elijah y Adedapo (2006), Morêki (2008), Mohiti-Asli *et al.* (2010) y Talukder *et al.* (2010), en los que se indica que al aumentar la temperatura ambiental se observó un detrimento en el consumo de alimento.

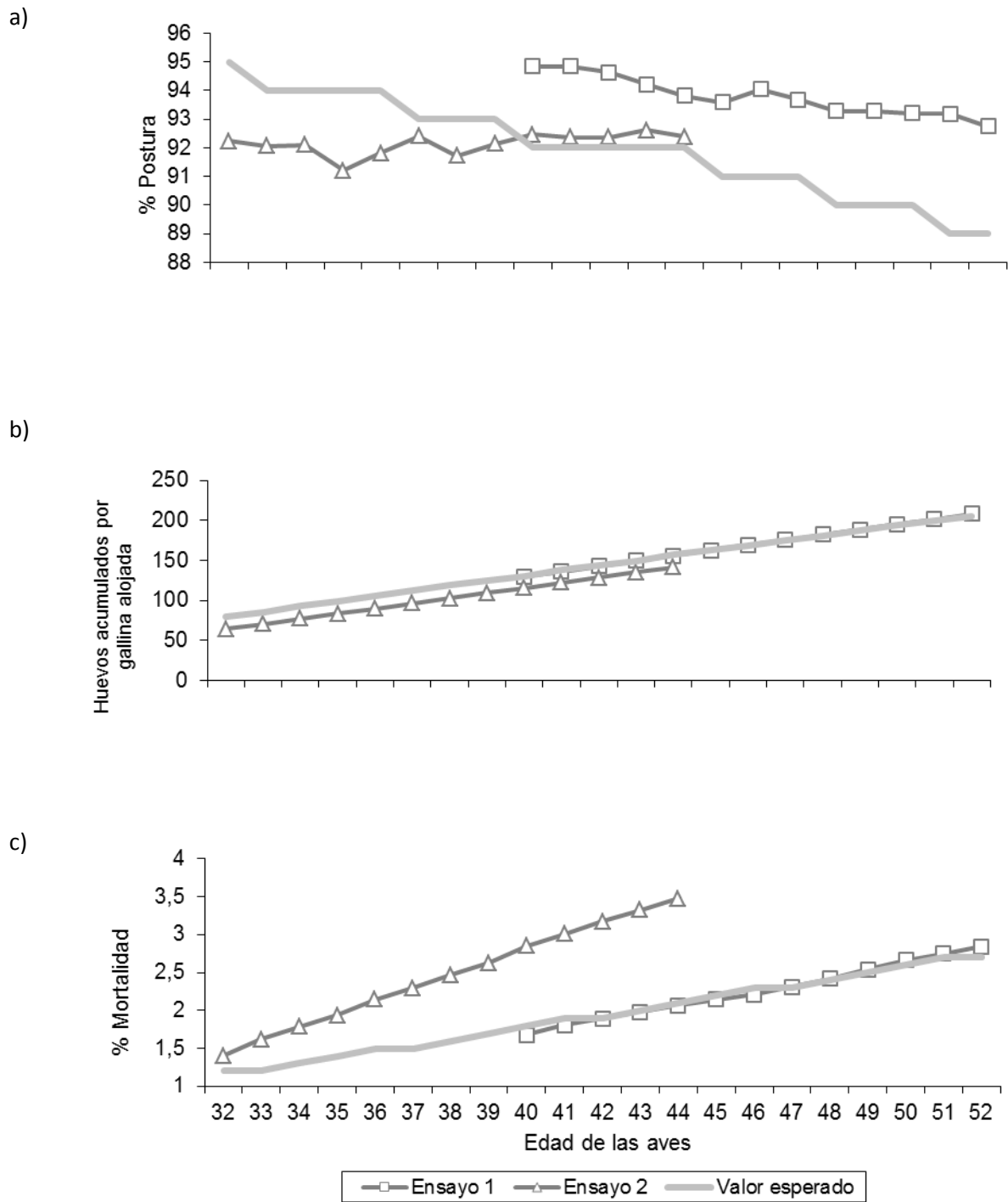


Figura 4. a) Porcentaje de postura, b) huevos acumulados por gallina alojada y c) porcentaje de mortalidad de las aves de los ensayos 1 y 2.

Ensayo 1: temperatura: 19,0 – 35,0 °C; edad de las aves: de 40 a 52 semanas; nutrientes: 21% PC (40-46 semanas) y 17,5% (47-52 semanas), 3150 EM (40-46 semanas) y 2975 EM (47-52 semanas); principales materias primas: maíz, harina de soya, harina de tilapia, aceite de tilapia o grasa amarilla.
 Ensayo 2: temperatura: 18,6 – 29,3 °C; edad de las aves: de 32 a 44 semanas; nutrientes: 19 % PC, 3050 EM; principales materias primas: maíz, harina de soya, harina de tilapia, aceite de tilapia, DDGS y acemite de trigo.

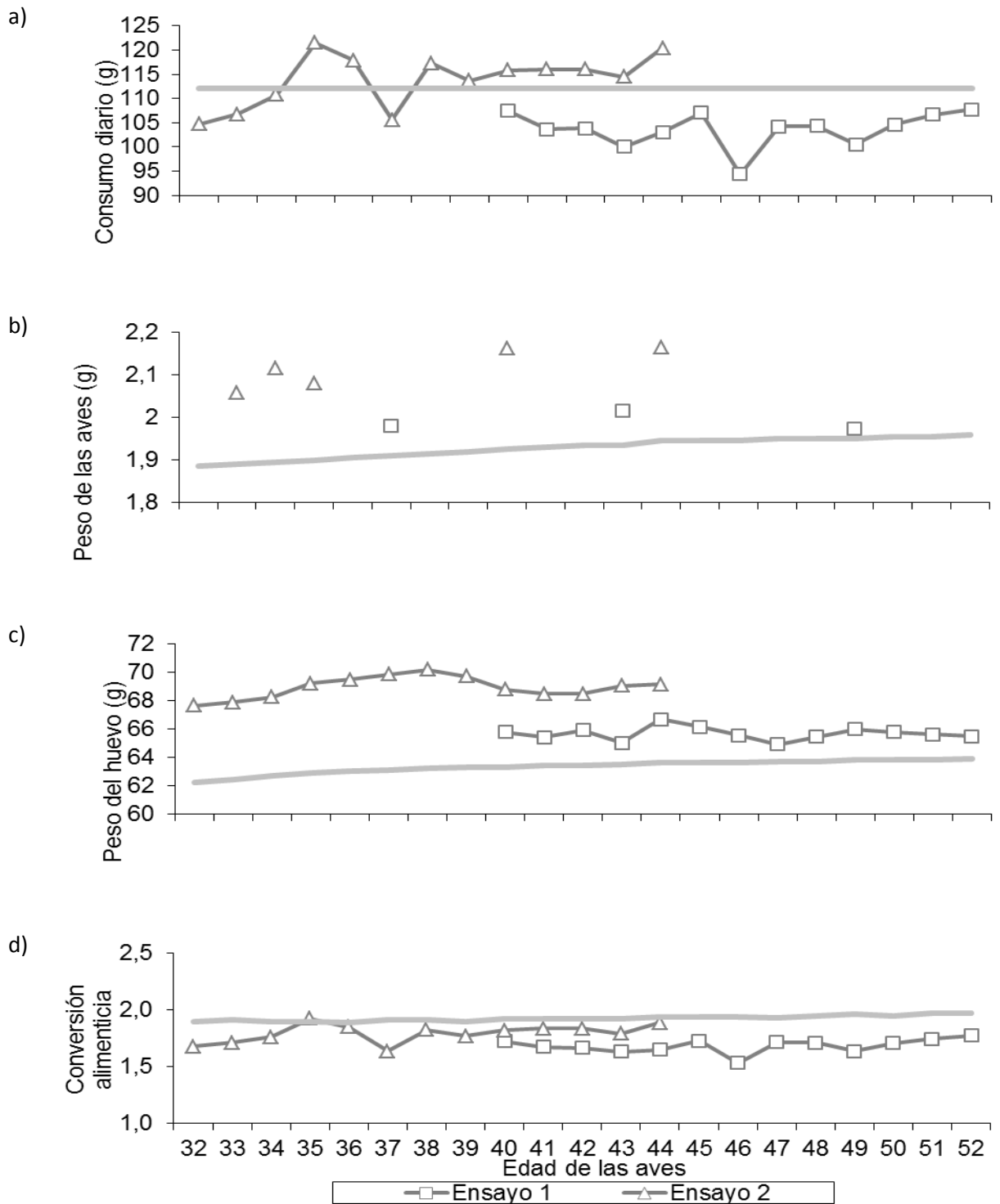


Figura 5. a) Consumo de alimento (g), b) peso de las aves, c) peso del huevo (g) y d) conversión alimenticia de las aves de los ensayos 1 y 2.

Ensayo 1: temperatura: 19,0 – 35,0 °C; edad de las aves: de 40 a 52 semanas; nutrientes: 21% PC (40-46 semanas) y 17,5% (47-52 semanas), 3150 EM (40-46 semanas) y 2975 EM (47-52 semanas); principales materias primas: maíz, harina de soya, harina de tilapia, aceite de tilapia o grasa amarilla.

Ensayo 2: temperatura: 18,6 – 29,3 °C; edad de las aves: de 32 a 44 semanas; nutrientes: 19 % PC, 3050 EM; principales materias primas: maíz, harina de soya, harina de tilapia, aceite de tilapia, DDGS y acemite de trigo.

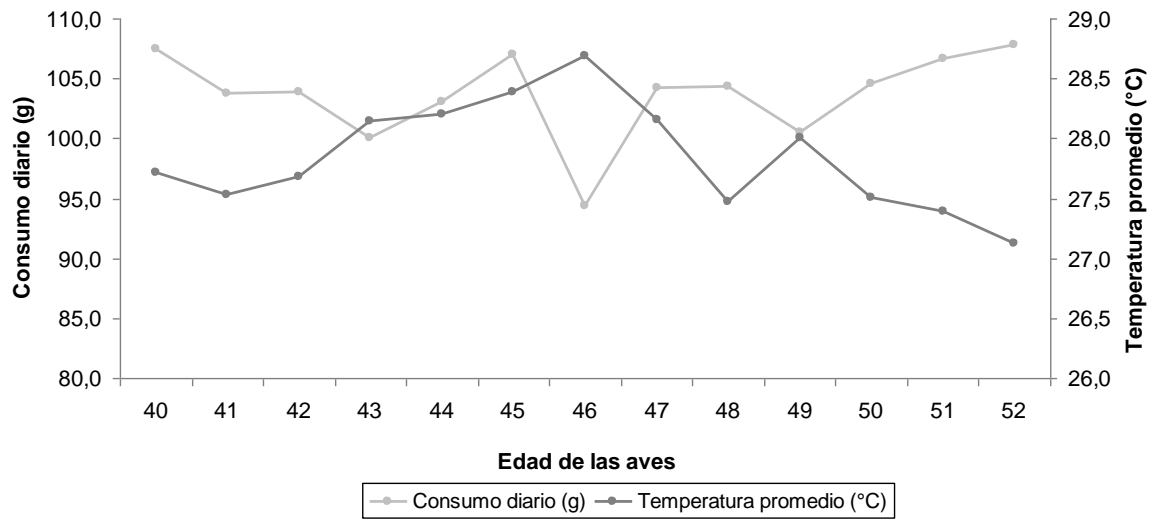


Figura 6. Consumo semanal de alimento (g) de las aves y temperatura promedio (°C) del ensayo 1.

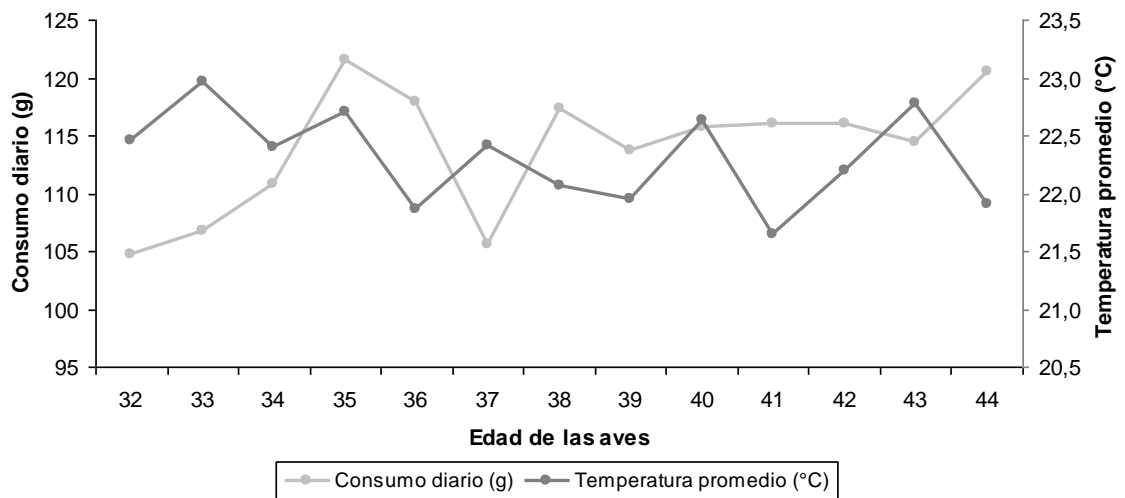


Figura 7. Consumo diario de alimento (g) de las aves y temperatura promedio (°C) del ensayo 2.

Parámetros de calidad del huevo

Efecto del tratamiento

En los Cuadros 6 y 7 se muestran los resultados de los parámetros de calidad del huevo de los ensayos. En el ensayo 1 el peso del huevo, la masa del huevo y las unidades Haugh no variaron entre los tratamientos del ensayo. Sin embargo, el color de la yema se hizo más intenso y el grosor de la cáscara disminuyó. Por otro lado, en el ensayo 2 la adición de selenio a la dieta de las ponedoras incrementó significativamente el peso y la masa del huevo, mientras que las otras características de calidad no presentaron variación.

Con respecto al peso del huevo varios autores (Utterback *et al.* 2005, Chantiratikul *et al.* 2008, Mohiti-Asli *et al.* 2008, Chinrasri *et al.* 2009, Mohiti-Asli *et al.* 2010, Scheideler *et al.* 2010, Skřivan *et al.* 2013) no encontraron ningún efecto del selenio, lo que es congruente con el resultado del ensayo 1. Sin embargo, otros investigadores (Rutz *et al.* 2003, Skřivan *et al.* 2006, Arpášová *et al.* 2009, Arpášová *et al.* 2012, Invernizzi *et al.* 2013) observaron un aumento en el peso del huevo debido a la suplementación de las aves con selenio orgánico, como sucedió en el ensayo 2.

La masa no se vio afectada en el ensayo 1 al igual que en las investigaciones de Mohiti-Asli *et al.* (2008). Las unidades Haugh no se elevaron al suplementar con selenio orgánico la dieta de las gallinas, lo que concuerda con King *et al.* (2001), Payne (2004), Chantiratikul *et al.* (2008), Chinrasri *et al.* (2009), Invernizzi *et al.* (2013) y Skřivan *et al.* (2013). Aunque Arpášová *et al.* (2009) y Arpášová *et al.* (2012) en su estudio obtuvieron valores más altos de unidades Haugh.

Por el contrario, el color de la yema aumentó en los periodos enriquecimiento y residual. Lo que está concuerda con las investigaciones de Rey (2007) y de Mohiti-Asli *et al.* (2010), donde se vio un incremento en el color de la yema derivado de la suplementación en la dieta con selenio. Arpášová *et al.* (2009) no encontraron diferencias estadísticas en el color de la yema del huevo al suplementar con selenio a las ponedoras.

Cabe agregar que el color de la yema es producido por carotenoides conocidos como xantofilas que se encuentran en la dieta de la gallina, los cuales son solubles en lípidos y pierden su poder pigmentante al oxidarse. Utilizando el selenio orgánico se aumenta la actividad de la enzima antioxidante glutatión peroxidasa (GSH-Px) en la yema que mantiene el color de la yema del huevo durante su almacenamiento al evitar la oxidación de los carotenoides (Rey 2007, Mohiti-Asli *et al.* 2010).

En cuanto al grosor de la cáscara en el ensayo 2 no hubo una variación significativa entre los tratamientos, lo que respalda los trabajos de Chantiratikul *et al.* (2008), Mohiti-Asli *et al.* (2008), Arpášová *et al.* (2009), Chinrasri *et al.* (2009) y Invernizzi *et al.* (2013). En contraste, en el ensayo 1 estadísticamente se ve una disminución en los valores del grosor de la cáscara del huevo. Este detrimento se le atribuye a las altas temperaturas, principalmente en el periodo de adaptación que fue cuando se presentaron las temperaturas más elevadas y cuando disminuyó más el grosor de la cáscara, específicamente en la semana 46 (Figura 8).

Este mismo efecto de detrimento en el grosor de la cáscara del huevo por la exposición de las gallinas al estrés calórico se puede ver en las investigaciones de Yahav *et al.* (2000), Lin *et al.* (2004), Mashaly *et al.* (2004), Star *et al.* (2008), Bozkurt *et al.* (2012), Ebeid *et al.* (2012), Mack *et al.* (2013) y Melesse *et al.* (2013).

El estrés calórico provoca que las gallinas jadeen para aminorar el calor de su cuerpo por lo que se da una alcalosis respiratoria debido a la excesiva pérdida de CO₂ de la sangre, lo que conlleva a un aumento del pH de esta. Esto dificulta la disponibilidad de bicarbonato y de calcio en sangre para la mineralización de la cáscara del huevo, por lo que su calidad se ve alterada de forma negativa (Mongin 1978 mencionado por Roberts y Ball 1998, Marder y Arad 1989, Koelkebeck 1999, Hy-Line 2013).

Efecto del almacenamiento

Los días de almacenamiento del huevo a temperatura ambiente provocaron una reducción en el peso del huevo, la masa del huevo y las unidades Haugh, y un aumento en el color de la yema en el primer ensayo. En el ensayo 2 el almacenamiento solo afectó las unidades Haugh y el color de la yema (Cuadros 6 y 7, Figuras 9 y 10).

El estudio que realizaron Yilmaz y Bozkurt (2009) y Jin *et al.* (2011) les llevo a obtener el mismo resultado que en el ensayo 2, donde las unidades Haugh disminuyeron con el almacenamiento.

En las investigaciones de Kirunda y Mckee (2000), Aboonajmi *et al.* (2010) y Carrazzoni *et al.* (2012) las unidades Haugh decrecieron al almacenarse los huevos a temperatura ambiente. Mientras que según Siyar *et al.* (2007), Akyurek y Okur (2009), Bozkurt y Tekerli (2009), Englmaierová y Tumová (2009), Usturoi (2011) y Tona *et al.* (2013) no sólo las unidades Haugh disminuyeron con el almacenamiento de los huevos sino que también el peso del huevo.

En otro trabajo, de Carranco *et al.* (2011), se vio un decrecimiento con los días de almacenamiento del peso del huevo, las unidades Haugh y el grosor de la cáscara. Además, Ragni *et al.* (2007) obtuvieron una disminución en la masa del huevo y las unidades Haugh al almacenar los huevos a temperatura ambiente.

Asimismo, en los Cuadros 6 y 7 se observa como no hubo interacción entre los tratamientos y los días de almacenamiento en ninguno de los ensayos.

Cuadro 6. Efecto de la suplementación con selenio sobre el peso del huevo, la masa del huevo, las unidades Haugh, el color de la yema y el grosor de la cáscara, según el tratamiento y los días de almacenamiento en el ensayo 1.

	Parámetros				
	Peso huevo (g)	Masa huevo (g)	Unidades Haugh	Color yema	Grosor cáscara (mm)
<i>Tratamiento (T)</i>					
Control	62,5	59,1	63,4	25,3 ^a	0,38 ^b
Adaptación	63,4	59,5	68,3	25,9 ^a	0,35 ^a
Enriquecimiento	62,3	58,2	65,0	28,4 ^b	0,36 ^{ab}
Residual	63,5	59,0	68,7	28,9 ^b	0,36 ^{ab}
<i>Almacenamiento (A)</i>					
1	64,3 ^a	60,3 ^a	84,4 ^a	24,8 ^a	0,36
7	63,0 ^a	59,0 ^b	62,3 ^b	27,9 ^b	0,36
14	61,5 ^b	57,7 ^c	52,3 ^c	28,7 ^b	0,36
<i>Valor P</i>					
T	NS	NS	NS	<0,0001	0,001
A	0,0001	0,0001	<0,0001	<0,0001	NS
TxA	NS	NS	NS	NS	NS

Letras diferentes en la misma columna indican que hay diferencias estadísticas con $p < 0,05$.

NS = No existe diferencia significativa con $p < 0,05$.

Cuadro 7. Efecto de la suplementación con selenio sobre el peso del huevo, la masa del huevo, las unidades Haugh, el color de la yema y el grosor de la cáscara, según el tratamiento y los días de almacenamiento en el ensayo 2.

	Parámetros				
	Peso huevo (g)	Masa huevo (g)	Unidades Haugh	Color yema	Grosor cáscara (mm)
<i>Tratamiento</i>					
Control	65,5 ^a	60,2 ^a	66,3	28,9	0,35
Adaptación	68,0 ^b	62,5 ^b	67,9	28,7	0,35
Enriquecimiento	67,0 ^{ab}	61,9 ^{ab}	64,6	28,2	0,34
Residual	66,8 ^{ab}	61,7 ^{ab}	66,1	28,8	0,33
<i>Almacenamiento</i>					
1	67,3	62,0	86,0 ^a	26,1 ^a	0,34
7	67,0	61,8	62,7 ^b	29,5 ^b	0,34
14	66,2	61,0	50,0 ^c	30,4 ^c	0,34
<i>Valor P</i>					
T	0,0070	0,0068	NS	NS	NS
A	NS	NS	<0,0001	<0,0001	NS
TxA	NS	NS	NS	NS	NS

Valores con letras distintas son significativamente diferentes $p > 0,05$.

NS = No existe diferencia significativa con $p < 0,05$.

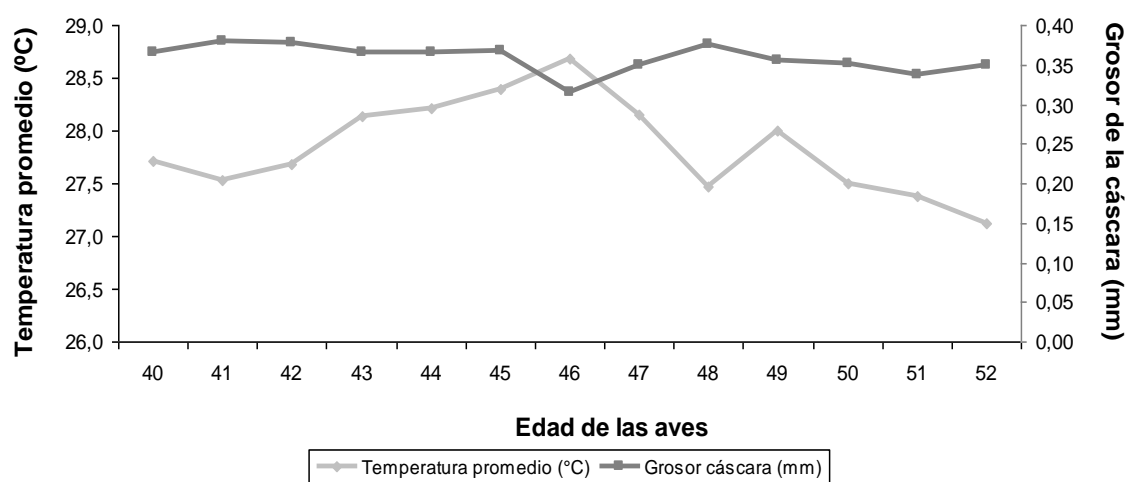


Figura 8. Temperatura (°C) y grosor de la cáscara (mm) según las semanas de edad de las aves del ensayo 1.

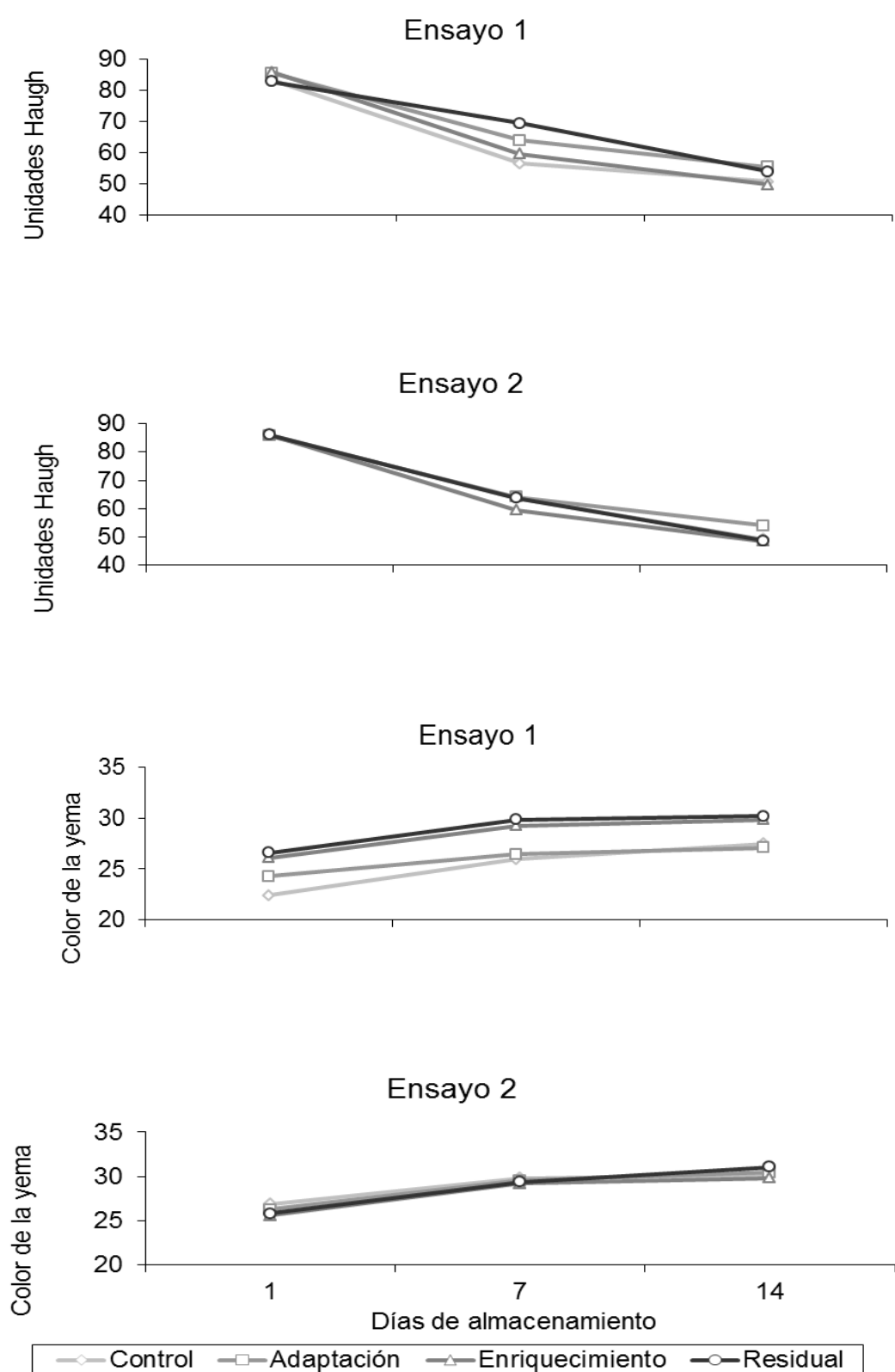


Figura 9. Efecto de los días de almacenamiento de los huevos sobre las unidades Haugh y el color de la yema en cada tratamiento en los ensayos 1 y 2.

Contenido de selenio en huevo

Al adicionar selenio orgánico a la dieta de las gallinas ponedoras se dio un aumento en el contenido de este mineral tanto en el alimento como en el huevo (Figuras 11 y 12). Esto mismo sucedió en las investigaciones de diversos autores (De Lange *et al.* 2005, Mezes y Bokros 2005, Payne *et al.* 2005, Utterback *et al.* 2005, Pan *et al.* 2007, Rey 2007, Chantiratikul *et al.* 2008, Mohiti-Asli *et al.* 2008, Chinrasri *et al.* 2009, Bennett y Cheng 2010, Gjorgovska *et al.* 2012, Invernizzi *et al.* 2013), los cuales suplementaron a las ponedoras con concentraciones entre 0,1 y hasta 5,0 ppm, por periodos comprendidos entre 4 y 25 semanas.

En el alimento balanceado el nivel de selenio mostró una elevación en los periodos de adaptación y enriquecimiento, periodos en los que se suplementó el selenio orgánico a la dieta (Figura 11). Además, se observa como los valores de selenio del ensayo 1 estuvieron siempre por debajo de los del segundo ensayo; lo que se vio reflejado en el huevo.

En ambos ensayos el nivel de selenio en el huevo se analizó en los periodos control, enriquecimiento y residual. En los periodos control y residual, el selenio no fue detectado en el huevo ($10,5 \mu\text{g/L}$), mientras que en el periodo de enriquecimiento se obtuvo una concentración de $0,14 \mu\text{g/g}$ en el primer ensayo y $0,39 \mu\text{g/g}$ en el ensayo 2, debido a la suplementación en la dieta de las aves (Figura 12). En ambos ensayos el peso promedio del huevo es de 62 g en el periodo de enriquecimiento, por lo que un huevo aportaría $8,68 \mu\text{g}$ y $24,18 \mu\text{g}$ respectivamente.

La diferencia entre las concentraciones de selenio, tanto en huevo como en alimento, entre ambos ensayos se puede deber a la variación de este mineral en las distintas materias primas utilizadas para la producción del concentrado; que a su vez radican en los diferentes niveles en suelo. Ya que el contenido de selenio en suelo varía no solo entre países sino que también entre regiones dentro de un mismo país (Lyons *et al.* 2007, Fairweather-Tait *et al.* 2010).

Lo anterior se puede reflejar en los resultados obtenidos en las investigaciones de Mohiti-Asli *et al.* (2008) y Invernizzi *et al.* (2013), en las cuales al suplementar 0,4 ppm de selenio en la dieta de gallinas ponedoras su contenido en huevo fue de 0,6 ppm y 1,4 ppm, respectivamente. Además, Chinrasri *et al.* (2009) mencionan en su estudio como al suplementar 0,3 ppm de selenio orgánico a la dieta lograron un valor de 3,28 ppm en huevo. Estas diferencias se pueden deber al hecho de no haber tomado en cuenta el aporte de selenio que hacen todos los ingredientes de la fórmula.

Con los datos de selenio en alimento y en huevo se obtuvo un porcentaje de transferencia del selenio de la dieta al huevo, el cual representa un 20% en el primer ensayo, y 28% en el ensayo 2.

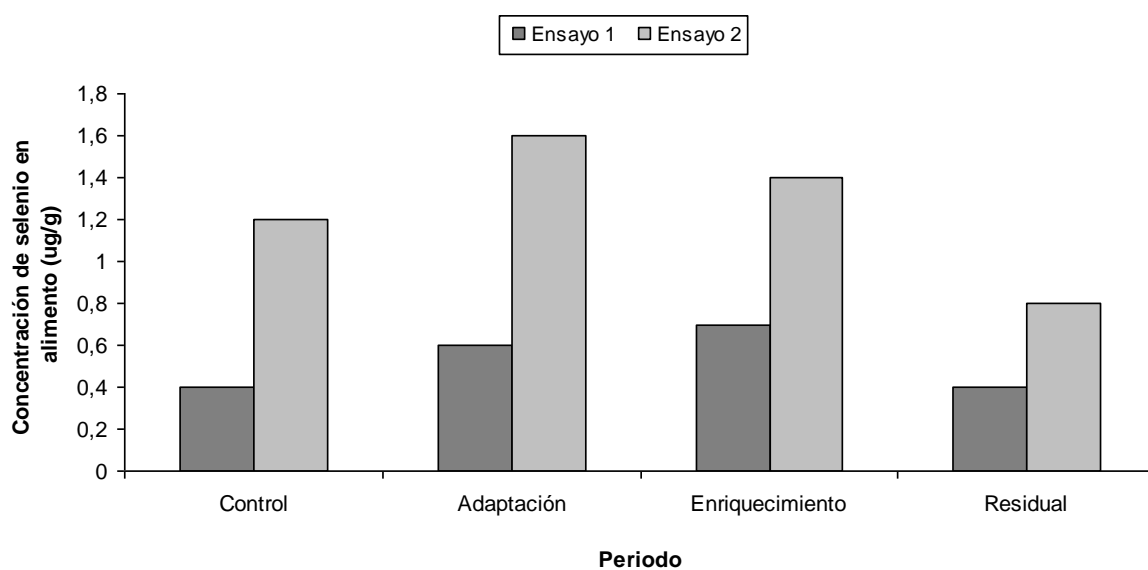


Figura 10. Concentración de selenio en el alimento de las aves según el periodo en ambos ensayos.

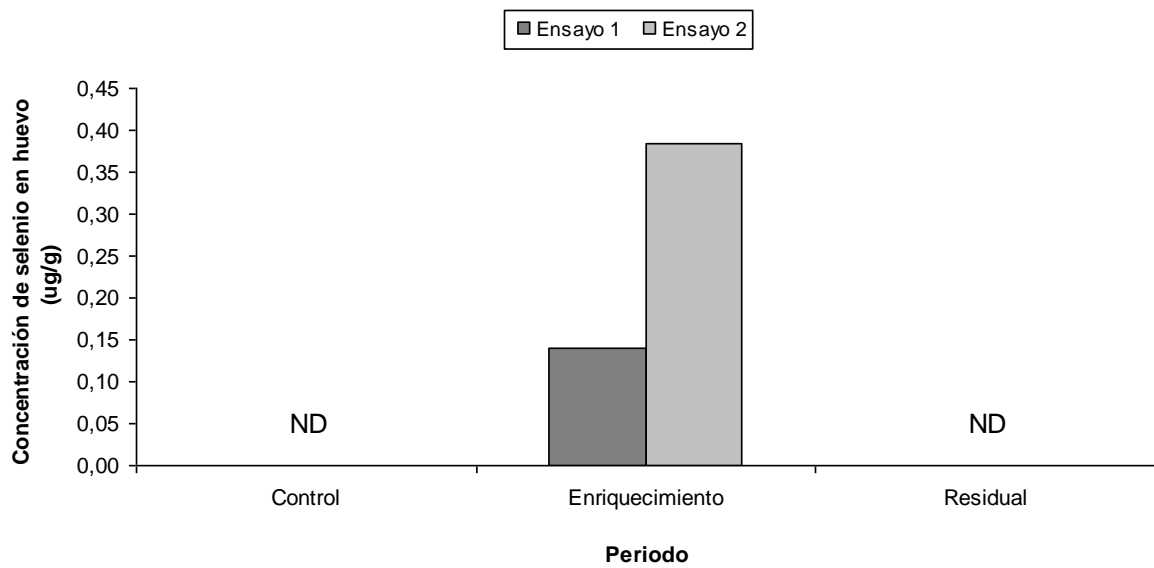


Figura 11. Concentración de selenio en el huevo según los periodos en ambos ensayos.

ND: no detectado. Límite de detección de selenio: 10,5 µg/L.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La suplementación con selenio orgánico en la dieta de gallinas ponedoras no afectó numéricamente los parámetros zootécnicos de: porcentaje de postura, consumo de alimento, peso corporal del ave, peso del huevo, porcentaje de mortalidad, conversión alimenticia y huevos acumulados por ave alojada.

El peso corporal de las aves del ensayo 2 podría haber afectado negativamente su desempeño productivo, generando menos huevos de mayor peso, un aumento en el consumo de alimento, una alta mortalidad y menor porcentaje de postura.

El consumo diario de alimento por parte de las aves reflejó los cambios en la temperatura ambiental, provocando un menor consumo al aumentar la temperatura y viceversa.

En las semanas de suplementación con selenio orgánico la calidad del huevo mostró mejoras en el color de la yema en el ensayo 1. Sin embargo, en el mismo ensayo, el grosor de la cáscara disminuyó, y se le atribuye al estrés calórico generado por el aumento en la temperatura ambiental.

En el ensayo 2 hubo diferencias significativas en el peso y la masa del huevo atribuibles a la suplementación con selenio orgánico en el alimento, mientras que las otras características de calidad del huevo no variaron.

Los días de almacenamiento a temperatura ambiente provocaron la disminución de las unidades Haugh y el aumento en el color de la yema en ambos ensayos. Asimismo, hubo un decrecimiento en el peso y la masa del huevo en las muestras del ensayo 1.

No se dio ninguna interacción entre los distintos tratamientos de la investigación y los días de almacenamiento del huevo a temperatura ambiente.

El selenio orgánico suplementado a las ponedoras (0,4 ppm) llevó a un aumento del nivel de selenio en el huevo, el cual alcanzó la concentración necesaria para registrar al producto como un alimento fuente (14%) y buena fuente (39%) de selenio, que ayudaría a disminuir la deficiencia de ese mineral en la población de Costa Rica.

A futuro se recomienda generar otras investigaciones que lleven a cabo una comparación simultánea entre un grupo control y uno en estudio para generar datos productivos comparables. Además, se pueden realizar estudios en otras etapas del ciclo productivo de la gallina, se podrían hacer análisis del efecto del selenio sobre la actividad de la glutatión peroxidasa y analizar la concentración del selenio en las materias primas del alimento balanceado.

LITERATURA CITADA

- ABOONAJMI, M.; AKRAM, A.; NISHIZU, T.; KONDO, N.; SETAREHDAN, S.K.; RAJABIPOUR, A. 2010. An ultrasound based technique for the determination of poultry egg quality. *Journal of Agricultural Engineering Research* Vol. 56, No. 1: 26–32.
- AKYUREK, H.; OKUR, A.A. 2009. Effect of storage time, temperature and hen age on egg quality in free-range layer hens. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 8 (10): 1953-1958.
- ARCE, S. 2012. Empresas fortalecen negocios con ofertas para vida saludable. Consultado el 7 de marzo del 2013, Sección de Economía, Periódico La Nación. San José, Costa Rica. Disponible en: http://www.nacion.com/archivo/Empresas-fortalecen-negocios-ofertas-saludable_0_1302669737.html.
- ARPÁŠOVÁ, H.; MELLEN, M.; KAČÁNIOVÁ, M.; HAŠČÍK, P.; PETROVI, V.; ČOBANOVÁ, K.; LENG, L. 2009. Effects of dietary supplementation of sodium selenite and selenized yeast on selected qualitative parameters of laying hens eggs. *Slovak Journal of Animal Science* 42(1): 27 – 33.
- ARPÁŠOVÁ, H.; HAŠČÍK, P.; KAČÁNIOVÁ, M.; GÁLIK, B.; GOLIAN, J.; MELLEN, M. 2012. The Effect of Various Forms and Doses of Selenium Supplementation of the Hens Diet on Selected Qualitative Parameters and Freshness of Table Eggs. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies* 45 (1): 11-16.
- ARTHUR, M. A.; RUBIN, G.; WOODBURY, P. G.; SCHNEIDER, R. E.; WEINSTEIN, L. H. 1992. Uptake and accumulation of selenium by terrestrial plants growing on a coal fly ash landfill Part 3. *Environmental Toxicology and Chemistry* 11, 1289–1299.
- ARTHUR, J.R.; MCKENZIE, R.C.; BECKETT, G.J. 2003. Selenium in the immune system. *Journal of Nutrition* 133: 1457S–1459S.

- BARCELOUX, D.G. 1999. Selenium. *Journal Toxicology: Clinical Toxicology* 37: 145–172.
- BARQUERO, S. 2003. Implementación de estándares de calidad de huevo en una empresa avícola. Proyecto de Graduación para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.
- BENAVIDES, A.; RAMÍREZ, H.; ROBLEDO, V.; FUENTES, L.O.; SANDOVAL, A. 2010. Elementos traza y calidad nutricional, casos del yodo, zinc y selenio. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México.
- BENNETT, D.C.; CHENG, K.M. 2010. Selenium enrichment of table eggs. *Poultry Science* 89:2166–2172.
- BOZKURT, Z.; TEKERLI, M. 2009. The Effects of Hen Age, Genotype, Period and Temperature of Storage on Egg Quality. *Journal of Veterinary Medicine Faculty of Kafkas University* 15 (4): 517-524.
- BOZKURT, M.; KÜÇÜKYILMAZ, K.; ÇATLI, A.U.; ÇINAR, M.; BINTAŞ, E.; ÇÖVEN, F. 2012. Performance, egg quality, and immune response of laying hens fed diets supplemented with mannan-oligosaccharide or an essential oil mixture under moderate and hot environmental conditions. *Poultry Science* 91:1379–1386.
- BROADLEY, M.R.; WHITE, P.J.; BRYSON, R.J.; MEACHAM, M.C.; BOWEN, H.C.; JOHNSON, S.E.; HAWKESFORD, M.J.; MCGRATH, S.P.; ZHAO, F.-J.; BREWARD, N.; HARRIMAN, M.; TUCKER, M. 2006. Biofortification of UK food crops with selenium. *Proceedings of the Nutrition Society* 65: 169–181.
- CANAVI. 2006. Ticos comen más pollo. *Avicultura ¡Pura vida! Boletín* 4: 4. Alajuela, Costa Rica. 12 p.

- CAÑARI, C. 2011. El selenio, un elemento poco conocido con un rol biológico importante. Revista de Química, Pontificia Universidad Católica del Perú (PUCP). Volumen 25, nº 1-2. 29-33.
- CARRANCO, M.E.; CALVO, M.C.; CARRILLO, S.; RAMÍREZ, R.; MORALES, R.; SANGINÉS, L.; FUENTE, B.; ÁVILA, E.; PÉREZ-GIL, F. 2011. Crustacean meal in laying hen rations. Effect on the physical quality of the egg stored in different conditions. Cuban Journal of Agricultural Science, Volume 45, Number 2.
- CARRAZZONI, P.; RODRIGUES, E.; PINTO, J.; KETRUY, V.N.; EVÊNCIO-NETO, J. 2012. Egg quality of laying hens in different conditions of storage, ages and housing densities. Revista Brasileira de Zootecnia v.41, n.9, p.2064-2069.
- CHANTIRATIKUL, A.; CHINRASRI, O.; CHANTIRATIKUL, P. 2008. Effect of sodium selenite and zinc-l-selenomethionine on performance and selenium concentration in eggs of laying hens. Asian-Australasian Journal of Animal Science 21:1048–1052.
- CHINRASRI, O.; CHANTIRATIKUL, P.; THOSAIKHAM, W.; ATIWETIN, P.; CHUMPAWADEE, S.; SAENTHAWEESUK, S.; CHANTIRATIKUL, A. 2009. Effect of selenium-enriched bean sprout and other selenium sources on productivity and selenium concentration in eggs of laying hens. Asian-Australasian Journal of Animal Science Vol. 22, No. 12: 1661 – 1666.
- CIGA (Comisión Intersectorial de Guías Alimentarias). 2007. Actualización de lineamientos técnicos para la elaboración de las guías alimentarias de la población costarricense. San José, Costa Rica. 56 p.
- CODEX ALIMENTARIUS. 1987. Principios Generales para la Adición de Nutrientes Esenciales a los Alimentos. CAC/GL 09.

- DE LANGE, L.L.M.; ELFERINK, G.O.; BEEKS, W.; NOLLET, L. 2005. Producing selenium-enriched eggs by using organic and inorganic Se sources in the feed. Presented at XI European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products, Doorwerth, The Netherlands.
- DEVINK, J-MA; CLARK, R.G.; SLATTERY, S.M.; WAYLAND, M. 2008. Is selenium affecting body condition and reproduction in boreal breeding scaup, scoters and ring-necked ducks? *Environmental Pollution*; 152:116–122.
- DRAKE, E.N. 2006. Cancer chemoprevention: selenium as a prooxidant, not an antioxidant. *Medical Hypotheses* 67: 318–322.
- DVORSKA, J; SURAI, P. 2006. Recent advances in selenium nutrition of chicken. 15 International Science Symposium on Nutrition of Domestic Animals. FAO. Radenci, Eslovenia.
- EBEID, T.A.; SUZUKI, T.; SUGIYAMA, T. 2012. High ambient temperature influences eggshell quality and calbindin-D28k localization of eggshell gland and all intestinal segments of laying hens. *Poultry Science* 91:2282–2287.
- EGOROV, I. A.; CHESNOKOVA, N.Y.; IVACHNICK, E.V.; PAPAZYAN, T.T.; SURAI, P.F. 2007. Effect of Sel-Plex® and vitamin E dietary supplementation of laying hens on selenium and vitamin E accumulation in eggs. 23rd International Symposium. Science and Technology in the Feed Industry.
- ELIJAH, O.A.; ADEDAPO, A. 2006. The effect of climate on poultry productivity in Ilorin Kwara State, Nigeria. *International Journal of poultry Science* 5 (11): 1061-1068.
- ENGLMAIEROVÁ, M.; TUMOVÁ, E. 2009. The effect of housing system and storage time on egg quality characteristics. Conference proceeding XIII European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products. Turku, Finland.

- FAIRWEATHER-TAIT, S.J.; COLLINGS, R.; HURST, R. 2010. Selenium bioavailability: current knowledge and future research requirements. *American Journal of Clinical Nutrition* 91: 1484S–1491S, Food Standards Agency.
- FAIRWEATHER-TAIT, S.J.; BAO, Y.; BROADLEY, M.R.; COLLINGS, R.; FORD, D.; HESKETH, J.E.; HURST, R. 2011. Selenium in Human Health and Disease. Antioxidants and redox signaling. Volume 14, Number 7.
- FINISIN, V.I.; PAPAZYAN, T.T.; SURAI, P.F. 2008. Producing specialist poultry products to meet human nutrition requirements: Selenium enriched eggs. *World's Poultry Science Journal*. Vol. 64.
- FORDYCE, F. 2005a. Selenium deficiency and toxicity in the environment. *Essentials of Medical Geology*, Chap. 15, pp. 373–415. Elsevier, London.
- FORDYCE, F. 2005b. *Essentials of Medical Geology: Selenium deficiency and toxicity in the environment*. Elsevier, pp. 373–415. London.
- GANICHKIN, O.M.; XU, X.M.; CARLSON, B.A.; MIX, H.; HATFIELD, D.L.; GLADYSHEV, V.N.; WAHL, M.C. 2008. Structure and catalytic mechanism of eukaryotic selenocysteine synthase. *Journal of Biological Chemistry* 283: 5849–5865.
- GJORGOVSKA, N.; KIRIL, F.; VESNA, L.; TOSHO, K. 2012. The effect of different levels of selenium in feed on egg production, egg quality and selenium content in yolk. University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Lasi, Rumania. *Trabajos Científicos - Serie Zootecnia*: Vol. 57.
- HAQ, R.; HAQ, E.; KHAN, M.F. 2011. Correlation between body weight and egg weight of Dokki and Fayoumi hen in Pakistan. *Journal of Basic and Applied Sciences* Vol. 7, No. 2, 165-168.
- HARMS, R.H.; COSTA, P.T.; MILES, R.D. 1982. Daily feed intake and performance of laying hens grouped according to their body weight. *Poultry Science* 1021–1024.

- HASSANIEN, H.H.M. 2011. Effect of force molting on egg production and quality of laying hens. *Asian Journal of Poultry Science* 5: 13-20.
- HATFIELD, D.; BERRY, M.; GLADYSHEV, V. 2006. Selenium: Its molecular biology and role in human health, 2ª edición. Springer: Nueva York, pp.1-8.
- HAYGARTH, P.M.; COOKE, A.I.; JONES, K.C.; HARRISON, A.F.; JOHNSTON, A.E. 1993. Long-term change in the biogeochemical cycling of atmospheric selenium: deposition to plants and soil. *Journal of Geophysical Research* 98: 16769–16776.
- HEINZ, G.H. 1996. Selenium in birds. *Environmental contaminants in wildlife: interpreting tissue concentrations*. pp. 447-458. Pensacola, FL.
- HOFFMANN, P.R.; BERRY, M.J. 2008. The influence of selenium on immune responses. *Molecular Nutrition and Food Research* 52: 1273–1280.
- HOOGE, D. 2007. Laying hens benefit from selenium yeast. *Feedstuffs* Vol. 79 No. 14.
- HY-LINE. 2013. Technical Update: The science of egg quality.
- INSTITUTE OF MEDICINE. 2000. Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. National Academy Press. Washington, DC. 529 p.
- INVERNIZZI, G.; AGAZZI, A.; FERRONI, M.; REBUCCI, R.; FANELLI, A.; BALDI, A.; DELL'ORTO, V.; SAVOINI, G. 2013. Effects of inclusion of selenium-enriched yeast in the diet of laying hens on performance, eggshell quality, and selenium tissue deposition. *Italian Journal of Animal Science* volume 12:e1.
- JACQUES, K.A. 2006. Zoonotic disease: not just from birds, and not just in the flu. *Nutritional biotechnology in the feed and food industries: Proceedings of Alltech's 22nd Annual Symposium*, Lexington, Kentucky, USA. Nottingham University Press, UK. pp. 149-159.

- JIN, Y.H.; LEE, K.T.; LEE, W.I.; HAN, Y.K. 2011. Effects of Storage Temperature and Time on the Quality of Eggs from Laying Hens at Peak Production. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* Volume 24, No. 2: 279 – 284.
- JOHNSON, C.C.; FORDYCE, F.M.; RAYMAN, M.P. 2010. Factors controlling the distribution of selenium in the environment and their impact on health and nutrition. Symposium on Geographical and geological influences on nutrition. *Proceedings of the Nutrition Society* 69: 119–132.
- KIM, Y.Y.; MAHAN, D.C. 2003. Biological aspects of selenium in farm animals. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 16:435-444.
- KING, R.; CHOCT, M.; ROBERTS, J.R. 2001. Effect of selenium level and source on egg quality. *Recent Advances in Animal Nutrition in Australia*, Volume 13.
- KIRUNDA, D.F.K.; MCKEE, S.R. 2000. Relating Quality Characteristics of Aged Eggs and Fresh Eggs to Vitelline Membrane Strength as Determined by a Texture Analyzer. *Poultry Science* 79:1189–1193.
- KRITTAPHOL, W.; MCDOWELL, A.; THOMSON, C.D.; MIKOV, M.; FAWCETT, J.P. 2011. Biotransformation of L-Selenomethionine and selenite in rat gut contents. *Biological Trace Element Research* 144(1-3): 1358-69.
- KOELKEBECK, K.W. 1999. *What Is Egg Quality and Conserving It?* University of Illinois.
- LACIN, E.; YILDIZ, A.; ESENBUGA, N.; MACIT, M. 2008. Effects of differences in the initial body weight of groups on laying performance and egg quality parameters of Lohmann laying hens. *Czech Journal of Animal Science*, 53 (11): 466–471.
- LECH, T. 2002. Suicide by sodium tetroxoselenate (VI) poisoning. *Forensic Science International* 130: 44–48.

- LEESON, S. 2001. Feeding programs for laying hens. American Soybean Association Technical Bulletin Vo. PO49.
- LIEM, R. 2007. Selenium yeast boosts layer competitiveness. Asian Poultry Magazine.
- LIN, H.; MERTENS, K.; KEMPS, B.; GOVAERTS, T.; DE KETELAERE, B.; DE BAERDEMAEKER, J.; DECUYPERE, E.; BUYSE, J. 2004. New approach of testing the effect of heat stress on eggshell quality: Mechanical and material properties of eggshell and membrane. *British Poultry Science* 45:476–482.
- LU, J.; BERNDT, C.; HOLMGREN, A. 2009. Metabolism of selenium compounds catalyzed by the mammalian selenoprotein thioredoxin reductase. *Biochimica et Biophysica Acta* 1790: 1513–1519.
- LYONS, M.P.; PAPAZYAN, T.T.; SURAI, P.F. 2007. Selenium in Food Chain and Animal Nutrition: Lessons from Nature -Review-. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* Vol. 20, No. 7: 1135 – 1155.
- MACFARQUHAR, J.K.; BROUSSARD, D.L.; MELSTROM, P.; HUTCHINSON, R.; WOLKIN, A.; MARTIN, C.; BURK, R.F.; DUNN, J.R.; GREEN, A.L.; HAMMOND, R.; SCHAFFNER, W.; JONES, T.F. 2010. Acute selenium toxicity associated with a dietary supplement. *Archives of Internal Medicine* 170: 256–261.
- MACK, L.A.; FELVER-GANT, J.N.; DENNIS, R.L.; CHENG, H.W. 2013. Genetic variation alter production and behavioral responses following heat stress in 2 strains of laying hens. *Poultry Science* 92, 285–294.
- MARDER, J.; ARAD, Z. 1989. Panting and acid-base regulation in heat stressed birds. *Comparative Biochemistry and Physiology: A Comparative Physiology* 94, 395–400.

- MARTENS, D.A.; SUAREZ, D.L. 1996. Selenium speciation of soil/sediment determined with sequential extractions and hydride generation atomic absorption spectrophotometry. *Environmental Science and Technology* 31: 133–139.
- MASHALY, M.M.; HENDRICKS, G.L.; KALAMA, M.A.; GEHAD, A.E.; ABBAS, A.O.; PATTERSON, P.H. 2004. Effect of Heat Stress on Production Parameters and Immune Responses of Commercial Laying Hens. *Poultry Science* 83:889–894.
- MEHDI, Y.; HORNICK, J.L.; ISTASSE, L; DUFRASNE, I. 2013. Selenium in the Environment, Metabolism and Involvement in Body Functions. *Molecules* 18: 3292-3311.
- MELESSE, A.; MAAK, S.; PINGEL, H.; LENGERKEN, G. V. 2013. Assessing the Thermo-Tolerance Potentials of Five Commercial Layer Chicken Genotypes Under Long-Term Heat Stress Environment as Measured by Their Performance Traits. *Journal of Animal Production Advances* 3(8): 254-264.
- MEZES, M.; BOKROS, Z. 2005. Improvement in egg selenium content through addition of Sel-Plex® organic selenium in layer diets. Poster presented at Alltech's 21st Annual Symposium on Nutritional Biotechnologies in the Feed and Food Industries. Lexington, Kentucky.
- MILES, R.D.; JACOB, J.P. 2000. Feeding the Commercial Egg-Type Laying Hen. Department of Dairy and Poultry Sciences, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
- MINISTERIO DE SALUD. 2010. Encuesta Nacional 2008-2009. Micronutrientes. San José, Costa Rica. 2p.
- MINISTERIO DE SALUD. 2012. Encuesta Nacional 2008-2009. Fascículo 2: Micronutrientes. San José, Costa Rica. 117 p.

- MOHITI-ASLI, M.; SHARIATMADARI, F.; LOTFOLLAHIAN, H.; MAZUJI, M.T. 2008. Effects of supplementing layer hen diets with selenium and vitamin E on egg quality, lipid oxidation and fatty acid composition during storage. *Canadian Journal of Animal Science* 88(3): 475-483.
- MOHITI-ASLI, M.; SHARIATMADARI, F.; LOTFOLLAHIAN, H. 2010. The influence of dietary vitamin E and selenium on egg production parameters, serum and yolk cholesterol and antibody response of laying hen exposed to high environmental temperature. *Arch. Geflügelk.*, 74 (1). S. 43–50.
- MORÉKI, J.C. 2008. Feeding strategies in poultry in hot climate. *Poultry Today* POU 0601.
- NA, J.C.; KIM, S.H.; JANG, D.B.; KIM, J.H.; YU, D.J.; KANG, G.H.; KIM, H.K.; LEE, D.S.; LEE, S.J.; LEE, J.C.; LEE, W.J. 2006. Effects of dietary organic selenium levels on performance and selenium retention in broiler chickens and laying hens. *Korean Journal of Poultry Science* 33:255–262.
- NRC (National Research Council). 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th revised edition. National Academy Press, Washinton, DC.
- OHTA, Y.; SUZUKI, K.T. 2008. Methylation and demethylation of intermediates selenide and methylselenol in the metabolism of selenium. *Toxicology and Applied Pharmacology* 226: 169–177.
- PAN, C.; HUANG, K.; ZHAO, Y.; QIN, S.; CHEN, F.; HU, Q. 2007. Effect of Selenium Source and Level in Hen's Diet on Tissue Selenium Deposition and Egg Selenium Concentrations. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 55: 1027-1032.
- PAPP, L.; LU, J.; HOLMGREN, A.; KHANNA, K. 2007. From Selenium to Selenoproteins: Synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxidants and Redox Signaling* 9: 775-806.

- PATON, N.D.; CANTOR, A.H.; PESCATORE, A.J.; SMITH, C.A. 2002. The effect of dietary selenium source and level on the uptake of selenium by developing chick embryos. *Poultry Science* 81:1548–1554.
- PAYNE, R. 2004. The effects of inorganic and organic selenium sources on growth performance, carcass traits, tissue mineral concentrations, and enzyme activity in poultry. A Dissertation Submitted to the Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in The Interdepartmental Program in Animal Sciences. Louisiana State University.
- PAYNE, R.L.; LAVERGNE, T.K.; SOUTHERN, L.L. 2005. Effect of inorganic versus organic selenium on hen production and egg selenium concentration. *Poultry Science* 84:232–237.
- PÉREZ-BONILLA, A.; JABBOUR, C.; FRIKHA, M.; MIRZAIE, S.; GARCIA, J.; MATEOS, G.G. 2012. Effect of crude protein and fat content of diet on productive performance and egg quality traits of brown egg-laying hens with different initial body weight. *Poultry Science* 91:1400–1405.
- PERIAGO, M.J. 2012. *Práctica: Higiene, inspección y control de huevos de consumo*. Universidad de Murcia.
- PICKERING, I.J.; PRINCE, R.C.; SALT, D.E.; GEORGE, G.N. 2000. Quantitative, chemically specific imaging of selenium transformation in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97:10717-10722.
- PINTO, J.T.; LEE, J.I.; SINHA, R.; MACEWAN, M.E.; COOPER, A.J. 2011. Chemopreventive mechanisms of alpha-keto acid metabolites of naturally occurring organoselenium compounds. *Amino Acids* 41(1): 29-41.

- RAGNI, L.; AL-SHAMI, A.; BERARDINELLI, A.; MIKHAYLENKO, G.; TANG, J. 2007. Quality evaluation of shell eggs during storage using a dielectric technique. *American Society of Agricultural and Biological Engineers* Vol. 50(4): 1331-1340.
- RAYMAN, M.P. 2002. The argument for increasing selenium intake. *Proceedings of Nutrition Society* 61: 203–215.
- RAYMAN, M.P. 2004. The use of high-selenium yeast to raise selenium status: how does it measure up? *British Journal of Nutrition* 92: 557–573.
- RAYMAN, M.P. 2005. Selenium in cancer prevention: a review of the evidence and mechanism of action. *Proceedings of Nutrition Society* 64:527–542.
- RAYMAN, M.P. 2008. Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. *British Journal of Nutrition* 100: 254–268.
- REILLY, C. 2006. *Selenium in food and health*. Second edition. Springer, New York, NY. 199 pp.
- REY, M. 2007. Evaluación de la producción de huevos enriquecidos con selenio en el centro de investigación y capacitación San Miguel de la Universidad de La Salle. Trabajo de grado para optar al título de Zootecnista. Facultad de Zootecnia, Universidad de La Salle. Bogotá, Colombia.
- RIAZ, M.; MEHMOOD, K.T. 2012. Selenium in human health and disease: a review. *Journal of Postgraduate Medical Institute* 26(2): 120-33.
- ROBERTS, J.R.; BALL, W. 1998. Effects of heat stress on egg and egg shell quality in five strains of laying hen. *Proceedings, Australian Poultry Science Symposium*.
- ROTRUCK, J.T.; POPE, A.L.; GANTHER, H.E.; SWANSON, A.B.; HAFEMAN, D.G.; HOEKSTRA, W.G. 1973. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 179:588-590.

- RTCA 67.01.60:10. Reglamento Técnico Centroamericano: Etiquetado nutricional de productos alimenticios preenvasados para consumo humano para la población a partir de 3 años de edad. 2011.
- RUTZ, F.; PAN, E.A.; XAVIER, G.B.; ANCIUTI, M.A. 2003. Meeting selenium demands of modern poultry: Responses to Sel-Plex® organic selenium in broiler and breeder diets. Proceedings 19th Alltech's Annual Symposium, Nottingham, UK. Pp 147-161.
- SAGER, M. 1993. Environmental Contamination, pp. 403–476. Elsevier, Amsterdam.
- SÁNCHEZ, J. 2012. Suplementación con selenio orgánico y su efecto sobre el desempeño productivo y reproductivo de vacas lecheras en pastoreo. Tesis presentada para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 63 p.
- SCHEIDELER, S.E.; WEBER, P.; MONSALVE, D. 2010. Supplemental vitamin E and selenium effects on egg production, egg quality, and egg deposition of α -tocopherol and selenium. Journal of Applied Poultry Research 19:354–360.
- SCHRAUZER, G.N. 2000. Selenomethionine: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. Journal of Nutrition 130: 1653-1656.
- SHCHEDRINA, V.; ZHANG, Y.; LABUNSKYY, V.; HATFIELD, D.; GLADYSHEV V. 2010. Structure–Function Relations, Physiological Roles, and Evolution of Mammalian ER-Resident Selenoproteins. Journal Antioxidants and redox signaling. Volume 12, Number 7.
- SIYAR, S.A.H.; ALIARABI, H.; AHMADI, A.; ASHORI, N. 2007. Effect of different storage conditions and hen age on egg quality parameters. Australian Poultry Science Symposium, Sydney, Australia. pp. 106-109.

- SKŘIVAN, M.; SIMANE, J.; DLOUHA, G.; DOUCHA, J. 2006. Effect of dietary sodium selenite, Se-enriched yeast and Se-enriched Chlorella on egg Se concentration, physical parameters on eggs and laying hens production. *Czech Journal of Animal Science* 51:163-167.
- SKŘIVAN, M.; MAROUNEK, M.; ENGLMAIEROVÁ, M.; SKŘIVANOVÁ, V. 2013. Influence of dietary vitamin C and selenium, alone and in combination, on the performance of laying hens and quality of eggs. *Czech Journal of Animal Science* 58(2): 91–97.
- SPALLHOLZ, J.E.; BOYLAN, L.M.; LARSEN, H.S. 1990. Advances in understanding selenium's role in the immune system. *Annals of the New York Academy of Science* 587: 123–139.
- STANLEY, V.G.; YANCY, V.; GRAY, C.; KRUEGER, W.F.; SEFTON, A.E. 2004. Single and Combined Effects of Yeast Cell Wall Residue and Sel-Plex® on Production and Egg Quality of Laying Hens. *Proceedings of Alltech's 20th Annual Symposium*.
- STAR, L.; KEMP, B.; VAN DEN ANKER, I.; PARMENTIER, H. K. 2008. Effect of Single or Combined Climatic and Hygienic Stress in Four Layer Lines: 1. Performance. *Poultry Science* 87:1022–1030.
- SURAI, P.F. 2000a. Organic selenium: Benefits to animals and humans, a biochemists view. *Proceedings of the Alltech's 16th Annual Symposium, Thrumpton, Nottingham*, pp: 205-260.
- SURAI, P. F. 2000b. Effect of the selenium and vitamin E content of the maternal diet on the antioxidant system of the yolk and the developing chick. *British Poultry Science* 41:235-243.
- SURAI, P.F. 2002. *Naturals antioxidants in avian nutrition and reproduction*. Nottingham: Nottingham University Press.

- SURAI, P. F.; YAROSHENKO, F.; DVORSKA, J.; SPARKS, N. 2003a. Selenium-enriched eggs can improve the human diet. *Feed mix journal*: Volume 11 Number 5.
- SURAI, P.F.; KARADAS, F.; SPARKS, N. 2003b. The importance of antioxidants in poultry. *Proceeding of Nineteenth Annual Carolina Poultry Conference*. North Carolina, USA.
- SURAI, P. F. 2006a. *Selenium in Nutrition and Health*. Nottingham University Press, Nottingham.
- SURAI, P. F. 2006b. The move toward seleno-eggs: making nature's perfect food even better. *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries. Proceedings of Alltech's 22nd Annual Symposium*. Nottingham University Press, Nottingham, UK. pp. 181-188.
- SURAI, P. F.; KARADAS, F.; PAPPAS, A. C.; SPARKS, N. H. 2006. Effect of organic selenium in quail diet on its accumulation in tissues and transfer to the progeny. *British Poultry Science* 47:65-72.
- SUZUKI, K.T.; KURASAKI, K.; SUZUKI, N. 2007. Selenocysteine betalyase and methylselenol demethylase in the metabolism of Se-methylated selenocompounds into selenide. *Biochimica and Biophysica Acta* 1770: 1053–1061.
- TALUKDER, S.; ISLAM, T.; SARKER, S.; ISLAM, M.M. 2010. Effects of environment on layer performance. *Journal of the Bangladesh Agricultural University* 8(2): 253–258.
- TAMURA, T.; YAMAMOTO, S.; TAKAHATA, M.; SAKAGUCHI, H.; TANAKA, H.; STADTMAN, T.C.; INAGAKI, K. 2004. Selenophosphate synthetase genes from lung adenocarcinoma cells: Sps1 for recycling L-selenocysteine and Sps2 for selenite assimilation. *Proceeding of the National Academy of Sciences* 101: 16162–16167.

- TERRY, N.; ZAYED, A. M.; DE SOUZA, M. P.; TARUN, A. S. 2000. Selenium in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology* 51:401-432.
- TONA, K.; BAHÉ, K.; KAMERS, B.; MERTENS, K.; KEMPS, B.; ONAGBESAN, O.M.; DECUYPERE, E.; GBEASSOR, M. 2013. Effects of Egg Storage Conditions on Eggshell Resonant Frequency and Albumen Characteristics. *International Journal of Poultry Science* 12 (3): 130-134.
- USTUROI, M.G. 2011. Contribution regarding the effect provided by storage conditions on quality of consumption eggs. Fascículo: Ecotoxicología, Zootecnia y Tecnología de la Industria Alimentaria. Universidad de Oradea.
- UTTERBACK, P.L.; PARSONS, C.M.; YOON, I.; BUTLER, J. 2005. Effect of Supplementing Selenium Yeast in Diets of Laying Hens on Egg Selenium Content. *Poultry Science* 84:1900–1901.
- VUKASINOVIC, M.; MIHAILOVIC, R.; SEKLER, M.; KALJEVIC, V.; KURCUBIC, V. 2006. The impact of the selenium content of laying hen feeds. *Arch. Gefle lkd.* 70:91–96.
- WHO (World Health Organization). 2004. Vitamin and mineral requirements in human nutrition. Second edition. World Health Organization, pp. 194–216.
- WHO (World Health Organization), FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). 2006. Guidelines on food fortification with micronutrients. WHO Publications.
- YAHAV, S.; SHINDER, D.; RAZPAKOVSKI, V.; RUSAL, M.; BAR, A. 2000. Lack of response of laying hens to relative humidity of high ambient temperature. *British Poultry Science* 41: 660-663.
- YANG, G.Q.; WANG, S.Z.; ZHOU, R.H.; SUN, S.Z. 1983. Endemic selenium intoxication of humans in China. *American Journal of Clinical Nutrition* 37: 872–881.

YAROSHENKO F., DVORSKA J., SURAI P., SPARKS N. 2003. Selenium-enriched eggs as a source of selenium for human consumption. *Journal of Applied Biotechnology, Food Science and Policy* 1(1):13-23.

YILMAZ, A.A.; BOZKURT, Z. 2009. Effects of hen age, storage period and stretch film packaging on internal and external quality traits of table eggs. *Artículos científicos Zootecnia y Biotecnología*, vol. 42 (2).

Anexos

Anexo 1. Protocolo para el análisis de calidad del huevo.

1. Colocar el huevo en una balanza digital para medir el peso, y anotar el dato.
2. Luego romper el huevo con cuidado y colocar su contenido en una superficie plana.
3. Con un pie de rey digital medir la altura de la albúmina densa del huevo, colocando el medidor a un centímetro de la yema del huevo. Se pueden tomar dos o más mediciones para evitar errores y luego sacar un promedio de la altura. Anotar el o los valores.
4. Con los datos de peso del huevo y de la altura de la albúmina se calculan las unidades Haugh utilizando la siguiente ecuación:

$$UH = 100 \log (H - (1,7 G)^{0,37}) + 7,6$$

Donde:

UH: unidades Haugh.

H: altura de la albúmina.

G: peso del huevo en gramos.

Según el resultado de las unidades Haugh que se obtenga se puede clasificar la calidad como sigue:

Unidades Haugh	Descripción cualitativa
90 – 100	Excelente
80 – 90	Muy bueno
70 – 80	Aceptable
65 – 70	Marginal
60 – 65	Resistencia del consumidor
55 – 60	Pobre
< de 55	Inaceptable

Fuente: Periago (2012).

5. Para medir el color de la yema del huevo tomamos un abanico de color, que le asigna un número a cada tonalidad, y lo colocamos lo más cerca de la yema para determinar cuál es el tono que más se le asemeja.

De acuerdo con Monge (2001), los consumidores de Costa Rica prefieren que el color de la yema se encuentre entre los colores 10 y 13 del abanico de colores (mencionado por Barquero 2003).

6. Con el pie de rey se mide el grosor de la cáscara del huevo. Para obtener una mejor determinación realizar dos o tres medidas de la cáscara en distintas zonas y promediarlas.

Periago (2012) menciona que huevos con un grosor de cáscara menor a 0,35 mm son poco apropiados para la venta por su fragilidad.