

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

ESCUELA DE POST GRADO

PROGRAMA DOCTORAL EN CIENCIA ANIMAL



**“EFECTO DE DIETAS ENRIQUECIDAS CON VITAMINA E
Y SELENIO ORGÁNICO EN EL COMPORTAMIENTO
PRODUCTIVO Y CALIDAD FUNCIONAL DE LA CARNE
DE TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*)”**

**Tesis para optar el Grado de:
*Doctoris Philosophiae (Ph.D.)***

HÉCTOR RODRÍGUEZ PAPUICO

Lima – Perú

2014

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POST GRADO

DOCTORADO EN CIENCIA ANIMAL

**“EFECTO DE DIETAS ENRIQUECIDAS CON VITAMINA E Y
SELENIO ORGÁNICO EN EL COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO
Y CALIDAD FUNCIONAL DE LA CARNE DE TRUCHA ARCO IRIS
(*Oncorhynchus mykiss*)”**

Presentado por

HÉCTOR RODRÍGUEZ PAPUICO

Sustentado y aprobado ante el siguiente jurado

Ph.D. Víctor Guevara Carrasco

PRESIDENTE

Ph.D. Sergio Rojas Montoya

PATROCINADOR

Ph.D. Mariano Echevarría Rojas

MIEMBRO

Ph.D. Carlos Gómez Bravo

MIEMBRO

Ph.D. Felipe Antonio San Martín Howard

MIEMBRO EXTERNO

A la memoria de mi madre

AGUEDA

Que en vida me inculcó superación constante, amor al trabajo, cariño a nuestros semejantes y honestidad ante todo, valores que trato de cumplir a cada instante.

Con eterno cariño:

A ZENOBIA ELENA, mi esposa por su permanente comprensión e inagotable apoyo.

A RICARDO HÉCTOR y GUSTAVO ENRIQUE, mis hijos que fueron la fuente de mi motivación y perseverancia.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Sergio Rojas Montoya, por patrocinar la presente Tesis de Investigación y por todo el apoyo brindado, por las revisiones y comentarios en forma incondicional en el desarrollo de la investigación.

A los miembros del Comité Consejero: Dr. Mariano Echevarría R., Dr. Víctor Guevara C., Dr. Carlos Gómez B. y Dr. Felipe San Martín H. por sus consejos y orientaciones en la investigación.

A la Dirección Regional de Pesquería – Junín, al haber permitido experimentar en el Centro Piscícola de “El Ingenio”, distrito de Ingenio, que a su vez cuna de mi nacimiento.

A todos y a cada uno de los trabajadores del Centro Piscícola de “El Ingenio”, mi total gratitud por haberme apoyado cada vez que solicitaba, y en forma especial al biólogo Rubel Sarzo Inga, Jefe del Centro Piscícola.

Al Mg.Sc. Víctor Vergara Rubín, Jefe de la Planta de Alimentos Balanceados de la Universidad Nacional Agraria La Molina, por el apoyo brindado en la elaboración de los pellets utilizados en el experimento.

A mis compañeros de estudios del Programa Doctoral: Víctor Hidalgo Lozano, Pedro Ciriaco Castañeda, Marcial Cumpa Reyes, Jorge Guevara Vásquez, José Sosa León, Humberto Rodríguez Landeo y Gregorio Argote Quispe.

A todas las personas que de una u otra forma hicieron posible la culminación del presente trabajo de investigación.

**EFECTO DE DIETAS ENRIQUECIDAS CON VITAMINA E Y SELENIO
ORGÁNICO EN EL COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO Y CALIDAD
FUNCIONAL DEL FILETE DE TRUCHA ARCO IRIS**

(Oncorhynchus mykiss)

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar dietas enriquecidas con vitamina E y selenio orgánico sobre el comportamiento productivo y la calidad funcional del filete de truchas Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*). El estudio se hizo en el Centro Piscícola «El Ingenio» en Huancayo, Perú, con 4200 truchas juveniles (164 g de peso) durante 40 días. Se trabajó con una dieta basal (tratamiento 1), dos niveles de vitamina E (25 y 50 ppm y tres niveles de selenio orgánico (0,15; 0,25 y 0,35 ppm). Se asignaron 600 peces por cada uno de los siete tratamientos y se tuvo tres repeticiones por cada uno (n=200) en un diseño experimental completamente al azar. Se evaluó la ganancia de peso, conversión alimenticia y eficiencia proteica. Además, se determinó el contenido de vitamina E, selenio, nitrógeno de bases volátiles totales y el estado de oxidación en el filete congelado. Los datos se sometieron al análisis de varianza, la prueba múltiple de Tukey y la prueba de Dunnett. La suplementación de la dieta con 50 ppm de vitamina E y 0,35 ppm de selenio orgánico mejoró la ganancia de peso, la conversión alimenticia y la eficiencia proteica ($p < 0,05$); asimismo, esta dieta mejoró la calidad funcional del filete de trucha en relación al grupo control ($p < 0,05$), al tener la capacidad de almacenar 0,23 mg de selenio/kg de filete.

**EFFECT OF DIETS ENRICHED WITH VITAMIN E AND ORGANIC SELENIUM
ON THE PRODUCTIVE PERFORMANCE AND MEAT QUALITY OF RAINBOW
TROUT (*Oncorhynchus mykiss*)**

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate diets enriched with vitamin E and organic selenium on the productive performance and meat quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). The study was carried out in the fish farm «El Ingenio» in Huancayo, Peru with 4200 juvenile trout (164 g of body weight) during 40 days. A basal diet (treatment 1), two levels of vitamin E (25 and 50 ppm) and three levels of organic selenium (0,15; 0,25 and 0,35 ppm) were used. In the study, 600 trout were assigned per each of the seven treatments, using three repetitions per treatment (n=200) in a completely randomized design. Body weight gain, feed conversion ratio, and protein efficiency ratio were evaluated. Besides, in the frozen meat content of vitamin E, selenium and total volatile basic nitrogen, and the oxidation state were determined. Data was processed by the analysis of variance, the Tukey multiple comparison test and the Dunnett's test. The diet supplemented with 500 ppm of vitamin E and 0,35 ppm of organic selenium improved body weight gain, feed conversion ratio and protein efficiency ratio ($p<0,05$). Likewise, this diet improved the meat quality in relation to the control group ($p<0,05$) due to its capacity to store 0,23 mg of selenium per kilogram of trout meat.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	01
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	03
2.1	EL SELENIO	03
2.1.1	Generalidades	03
2.1.2	Selenio Orgánico	04
2.1.3	Absorción, Metabolismo y Excreción del Selenio	05
2.1.4	Toxicidad	07
2.1.5	El selenio en la Nutrición de Animales de Granja	08
2.1.6	El selenio en Nutrición de Peces	11
2.2	VITAMINA E	15
2.2.1	Estructura Química	16
2.2.2	Absorción, Metabolismo y Excreción de la Vitamina E	18
2.2.3	Toxicidad	21
2.2.4	Funciones de la Vitamina E	22
2.2.5	La vitamina E y el Selenio en la Nutrición de Animales de Granja	25
2.2.6	La vitamina E y el Selenio en la Nutrición de Peces	26
2.3	ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO	29
2.3.1	Radicales Libres	29
2.3.2	Formación de los Radicales Libres	30
2.3.3	Estrés Oxidativo	32

2.3.4	Efecto Biológico y Daños Ocasionados por los Radicales Libres	33
2.3.5	Daño en Lípidos	33
2.3.6	Daño en las Proteínas	34
2.3.7	Daño al ADN	35
2.3.8	Daño a los Carbohidratos	36
2.3.9	Sistema de Defensa Antioxidante	37
a)	Antioxidantes enzimáticos	38
a.1)	Superóxido dismutasa (SOD)	38
a.2)	Catalasa (CAT)	
a.3)	Glutación Peroxidasa (GSH-Px) dependiente del selenio	
a.4)	Glutación peroxidasas no dependientes del Selenio	43
a.5)	Glutacion peroxidasa (GSH-Px) en el sistema biológico	43
a.6)	Glutacion reductasa (GR)	44
b)	Antioxidantes no enzimáticos	45
b.1)	Vitamina C	45
b.2)	Vitamina A y beta-carotenos	46
2.4	ALIMENTOS FUNCIONALES	47
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	50
3.1	LUGAR DE EJECUCIÓN	50
3.2	INSTALACIONES	50
3.3	ANIMALES EXPERIMENTALES	51

3.4	DIETAS EXPERIMENTALES Y TRATAMIENTOS	51
3.5	DIETA BASAL (DB)	52
3.6	VITAMINA E	52
3.7	SELENIO ORGÁNICO	52
3.8	EL AGUA	54
3.9	SANIDAD	55
3.10	METODOLOGÍA	55
3.10.01	Alimentación	55
3.10.02	Tasa de Alimentación (TA)	56
3.10.03	Ganancia de Peso	56
3.10.04	Conversión Alimenticia (CA)	57
3.10.05	Relación de Eficiencia Proteica (PER)	57
3.10.06	Mortalidad	58
3.10.07	Análisis Químico Proximal	58
	a) De la dieta basal	58
	b) Del músculo de la trucha por tratamiento	58
3.10.08	Determinación de Nitrógeno de Bases Volátiles Totales (N-BVT)	58
3.10.09	Análisis del Estado de Oxidación	59
3.10.10	Contenido de ácidos grasos saturados y poliinsaturados	59
3.10.11	Análisis de Selenio Total	59
3.10.12	Análisis de Vitamina E	59
3.10.13	Diseño Experimental	59

3.10.14	Análisis Estadístico	60
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
4.1	COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE TRUCHAS	61
4.1.1	Ganancia de Peso	61
4.1.2	Conversión Alimenticia	64
4.1.3	Índice de Eficiencia Proteica (PER)	68
4.2	Calidad Funcional de la Carne de Trucha	73
4.2.1	Contenido de Vitamina E en el Músculo	73
4.2.2	Selenio en el Músculo de Trucha	77
4.2.3	Contenido de Proteína y Grasa Muscular de la Trucha	80
4.2.4	Nitrógeno de Bases Volátiles Totales (N-BVT)	84
4.2.5	Determinación de Malondialdehído (MDA)	87
V.	CONCLUSIONES	90
VI.	RECOMENDACIONES.	91
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
VIII.	ANEXOS	120

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1:	Formas de presentación del selenio.	03
Cuadro 2:	Clasificación y abreviatura de los radicales libres.	31
Cuadro 3:	Principales selenoproteínas en los mamíferos.	41
Cuadro 4:	Algunos alimentos funcionales y sus beneficios para la salud.	49
Cuadro 5:	Ingredientes utilizados en la dieta basal (DB).	52
Cuadro 6:	Contenido nutricional de la dieta basal para truchas.	53
Cuadro 7:	Fórmula de premezcla de vitaminas y minerales de la dieta basal. (cantidades por tonelada de alimento).	54
Cuadro 8:	Ganancia de Peso (GP) de truchas por tratamiento.	63
Cuadro 9:	Conversión Alimenticia (CA) de las truchas por tratamiento (kg dieta/kg trucha).	66
Cuadro 10:	Índice de eficiencia proteica (PER) de truchas en estudio.	70
Cuadro 11:	Vitamina E en truchas de los siete tratamientos dietéticos (mg vitamina E /kg muestra).	75
Cuadro 12:	Valores de selenio en truchas de los siete tratamientos dietéticos (mg de selenio / kg de muestra).	78
Cuadro 13:	Análisis químico proximal del músculo de trucha en base fresca (una sola muestra por tratamiento).	81
Cuadro 14:	Resumen del contenido de familias de ácidos grasos de la trucha.	82
Cuadro 15:	Familias de ácidos grasos del músculo de trucha.	83
Cuadro 16:	Contenido de nitrógeno de bases volátiles totales (n-bvt).	85
Cuadro 17:	Prueba del ácido tiobarbitúrico (tba).	88

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1:	Estructuras químicas de los aminoácidos cistina y metionina comparados con sus seleno-aminoácidos.	5
Figura 2:	Vía simplificada del metabolismo del selenio en animales.	6
Figura 3:	Incorporación y excreción del selenio.	7
Figura 4:	Estructura química del tocoferol y tocotrienol.	17
Figura 5:	Metabolismo de la vitamina E.	19
Figura 6:	Estructuras de los tocoferoles, Carboxietil Hidroxicromano (CEHC) Y Trolox (Análogo Hidrosoluble del α -Tocoferol).	20
Figura 7:	Acción Antioxidante de la Vitamina E.	24
Figura 8:	Especies reactivas de oxígeno.	29
Figura 9:	Lugar de acción de los antioxidantes en la célula.	46
Figura 10:	Estanques utilizados en el estudio de la trucha Arco Iris.	50
Figura 11:	Colocando peces experimentales en los estanques.	47
Figura 12:	Alimentando a las truchas Arco Iris.	56
Figura 13:	Pesando el alimento en función a la tasa establecida.	57
Figura 14:	Representación gráfica de las ganancias de peso en Kg de las truchas.	62
Figura 15:	Representación gráfica de conversión alimenticia en Kg de alimento consumido convertido en 1 Kg de músculo.	53
Figura 16:	Representación gráfica de los valores de PER: aumento de peso (g) sobre la ingestión proteica (g) en 40 días.	69

Figura 17:	Representación gráfica de la mortandad de las truchas en estudio.	71
Figura 18:	Trucha tamaño comercial del tratamiento 7 repetición 3, capturada por el “martín pescador” y cuyo peso fue de 267 g.	72
Figura 19:	“Martín pescador” capturado, predador de la trucha.	73
Figura 20:	“Martín pescador” capturado, predador de la trucha.	73
Figura 21:	Trucha cogida y soltada por sus predadores.	74
Figura 22:	Representación gráfica de los resultados del contenido de vitamina E muscular.	77
Figura 23:	Representación gráfica de los resultados del contenido de selenio.	79
Figura 24:	Representación gráfica del análisis de proteína y grasa del músculo de trucha.	82
Figura 25:	Representación gráfica de los valores de N-BVT de la trucha en varios regímenes nutricionales.	84
Figura 26:	Representación gráfica del contenido de Malondialdehido.	89

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1:	Calidad de agua del río Chía, recurso hídrico que abastece al centro piscícola "El Ingenio", año 2009.	121
Anexo 2:	Tabla de alimentación de la trucha Arco Iris de alimentos balanceados "Truchas La Molina".	122
Anexo 3:	Ganancia de peso de las truchas en estudio.	123
Anexo 4:	Análisis de Varianza, prueba de Tukey y de Dunnett de la ganancia de peso.	124
Anexo 5:	Conversión alimenticia de las truchas en estudio.	125
Anexo 6:	Análisis de Varianza, prueba de Tukey y de Dunnett de la conversión alimenticia.	126
Anexo 7:	PER y mortalidad de las truchas en estudio.	127
Anexo 8:	Análisis de Varianza, prueba de Tukey y de Dunnett de la relación de eficiencia proteica (PER).	128
Anexo 9:	Análisis de Varianza, prueba de Tukey y de Dunnett de la mortalidad.	129
Anexo 10:	Análisis de Varianza, prueba de Tukey y Dunnett de la vitamina E en el musculo de la trucha.	130
Anexo 11.	Análisis de vitamina E en el músculo de la trucha Arco Iris (i1).	131
Anexo 12:	Análisis de vitamina E en el músculo de la trucha Arco Iris (i2).	132

Anexo 13:	Análisis de Varianza, prueba de Tukey y Dunnett del selenio en el musculo de la trucha.	133
Anexo 14:	Análisis del selenio en el músculo de la trucha Arco Iris (i1).	134
Anexo 15:	Análisis del selenio en el músculo de la trucha Arco Iris (i2).	135
Anexo 16:	Análisis de Varianza, prueba de Tukey y de Dunnett del contenido de Malondialdehido.	136

I. INTRODUCCIÓN

El selenio y la vitamina E, micronutrientes esenciales para el organismo humano y animal. El selenio irremplazable por otro nutriente, por poseer su propio código DNA para sintetizar selenoenzimas tan necesarias para la producción aproximada de una treintena de selenoproteínas en las cuales, el selenio, único mineral antioxidante con capacidad anticancerígeno que detoxifica metales, potencia el sistema inmune, previene el daño oxidativo, cataliza la conversión de las hormonas tiroideas a su forma activa, además de otras bondades; y siendo orgánico mucho mejor por su biodisponibilidad (Navarro-Alarcón y Cabrera-Vique 2008).

Por otro lado, la vitamina E (conjunto de tocoferoles y tocotrienoles sintetizados únicamente por las plantas), también tiene capacidad antioxidante que protege de la peroxidación a los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares, eliminando a los radicales libres generados en el metabolismo celular, protegiendo así a las proteínas, lípidos, ADN y otras estructuras celulares del daño celular y de diversos agentes miopáticos distribuidos en la naturaleza (Mustacich *et al.* 2007).

Asimismo, diversas enfermedades causadas en el hombre y los animales por deficiencia, indican que la suplementación conjunta de selenio y de vitamina E tienen efectos aditivos, observándose que existe una interrelación entre estos dos nutrientes, mejorando la respuesta inmunitaria, y que actúan disminuyendo el efecto tóxico de los radicales libres, convirtiéndose ambos, en oligoelementos con sinergismo funcional (Klein 2009).

Por ello, los microelementos selenio y vitamina E, se pueden convertir en “componentes funcionales o nutraceuticos” de un conjunto de alimentos, cuyos efectos, además de proveer nutrientes, generarían un efecto beneficioso para la salud, que disminuya el riesgo de padecer alguna patología, o también de actuar de forma terapéutica sobre cierta enfermedad, controlando de esta manera, el exceso de los radicales libres y las acciones destructoras de las células que originarían las infecciones (Oldfield 2003).

Actualmente, la industria moderna de alimentos en el mundo, centra sus esfuerzos en generar productos alimenticios de origen animal con características funcionales. La trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), pez de agua fría, de rápido crecimiento en jaulas y estanques, cuyo consumo de la carne es creciente en nuestro medio; especie en la que, aún no se han realizado trabajos similares, pero factible para que el selenio (componente funcional) sea incorporado en el músculo a través de su dieta alimenticia (Vinchira 2010).

Los objetivos de la presente investigación fueron: Enriquecer las dietas con diferentes niveles de selenio orgánico conjuntamente con vitamina E. Evaluar el comportamiento productivo y la calidad funcional de la carne de truchas Arco Iris, por ser un vehículo de selenoproteínas necesarias como agente antioxidante, para el beneficio en la salud de los consumidores.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 EL SELENIO

2.1.1 Generalidades

Microelemento en polvo de color blanco cenizo con número atómico 34 y peso molecular 78,96; está presente en el suelo como selenio elemental, selenito férrico básico, selenato de calcio. Con el azufre comparten propiedades físicas y químicas similares; siendo frecuente la presencia de ambos elementos en una molécula proteica con características bioquímicas diferentes. Así, *In vivo*, los compuestos del selenio tienden a sufrir reducción, mientras que los del azufre, tienden a oxidarse (Reddy y Massaro 1983).

Según Young *et al.* (1982) el selenio fue descubierto en 1817 por el químico sueco Jacob Berzelius. Debido a que presenta varios estados de oxidación, se ha determinado la existencia de formas inorgánicas y orgánicas de importancia en la nutrición (Cuadro 1).

Cuadro 1: Formas de presentación del selenio.

A. Selenio como elemento (Se).

B. Formas inorgánicas: H_2Se (Seleniuro de hidrógeno), H_2SeO_3 (Acido selenioso), H_2SeO_4
(Acido Selénico)

Selénidos inorgánicos (Ejm: CdSe, Selénico de cadmio).

C. Formas orgánicas:

i) Selenoaminoácidos:

a. Importantes en la nutrición: selenometionina, selenocistina, selenocisteína.

b. Otros: selenometilselenocisteína, selenocistationina.

ii) Metabolitos intermedios:

Selenodiglutation, dimetilselénido, trimetilselénido, selenoperulfido.

iii) Selenoproteínas:

Glutation peroxidasa, formato reductasa, glicina reductasa.

iv) Otros: 6-selenopurina, selenoprolil-tRNA.

Fuente: Young *et al.* (1982).

2.1.2 Selenio Orgánico

El selenito de sodio, fuente inorgánica tradicional para suplementar al selenio en los alimentos para animales; sin embargo, no se encuentra naturalmente y así mismo, es menos efectivo en asimilarse a partir del alimento para crear las reservas de selenio dentro del organismo del animal (Surai 2002). Las limitaciones del uso del selenio inorgánico son: su toxicidad, interacciones con otros minerales, baja eficiencia de transferencia a la leche y carne y en el mantenimiento de las reservas del organismo; como resultado, una elevada proporción de elemento es excretada; además, la desventaja se debe al efecto pro-oxidante del ion selenito (Lyons *et al.* 2007).

La forma más común de selenio orgánico que se encuentra en los ingredientes naturales de los alimentos (forrajes, granos de cereales, leguminosas, arroz, soya, etc.) es la selenometionina, un átomo de selenio incorporado en una molécula de metionina. La selenometionina también puede encontrarse en levadura enriquecida con selenio, pero su cantidad puede variar marcadamente dependiendo de las condiciones de cultivo (Whanger 2002).

Las células de levadura pueden tomar selenio de la selenita o selenato y sintetizan el selenoamino; en particular, ciertas cepas de levaduras son capaces de acumular hasta 3000 ppm de selenio en la forma orgánica, cuando el azufre en el medio de cultivo se sustituye por compuestos de selenio y las condiciones de crecimiento son siempre adecuadas (Mc Sheehy *et al.* 2005). Basados en la espectrometría de masas, ha sido posible determinar la incorporación de la selenometionina en el proteoma de la levadura, reemplazando aproximadamente el 30% de todos los compuestos con metionina en selenometionina.

El selenio está unido a diferentes aminoácidos, especialmente metionina y cisteína en los alimentos. En la naturaleza los animales reciben selenio principalmente en la forma orgánica presentes en los granos y forrajes, cuya cantidad varía mucho y depende de la capacidad de la planta de absorber este elemento del suelo. El desarrollo industrial del selenio orgánico emplea cepas especiales de la levaduras *Saccharomyces cerevisiae*, las cuales realizan la síntesis de formas orgánicas de selenio, y a su vez son altamente biodisponibles en nutrición animal, ofreciendo oportunidades no solo para el mejoramiento de la salud y la productividad animal sino también para la producción de carne, leche, huevo y otros alimentos enriquecidos con selenio. Su presencia en la dieta es el principal

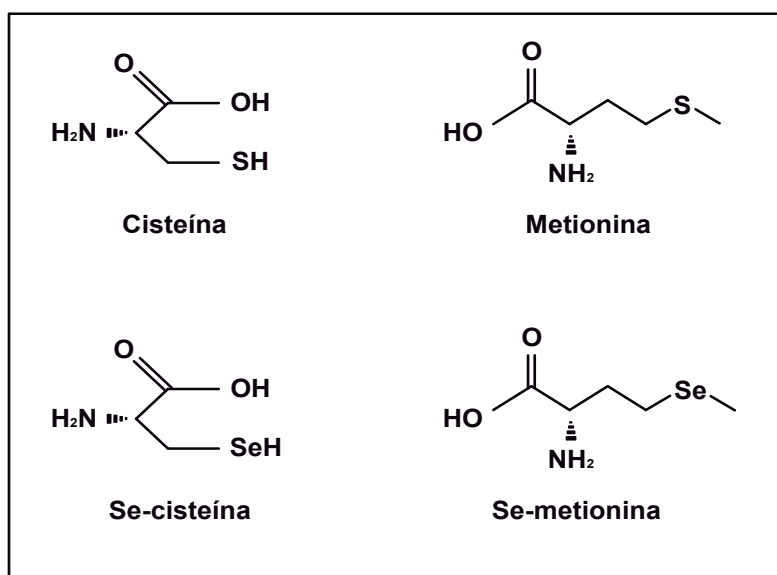
factor en la prevención de diferentes enfermedades y, por lo tanto, el selenio orgánico también tiene un gran impacto en la salud humana (Surai 2002).

2.1.3 Absorción, Metabolismo y Excreción del Selenio

La incorporación del selenio en animales y el hombre es a través de la dieta alimenticia. Si la ración es a base de vegetales, el contenido de selenio está en función de la concentración del selenio en el suelo. Los estudios sobre metabolismo se han realizado mayormente con raciones alimenticias en animales, con suplemento de origen inorgánico como el selenito, selenato o con suplementos de origen orgánico como Se-metionina y Se-cisteína (figura 1), en los cuales, la tasa de absorción es mayor, cuyo selenio está unido covalentemente a las moléculas orgánicas (Zeng 2009).

Una vez que el selenio es absorbido a nivel duodenal y en el íleon anterior, se liga a las proteínas del plasma sanguíneo para ser transportado a todas las células y tejidos del cuerpo, donde se almacena principalmente como selenometionina y selenocistina. El selenio se incorpora a las células rojas sanguíneas, hígado, huesos, pelo, y leucocitos. La corteza cerebral ha mostrado tener la mayor concentración de selenio, seguido de los testículos, páncreas, hipófisis e hígado. Son bajos en selenio los músculos, huesos y sangre, y muy bajo en el tejido adiposo (Burk 1978).

Figura 1: Estructuras químicas de los aminoácidos cistina y metionina comparados con sus seleno-aminoácidos.

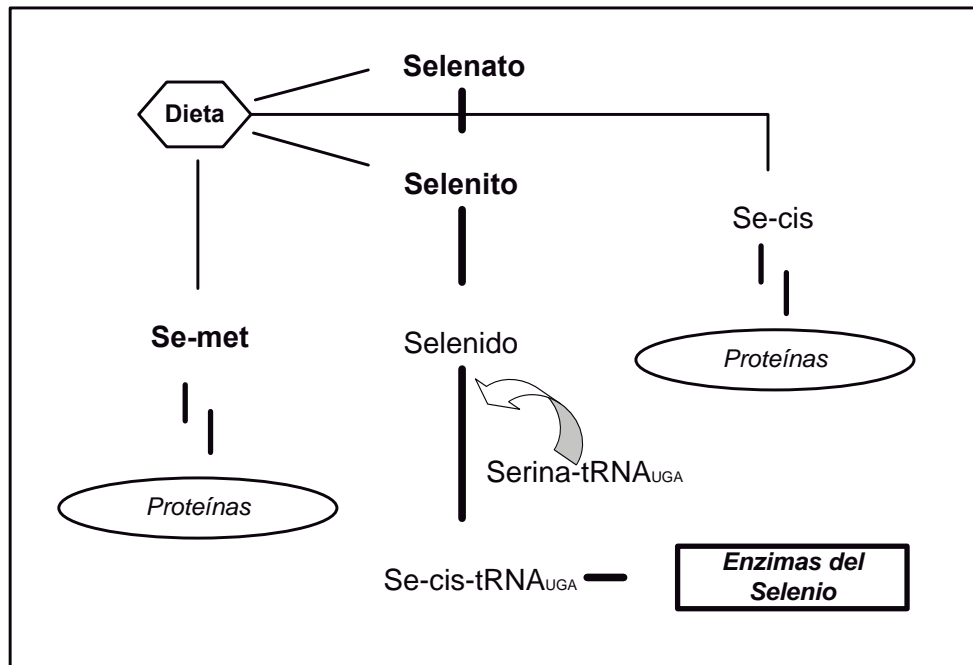


Fuente: Weiss (2005).

Según Weiss (2005) en animales, los selenoaminoácidos y el selenito son transformados, por procesos enzimáticos y no enzimáticos. El selenito se reduce en las células a selénido, y éste es usado para sintetizar la selenometionina a una molécula de serina; ésta se une a un tRNA (codón UGA, encargado de codificar la selenocisteína y la metionina).

La síntesis del complejo Se-cis-tARN es entonces, colocada en un lugar específico durante la síntesis de proteína. Si el selenocisteína es absorbido desde la dieta, este compuesto no puede ingresar directamente al sitio activo de la enzima durante la síntesis porque no tiene el correcto tARN. El selenocisteína dietético, primeramente debe ser catabolizada y también el selenio puede ser reducido a selénido y un Se-cis-tARN puede ser sintetizado (figura 2).

Figura 2: Vía simplificada del metabolismo del selenio en animales.

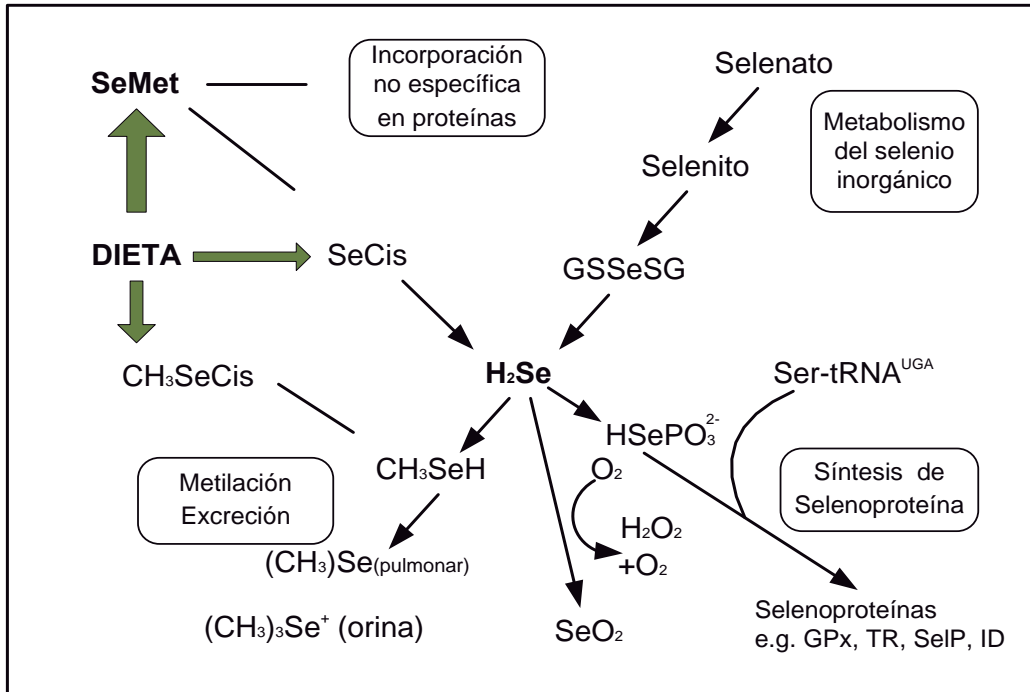


Fuente: Weiss (2005).

De acuerdo a Sunde (1990), la excreción del selenio se realiza por las vías urinarias, por las heces y por el aire expirado. En la orina, el selenio se excreta como trimetilseleniuro ($[\text{CH}_3]_3\text{Se}$); en las heces el selenio que no se absorbió se encuentra en forma insoluble, donde una pequeña parte de esta es endógena que proviene de la excreción de la bilis, páncreas e intestino (Combs 2001), figura 3.

En un experimento sobre absorción de selenio realizado en vacas lecheras por Koenig *et al.* (1991) sostienen que en poligástricos, la excreción fecal es de mayor importancia, seguida de la vía urinaria y de menor relevancia la biliar, salival y pulmonar; asimismo, la secreción de selenio en la leche es una vía de gran importancia. En el caso de humanos, el sudor es una fuente mínima de eliminación del selenio (Dietrich y Kyriakopoulos 2001).

Figura 3: Incorporación y excreción del selenio.



Fuente: Combs (2001).

2.1.4 Toxicidad

Cuando los niveles de selenio dentro del organismo animal son altos, los animales presentan síndromes tóxicos como ceguera, pérdida de pelo, desprendimiento de los cascos, anemia, excesiva salivación, parálisis y/o muerte. La intoxicación por selenio en humanos se manifiesta por pérdida de cabello y uñas, sarpullidos, lesiones en la piel, sistema nervioso y dolores agudos (Ensminger *et al.* 1990).

Las formas orgánicas del selenio se caracterizan por carecer de toxicidad. Dentro de las formas inorgánicas, el selenio elemental parece ser el menos tóxico por ser el más insoluble y por tanto difícilmente asimilable por los organismos. Las formas selenito y selenato presentan una toxicidad semejante, otorgándoseles propiedades mutagénicas. En

el humano se desconocen los niveles exactos para producir intoxicación crónica, pero cantidades del orden de 2-8 mg/kg de peso corporal podrían producir graves lesiones. Por último, la eliminación del selenio ingerido en la dieta humana es por vía urinaria en forma metilada ((CH₃) Se+) o acetilada (acetilgalactosaminado). Sin embargo, cuando hay una exposición tóxica, las vías secundarias de eliminación del selenio pueden ser las heces, secreciones biológicas, uñas y pelo (Yang *et al.* 1983).

2.1.5 El selenio en la Nutrición de Animales de Granja

Hasta 1957 se consideró que el selenio no tenía ninguna actividad biológica. Ese año fue reconocido como elemento esencial para los animales debido a que el selenio prevenía la necrosis hepática en ratas y la diátesis exudativa (Schwartz y Foltz 1957, citado por Scott y Nesheim 1982). Al mismo tiempo, al selenio se le consideraba como un mineral tóxico (Mc Donald *et al.* 1979, Maynard 1968, Underwood 1969).

El Comité de Expertos de la Organización Mundial de la Salud en 1973 confirmaron que el selenio es un oligoelemento esencial que no puede ser reemplazado completamente por otros nutrientes de funciones afines, como por ejemplo la vitamina E.

Combs y Scout (1979) hallaron que en gallinas a niveles de 0,05 ppm de selenio en la dieta era adecuado para mantener la producción de huevos. En cambio, niveles menores de 0,10 ppm producen deficiencia de la enzima glutatión peroxidasa dependiente del selenio.

En un experimento realizado en pavos (Potter *et al.* 1980), empleando harina de sábalo como suplemento proteico en la dieta con 0,1 a 0,2 ppm de selenio encontraron un incremento en el consumo de alimento del 2 % y un aumento en el peso de 2,2 % para 0,1 ppm y de 2,4 % para 0,2 ppm de selenio. Las dietas suplementadas con selenio pero sin harina de sábalo, mostraron un incremento en el peso de 4,1 % para 0,1 ppm y de 5,5 % para 0,2 ppm, indicando los beneficios por uso del selenio.

En corderos se demostró que cuando se suplementó la dieta con selenio, se podía curar la distrofia muscular (Ensminger y Olentine 1983). Otros estudios han mostrado que enfermedades como la distrofia del músculo blanco, necrosis del hígado, diátesis exudativa y las miopatías cardíacas están relacionados con la deficiencia del selenio en las aves y el ganado (Wolffram 1999).

Investigaciones con rumiantes (Miller y Brzezinska 1993) han mostrado efectos benéficos al disminuir la incidencia de enfermedades, mejorando así el sistema inmunológico y la respuesta productiva de los animales. Knowles *et al.* (1999) al suplementar selenio orgánico en el alimento de vacas productoras de leche encontraron un incremento en el nivel del selenio en el hígado, sangre y leche de dos a tres veces más al compararlo con una fuente inorgánica.

Un estudio realizado con cerdas gestantes por Svoboda *et al.* (2009), mostró que las concentraciones de selenio en la sangre ($P < 0.05$) y en el calostro ($P < 0.05$) fueron mayores en el grupo de cerdas con dietas de la forma orgánica de selenio y, no se observaron diferencias en las actividades de la glutatión peroxidasa entre los dos grupos. Además, las concentraciones de selenio en los tejidos de los lechones también fueron más altos que en aquellos que recibieron la forma orgánica de selenio; concluyéndose, que el uso del alga *Chlorella spp.* enriquecido con selenio orgánico en cerdas gestantes generó una mayor transferencia placentaria de selenio a su progenie.

Knowles *et al.* (1999) suplementaron con selenato de sodio y con selenio orgánico (levadura selenizada) en vacas productoras de leche, encontrando un incremento en el nivel del selenio en la sangre, leche, caseína e hígado de dos a tres veces más al compararlo con una fuente inorgánica.

En otra investigación también en vacas, se encontró que las vacas y sus terneros suplementadas con selenolevadura tuvieron mayor concentración de selenio en la sangre que los animales suplementadas con selenito de sodio ($P \leq 0,05$), pero la actividad de la glutatión peroxidasa (GSH-Px) no fue diferente ($P \geq 0,60$) entre las dos fuentes (Gunter *et al.* 2003).

Asimismo, Ortman y Pehrson (1999) encontraron que el suplemento de selenio en su forma orgánica, en vacas tiene efectos más satisfactorios en concentraciones más altas del mineral en la leche que las vacas con suplementos inorgánicos de selenito de sodio, lo que provee una suplementación más adecuada a las necesidades del ternero.

Juniper *et al.* (2008) mostraron que las dietas de vacunos de carne tuvieron mayor proporción de selenometionina en la sangre y en los demás tejidos, así como en la actividad de la GSH-Px, en comparación con aquellos vacunos de carne que recibieron una

dieta con selenito de sodio, lo que indicó una mejor retención de selenio por parte de los tejidos, mayor disponibilidad y mayor actividad de la GSH-Px en la sangre. Sin embargo, de acuerdo a la prueba del ácido tiobarbitúrico, todos estos incrementos parecen tener poco o ningún efecto en la estabilidad oxidativa de la carne.

Se ha demostrado, que el uso correcto de selenio es relevante para asegurar la resistencia a la enfermedad y la eliminación de elementos patógenos (inmunidad no específica). Por el contrario, la deficiencia del selenio afecta los niveles de la inmunoglobulina G (IgG) y la función de las células T, factores que determinan mayor prevalencia y severidad de las enfermedades usualmente presentes en las poblaciones animales (Arthur *et al.* 2003).

Respecto a los trastornos reproductivos Behne y Kyriakopoulos (2001), la carencia de selenio determina una baja fertilidad en mamíferos machos (espermiogénesis testicular). Estas anomalías se han asociado a la menor actividad de una glutatión peroxidasa, que se llama esperma-núcleo GSH-Px (sn-GSH-Px) presente en el núcleo del espermatozoide, el único lugar donde existe la selenoproteína, que participaría en los arreglos de las proteínas asociadas al ADN y esta enzima es imprescindible para la maduración del esperma y la fertilidad en los machos.

Los huevos de gallina de una dieta suplementada con selenio tuvieron un incremento significativamente mayor ($P < 0,01$) de selenio que los de la dieta suplementada con selenita de sodio, mostrando así un alimento de alto valor biológico y que representa una ventaja adicional para la salud humana debido a la capacidad que tienen las aves de almacenar compuestos antioxidantes esenciales para el metabolismo humano en formas altamente disponibles (Utterback *et al.* 2005).

En un experimento también con gallinas, se observó que el selenio se transfiere del alimento al huevo y posteriormente al embrión en desarrollo, mejorando así sus defensas antioxidantes. La mejor manera de regular el sistema antioxidante del pollito recién nacido fue la utilización de selenio orgánico de levadura en la dieta de la reproductora. Por el contrario, la inclusión de selenito sódico en la dieta materna tuvo un limitado potencial para incrementar la concentración de selenio en los huevos. Además, no había diferencia en el contenido de selenio del huevo cuando se usó el selenito sódico en dosis de 0,1; 0,2; ó 0,3 ppm. En cambio, cuando se utilizó selenio orgánico en la forma de selenolevadura se

observó un incremento gradual de contenido de selenio en el huevo (de 7,1 ug hasta 11,2 ug/huevo) (Paton *et al.* 2002).

En un trabajo con pollos de engorde en crecimiento se encontró que los suplementos dietéticos con selenio orgánico produjo una concentración de selenio que fue mayor en el músculo y las concentraciones plasmáticas, en comparación con los pollos alimentados con la dieta de selenito de sodio; sin embargo, la actividad plasmática de la glutatión peroxidasa no fue afectada por la fuente de selenio, indicando que el selenio orgánico aumenta la concentración de selenio en el tejido, pero no afecta el crecimiento ni las características de la carcasa, ni tampoco la actividad de la glutatión peroxidasa plasmática (Payne y Southern 2005).

Un estudio realizado con ovejas y cabras se encontró que existe una relación entre madre y feto en la concentración de selenio y su metabolismo. Las concentraciones de selenio en el líquido amniótico y alantoideo se podría utilizar como un posible indicador de la condición de selenio en el feto durante la gestación (Ghany-Hefnawy *et al.* 2007).

2.1.6 El selenio en Nutrición de Peces

Los signos de deficiencia de selenio en la salud de peces se manifiestan en la disminución del crecimiento, de la sobrevivencia, hematocrito y en la actividad de la glutatión peroxidasa. Las funciones inmunes no-específicas de macrófagos fueron igualmente influenciadas por las fuentes y niveles de selenio en las dietas. Aparentemente, en peces el selenio en las dietas, mejora la inmunidad específica y resistencia a las enfermedades y, las fuentes orgánicas de selenio son más potentes que las formas inorgánicas. Se sugiere que las formas orgánicas sean incluidos en la dieta a los niveles requeridos para un óptimo crecimiento (Lim y Klesius 2000).

En general, el selenio es un nutriente esencial para los peces y participa en importantes procesos metabólicos. Su deficiencia puede generar retraso en el crecimiento, distrofia muscular, pérdida del apetito y mortalidad. El requerimiento nutricional de selenio en peces se encuentra en un rango de 0,15-0,5 mg selenio/kg de dieta en materia seca, con los alimentos y el agua que captura por medio de las branquias como las principales fuentes del mineral (Watanabe *et al.* 1997).

Debido a la importancia del selenio en la nutrición de peces, se han evaluado diferentes fuentes dietarias orgánicas e inorgánicas del selenio. Así, Wang y Lowell (1997), encontraron en el pez gato americano (*Ictalurus punctatus*) que la biodisponibilidad de las fuentes orgánicas como seleno-metionina y seleno-levadura para crecimiento fue mayor con respecto a la fuente inorgánica (selenito de sodio) con valores de biodisponibilidad relativa de 336 y 269 %, respectivamente.

Usando selenio orgánico en cantidades de 0,03 mg/kg de alimento, en la nutrición de carpas (*Cyprinus carpio*), se determinó que no hubo diferencias significativas en términos de peso corporal, donde el grupo de control mostró un peso promedio de 600 g/pez y el grupo experimental, registró un mayor peso promedio de 621 g/pez (Sara *et al.* 2010).

Lin y Shiau (2005) en un estudio con meros juveniles (*Epinephelus malabaricus*), consumiendo dietas con distintos niveles de seleno-metionina comprobaron que el aumento de peso y la eficiencia alimenticia fueron más altas en los peces alimentados con dietas de altos niveles de Se/kg de alimento. También, la actividad de la glutatión peroxidasa hepática (GSH-Px) fue mayor en los peces alimentados con dietas de 1,23 mg Se/kg, seguido de 0,79 mg Se/kg; 0,39 y 0,55 mg Se/kg, y fue más baja en los peces alimentados con la dieta basal. Por regresión lineal se encontró que la concentración estimada de selenio para la dieta del mero en crecimiento y un continuo aumento de peso corporal de los peces fue de aproximadamente 0,7 mg Se/kg de alimento.

En otra investigación con salmones del Atlántico (*Salmo salar*) sobre la digestibilidad y biodisponibilidad del selenio orgánico (selenometionina, selenocisteina) y del selenito de sodio, se demostró que la selenometionina fue más digerible (92%), versus al 47 %, y con una mayor concentración plasmática de selenio en los salmones con selenometionina. La enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px), que contiene selenocisteina fue una mejor fuente de selenio para el plasma. Pero, la actividad de la GSH-Px en el hígado y los eritrocitos no fueron significativamente diferentes en los peces de las dietas experimentales durante las cuatro semanas de estudio (Bell y Cowey 1989).

Según Gomes (2008) se realizó un experimento con especies jóvenes de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), suplementando las dietas con cuatro niveles de selenometionina (0,25; 0,50; 1,0 y 1,5 mg Se/kg) y un grupo control (0,0 mg Se/kg), encontrándose que el consumo del alimento aumentó proporcionalmente con el nivel de selenio en la dieta; las

concentraciones de 0,25 y 0,50 mg Se/Kg, aumentó la ganancia de peso y mejoró la conversión del alimento; aunque no mostró cambios significativos en la estructura morfofuncional del hígado.

Asimismo, en otro estudio con el bagre Africano durante 43 días, donde se utilizó el ajo como fuente de selenio orgánico (selenocisteína) y en diferentes concentraciones (1,9; 2,8; 3,9; 5,1 y 8,5 mg/kg), con el fin de obtener alimentos para humanos con propiedades anti-cancerígenas. Los contenidos de selenio total tanto al inicio como final del experimento, mostraron una relación lineal positiva entre la concentración de selenio en la dieta y, el total de selenometionina en el filete, con un total de 1,2 % de inclusión de ajo en las dietas suministradas. También se observaron mejoras en los parámetros productivos como crecimiento y conversión alimenticia con cantidades de selenio superiores al requerimiento (0,38 mg/kg de dieta), sin generar efectos negativos sobre los peces, siendo el resultado muy importante desde el punto de vista nutricional, por las propiedades anti-cancerígenas que se le atribuyen (Schram *et al.* 2008).

En un ensayo con esturiones (*Acipenser transmontanus*) para evaluar el crecimiento empleando dietas suplementadas con selenio en forma de L-selenometionina en diferentes niveles (0,4; 9,6; 20,5; 41,7; 89,8 y 191,1 mg selenio/Kg), se estableció para una tasa de crecimiento en el esturión alimentado una cantidad igual o superior a 41,7 mg selenio /Kg de dieta. Así también, se observaron alteraciones histopatológicas en el hígado y el riñón en el Esturión consumiendo por encima de 20,5 mg selenio/Kg de dieta, pudiendo considerar como límite de concentración entre 10 y 20 mg selenio/Kg de dieta (Tashjian *et al.* 2006).

Según Hilton *et al.* (1982) se hicieron diversos estudios en truchas. Así, en un trabajo sobre absorción, distribución y excreción de selenio en truchas Arco Iris juveniles (*Salmo gairdneri*) utilizando el isótopo Se-75, demostraron que la absorción gástrica de selenio parece ser eficiente. La mayor concentración de Se en los tejidos fue en el hígado, el riñón y no en la sangre. Asimismo, la excreción está a cargo del tejido renal e hígado. Además, el plasma es el principal medio de transporte a través de todo el cuerpo y la vida media biológica del selenio en los tejidos disminuye con el aumento del nivel de selenio.

En una investigación sobre el estrés oxidativo en embriones de truchas (*Oncorhynchus mykiss*), se encontró que la toxicidad de selenio se debe a la capacidad para sustituir al

azufre durante la formación de las proteínas, y que algunas formas de selenio son capaces de generar estrés oxidativo en un sistema *in vitro* que incluye a la enzima GSH-Px.

De otro lado, la L-selenometionina, es la forma predominante de selenio en huevos de vertebrados ovíparos como los peces, no genera radicales oxidativos en este sistema. Sin embargo, lesiones compatibles con estrés oxidativo fueron identificados en peces con altas concentraciones de selenio, donde el estrés oxidativo parece ser generado por la actividad de la enzima metioninasa en los embriones que libera al metilselenol debido a las cargas excesivas de la seleniometionina (Palace *et al.* 2004).

Igualmente, un experimento se realizado con truchas en hacinamiento, usando una dieta basal suplementado con 0,15 y 0,30 mg selenio/kg dieta de selenito de sodio y selenometionina. Se determinó que los peces alimentados con la dieta basal mostraron disminución en la ganancia de peso, consumo de alimento y la tasa de conversión alimenticia. En cambio, la suplementación con selenio mejoró el crecimiento y el estado antioxidante de los peces. Los efectos de seleno-metionina fueron mayores que selenita de sodio.

El resultado sugiere que las condiciones de hacinamiento causan efectos perjudiciales en la trucha, indicada por el aumento del estrés oxidativo, reducción de la ingesta de alimento y de la ganancia de peso corporal. La dieta con suplementos de selenio permite reducir las pérdidas en el rendimiento de las truchas criadas en condiciones de hacinamiento. Además, la selenometionina es más efectivo que el selenito de sodio y la dosis más alta parece ser más eficaz que la dosis más baja (Küçükbay *et al.* 2009).

Una investigación con dietas de selenometionina en larvas de trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) mostró que, al inicio los peces expuestos a las dietas con selenometionina mostraron una disminución significativa de longitud y de peso corporal cuando fueron alimentados con 4 y 6 $\mu\text{g/g}$ selenometionina en la dieta. Sin embargo, las concentraciones de selenio en el cuerpo aumentaron significativamente en los peces alimentados con 12 y 18 $\mu\text{g/g}$ selenometionina después de 60 días, en comparación con los controles. Asimismo, se observó un aumento significativo de la concentración de selenio en todo el cuerpo después de 90 días en todos los niveles de exposición, y los ratios de Peroxidación lipídica y GSH se mantuvieron sin cambios por los tratamientos de selenio (Vidal *et al.* 2005).

Misra y Niyogi (2009) condujeron un experimento sobre el daño oxidativo por el selenio en los hepatocitos de la trucha Arco Iris, mediante el estrés oxidativo *in vitro* a diferentes dosis de selenito. Observaron la inducción de la glutatión peroxidasa (GSH-Px), la catalasa (CAT) y el superóxido dismutasa (SOD), demostrando que la exposición al selenito (100-200 microM) aumentó la formación de radicales libres de oxígeno (ROS) intracelular, redujo el ratio de glutatión oxidado (GSSG); aumento de la peroxidación de lípidos celulares con aumento de la dosis de exposición al selenito, indicando daño oxidativo de la membrana celular, sugiriendo finalmente, la muerte celular.

Un similar trabajo fue realizado para analizar el efecto protector contra dos metales pesados (Cd^{+2} y Cr^{+3}), expuestos al estrés en el tejido hepático de la trucha (*Oncorhynchus mykiss*) en dosis de 2 ppm cada uno. Se demostró que los parámetros bioquímicos como la actividad de la catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GSH-Px) y superóxido dismutasa (SOD) fueron significativamente menores que en el grupo de control ($P < 0,05$), y el nivel de malondialdehído (MDA) mostró un aumento ($P < 0,05$) en los grupos expuestos a la toxicidad de los metales pesados (Talas *et al.* 2008).

Se llevó a cabo un ensayo de alimentación con la trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) para determinar si mejora la absorción y asimilación de selenio (Se-levadura) y zinc orgánico comparado con las formas inorgánicas. Después de 10 semanas, la selenolevadura aumentó significativamente en todos los tejidos, en mayor medida que el selenito, excepto en el píloro, ciegos y el hígado donde los mayores incrementos fueron los provenientes de selenito. En cambio, la actividad de la glutatión peroxidasa (GSH-Px) no se vio afectada. En todos los aspectos, la selenolevadura resultó ser una forma altamente biodisponible de selenio en comparación con el selenito de sodio y debido a su superior biodisponibilidad, sería una fuente preferida de suplementación de selenio en las dietas de las truchas (Rider *et al.* 2010).

2.2 VITAMINA E

La vitamina E fue descubierta en 1922, notándose que era esencial para mantener la fertilidad en ratas; en 1924 Sure *et al.* denominaron vitamina E porque las vitaminas A, B, C y D ya se conocían; luego, Olcott y Mattil en 1931 describieron por primera vez la función antioxidante de la vitamina E (Olcott y Mattill, citado por Burton 1994). En el año

1936 (Evans, citado por Saul 2003) aisló el α -tocoferol, nombre que deriva de la palabra griega phero, "para llevar" y la palabra tocos, que significa "parto". Asimismo, se demuestra el papel de la vitamina E en la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (Horwitt 1976).

En las décadas de los 40 y los 50 investigaron las funciones de la vitamina E en nutrición infantil utilizando el germen de trigo y observando el efecto positivo en la ganancia de peso. También, se ha investigado sobre las funciones de la vitamina en humanos determinando que en recién nacidos es un potente antioxidante natural que protege las membranas celulares como captador de radicales libres causantes de la peroxidación de lípidos (Bell y Filer 1981).

Según Burton y Traber (1990), la vitamina E es el antioxidante más abundante en la naturaleza, agrupando ocho isómeros estructurales de tocoferoles y tocotrienoles, destacando entre ellos el α -tocoferol por poseer la mayor actividad antioxidante.

Se ha determinado que la acción antioxidante de la vitamina E se basa en su capacidad para neutralizar los radicales peróxido, hidroxilo y lipoperoxilo a formas menos reactivas. Además, rompe la reacción en cadena de la lipoperoxidación que ataca a las membranas celulares. Asimismo, debido a su alta liposolubilidad, se asocia a membranas ricas en lípidos, como la membrana mitocondrial, retículos plasmáticos o la membrana plasmática (Bowles *et al.* 1991). Los animales no puede generar su propia vitamina E; por ello, deben consumirla con los alimentos y suplementos proporcionados (Chandan *et al.* 2006).

Harris *et al.* (2002) refieren varios beneficios de la vitamina E en humanos, sobre todo con respecto a enfermedades cardiovasculares, donde el α -tocoferol disminuye la peroxidación de los lípidos, inhibe la adhesión plaquetaria y la proliferación de células musculares lisas, ejerciendo efectos anti-inflamatorios en los monocitos de la sangre, mejorando la función endotelial.

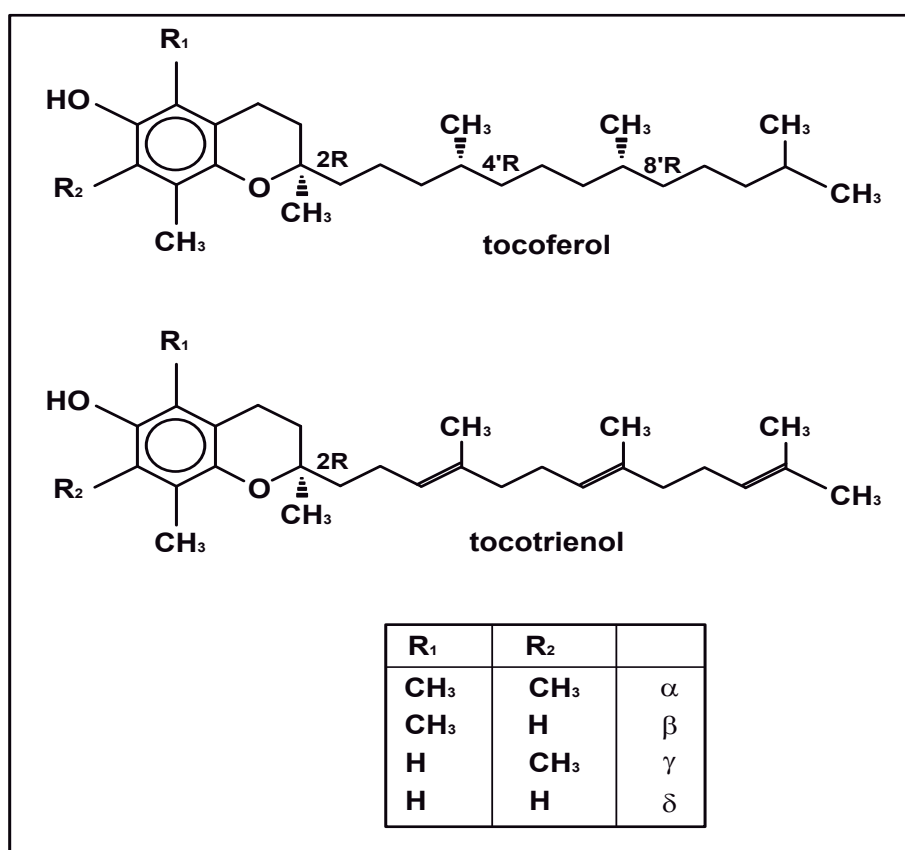
2.2.1 Estructura Química

La vitamina E pertenece al grupo de las vitaminas liposolubles. Dentro del término de vitamina E se incluyen distintos compuestos que están relacionados químicamente, existiendo al menos 8 formas que se caracterizan por un sistema de anillos y una cadena larga de 16 carbonos, como se puede observar en la figura 4. El primer grupo de 4

tocoferoles: la α -, β -, γ - y δ -tocoferoles, los cuales sólo difieren en el número y posición de los grupos metilo (el α -tocoferol tiene tres grupos metilo) en la cadena saturada junto al núcleo o anillo cromanol (Lee *et al.* 2009).

El segundo grupo, los tocotrienoles, que difieren de los tocoferoles por tener una cadena de isoprenoides. Es decir, tres enlaces dobles en la cadena lateral. Además, las diferentes isoformas de tocotrienoles se diferencian en sus sustituyentes metilo en el núcleo cromanol (Packer *et al.* 2001).

Figura 4: Estructura química del tocoferol y tocotrienol.



Fuente: Ricciarelli *et al.* (2001).

Los tocotrienoles son productos menos distribuidos en la naturaleza y tienen una actividad biológica más baja y menor importancia nutricional que los tocoferoles. De todos los estereoisómeros, la forma más activa y abundante es el α -tocoferol, cuya estructura fue propuesta por Fernholz en 1938 (Roberts 1989), quien afirma que este compuesto es el responsable del 90 % de la actividad en tejidos animales. Además, la forma sintética es

menos activa que la forma aislada de las plantas, debido a que la molécula presenta varios centros asimétricos generando estereoisómeros durante la síntesis.

2.2.2 Absorción, Metabolismo y Excreción de la Vitamina E

La absorción de la vitamina E tiene lugar en el intestino delgado juntamente con los lípidos. Al igual que todas las sustancias liposolubles, depende de la presencia de la bilis y de las secreciones pancreáticas para poder formar las micelas que serán absorbidas por el intestino delgado en sus porciones altas y medias, siendo máxima en el yeyuno. Si existiese mala absorción de lípidos a nivel del intestino, habrá deficiencia de vitamina E (Traber 1996).

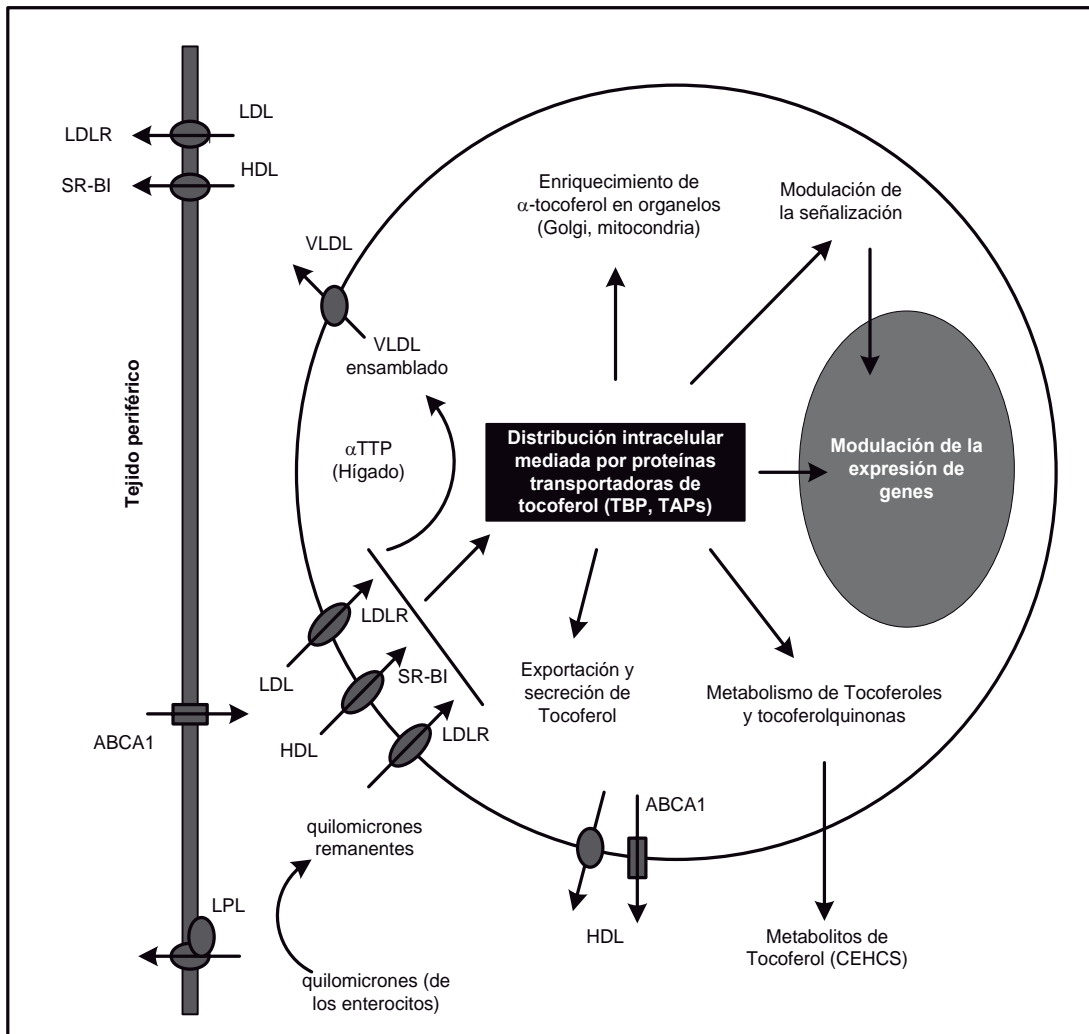
Los enterositos del intestino delgado juegan un papel importante en la absorción de esta vitamina junto a fosfolípidos, colesterol, carotenoides y apolipoproteínas. Desde la mucosa intestinal es transportada por la sangre, asociada a los quilomicrones en aproximadamente 99 %, y en menor medida junto a las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL); luego, la vitamina es captada por el hígado y posteriormente liberada a la circulación unida a lipoproteínas (Bjorneboe *et al.* 1986).

Según Atanasiu *et al.* (2006) el hígado humano juega un papel central en la homeostasis de la vitamina E, donde se ha identificado la proteína α -tocoferol de transferencia (α -TTP), proteína que regula discriminando en forma negativa todos los otros diferentes estereoisómeros, excepto la forma α -tocoferol, cuyo sistema de transporte a los tejidos periféricos está constituido por las partículas lipoproteínas de baja densidad (LDL), como también se puede ver en el cuadro 4.

Las partículas de Lipoproteínas de Alta Densidad (HDL) son las responsables del transporte inverso del α -tocoferol de los tejidos periféricos al hígado, asimismo para la entrega del α -tocoferol entre los diferentes tejidos, donde la circulación del α -tocoferol se transporta en asociación con las partículas de HDL.

Gran parte de la vitamina E en el cuerpo se almacena en el músculo esquelético, tejido adiposo y el hígado. Los tejidos adiposo y suprarrenales tienen las mayores concentraciones de vitamina E, con niveles que son diez veces mayores que en otros tejidos (Diplock 1985).

Figura 5: Metabolismo de la vitamina E.



Fuente: Blé-Castillo *et al.* (2008).

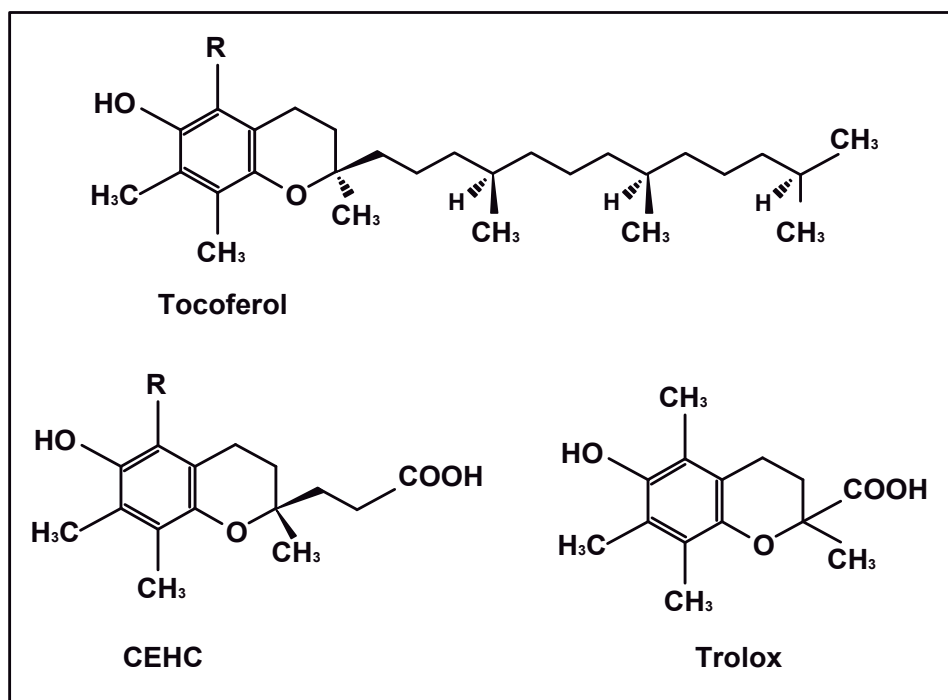
El suero de humanos, combinados la Lipoproteína de Baja Densidad (LDL) y la de Alta Densidad (HDL) contienen el 90 % de la vitamina E; en los fosfolípidos del plasma, la proteína α -tocoferol de transferencia (α -TTP) facilita el intercambio entre LDL y HDL. En el pulmón, la HDL es la fuente principal de vitamina E de los neumocitos tipo II (Ricciarelli *et al.* 2001); asimismo, en el cerebro, asociada al HDL-tocoferol se transfiere de forma selectiva en las células que constituyen la barrera sangre-cerebro (Ricciarelli *et al.* 2001).

Debido a la estéreo-especificidad de la α -TTP casi exclusiva para el alfa-tocoferol, la mayoría de los otros análogos del tocoferol y los isómeros sintéticos no reconocidos por el α -TTP, son metabolizados y eliminados a través de la bilis y la orina (Munteanu 2004).

Respecto a la distribución intracelular, las concentraciones más elevadas de α -tocoferol se han encontrado en el aparato de Golgi, lisosomas, retículo endoplasmático y mitocondria. Asimismo, se ha identificado un grupo de proteínas llamadas Proteínas Asociadas al Tocoferol (TAP) y La Proteína Fijadora de Tocoferol (TBP), que parecen estar involucradas en la movilización intracelular del Tocoferol (Drevon 1991).

La excreción del tocoferol se realiza por las heces vía biliar, mayoritariamente en su forma libre; y si ha sido metabolizado, el principal metabolito producido después de la oxidación hepática del tocoferol es el α -tocoferil-quinona, el cual puede ser reducido a α -tocoferol hidroquinona por las enzimas microsomales y mitocondriales dependientes de NADPH. Otros metabolitos aislados de la orina son el ácido tocoferónico y la tocoferonolactona, en los que se encuentra abierto el anillo de cromano (Blé-Castillo *et al.* 2008).

Figura 6: Estructuras de los tocoferoles, Carboxietil Hidroxicromano (CEHC) Y Trolox (Análogo Hidrosoluble del α -Tocoferol).



Fuente: Leonard *et al.* (2005).

Sin embargo, recientemente se han identificado (figura 6) dos metabolitos de anillo cerrado denominado α -CEHC (2, 5, 7, 8-tetrametil-2-(2'-carboxietil)-6-hidroxicromano) y γ -CEHC (2,7,8-trimetil-2-(2'-carboxietil)-6-hidroxicromano), derivado de moléculas del correspondiente tocoferol que no han actuado como antioxidantes; estos metabolitos son solubles en agua y se excretan con la orina en los seres humanos (Leonard y Traber 2006).

2.2.3 Toxicidad

Uno de los peligros del consumo de altas dosis de vitamina E, es que pueda desplazar a otros antioxidantes solubles en grasas, generando un desbalance natural del sistema antioxidante y aumentando la vulnerabilidad del daño oxidativo. Asimismo, la vitamina puede inhibir a las enzimas citosólicas glutation-S-transferasas, las cuales ayudan a detoxificar toxinas endógenas (Van Haaften *et al.* 2003).

También, la vitamina E en exceso podría afectar la conversión del β -caroteno en vitamina A y su distribución en los tejidos. Así, un estudio sobre la prevención de cáncer con α -tocoferol y β -caroteno demostró un significativo incremento en el riesgo de shock hemorrágico entre los participantes tratados con vitamina E (Heinonen y Albanes 1994).

Millar *et al.* (2005) sugieren que la suplementación con vitamina E puede prevenir las enfermedades cardiovasculares y el cáncer. Sin embargo, dosis altas de suplementos de vitamina E (≥ 400 UI / d), puede aumentar la mortalidad por cualquier causa y debe ser evitado.

El tocoferol-quinona es un potente inhibidor de la vitamina K-dependiente carboxilasa que controla la coagulación de la sangre, por lo tanto, la vitamina E tiene propiedades anti-coagulantes, posiblemente interfiriendo con los mecanismos mediados por la vitamina K (Dowd and Zheng, 1995).

Se ha podido demostrar en un estudio *in vitro* que la vitamina E eleva los efectos anti-plaquetarios del ácido acetilsalicílico por lo que recomiendan tener sumo cuidado al consumir ambas vitaminas (González-Correa *et al.* 2005).

Así también, la ingesta de α -tocoferol durante el segundo y tercer trimestre en gestantes diabéticas no supone riesgos comprobables, pero su administración en altas dosis durante el primer trimestre de gestación podría estar asociada con una disminución en el peso del

neonato y, eventualmente, con un incremento en el índice de malformaciones (González, 2006).

2.2.4 Funciones de la Vitamina E

Benzie (1996) afirma, la función biológica de los tocoferoles son eficientes Antioxidantes Liposolubles del organismo, que actúan interrumpiendo la peroxidación en cadena, y solo el α -tocoferol y una menor proporción de γ -tocoferol están presentes en los tejidos humanos y animales, incluida la sangre.

El sitio activo del tocoferol se localiza en el grupo -OH en la posición 6 del anillo cromanol y la función antioxidante del α -tocoferol ocurre cuando el α -tocoferol dona su átomo de hidrógeno fenólico, a un radical lipídico peroxil para formar un hidroperóxido que se convierte en un radical tocoferoxilo. El α -tocoferol se localiza dentro de las membranas celulares y su principal función es romper y detener la oxidación y peroxidación en los sistemas biológicos (Faustman *et al.* 1998).

La acción antioxidante de la vitamina E se debe a una serie de mecanismos moleculares. Se produce una sustitución del hidrógeno de los tocoferoles (α -TOH) por un radical peroxi (ROO) formándose un hidroperóxido lipídico (ROOH). Este radical formado es más estable a causa del anillo aromático, evitando así la propagación de las reacciones de radicales libres o peroxidación (Brigelius-Flohé y Traber 1999).

La vitamina E, además de proteger principalmente a los ácidos grasos poliinsaturados situados en las membranas biológicas, también protege de la oxidación a las enzimas, proteínas y ácidos nucleicos como el ADN (Packer 1991); indica asimismo, que la oxidación se relaciona con el envejecimiento y numerosas enfermedades: cáncer, artritis y cataratas; las plaquetas que se hiper-acumulan, puede conducir a la aterosclerosis, dichas enfermedades se pueden prevenir a través de la participación de la vitamina E. Del mismo modo, la vitamina E ayuda a reducir la producción de prostaglandinas como el tromboxano, que causan la agregación plaquetaria.

En animales, las concentraciones plasmáticas de γ -tocoferol se asocia inversamente con la incidencia de enfermedades cardiovasculares y el cáncer; que probablemente están relacionados con la actividad anti-inflamatoria del tocoferol y su principal metabolito (γ -

CEHC) vinculada a la inhibición de la ciclooxigenasa-2; estos (carboxi-etil-hidroxi-cromano, CEHC) son sintetizados por los hepatocitos a través del citocromo P450 antes de la excreción urinaria (Jiang *et al.* 2001). Además, se ha probado que el γ -tocoferol induce la muerte celular de las células malignas del cáncer de próstata mediante la interrupción de la síntesis *de novo* de los esfingolípidos.

El beneficio de protección de la vitamina E y el selenio contra las enfermedades crónicas degenerativas como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares y las enfermedades infecciosas agudas han sido sostenidas por (Leonard *et al.* 2005). El selenio puede funcionar de forma sinérgica con la vitamina E debido a sus propiedades antioxidantes naturales, el selenio como componente de la enzima glutatión peroxidasa y la vitamina E como antioxidante liposoluble.

Además, la vitamina E y el selenio son utilizados para prevenir el cáncer de próstata. El selenio potencia la vitamina E en la inhibición de crecimiento de las células prostáticas cancerígenas *in vitro*. Estos efectos biológicos anticancerígenos se deben a que la vitamina E está a la vanguardia de los sistemas de defensa para prevenir el daño oxidativo por su solubilidad en lípidos, particularmente importante en la protección de las membranas celulares (Venkateswaran *et al.* 2004).

Existe una interacción entre las vitaminas E y K en la cual, dosis altas de vitamina E antagoniza a la vitamina K, como lo sostiene (Traber 2008), generando la tendencia a sangrar, inhibiendo la producción de protrombina. Sin embargo, los mecanismos de esta interacción aún se desconoce, pero pudiendo ser los siguientes:

1) La vitamina E compite por la enzima, aún por descubrir que trunca la cadena lateral de la vitamina K₁.

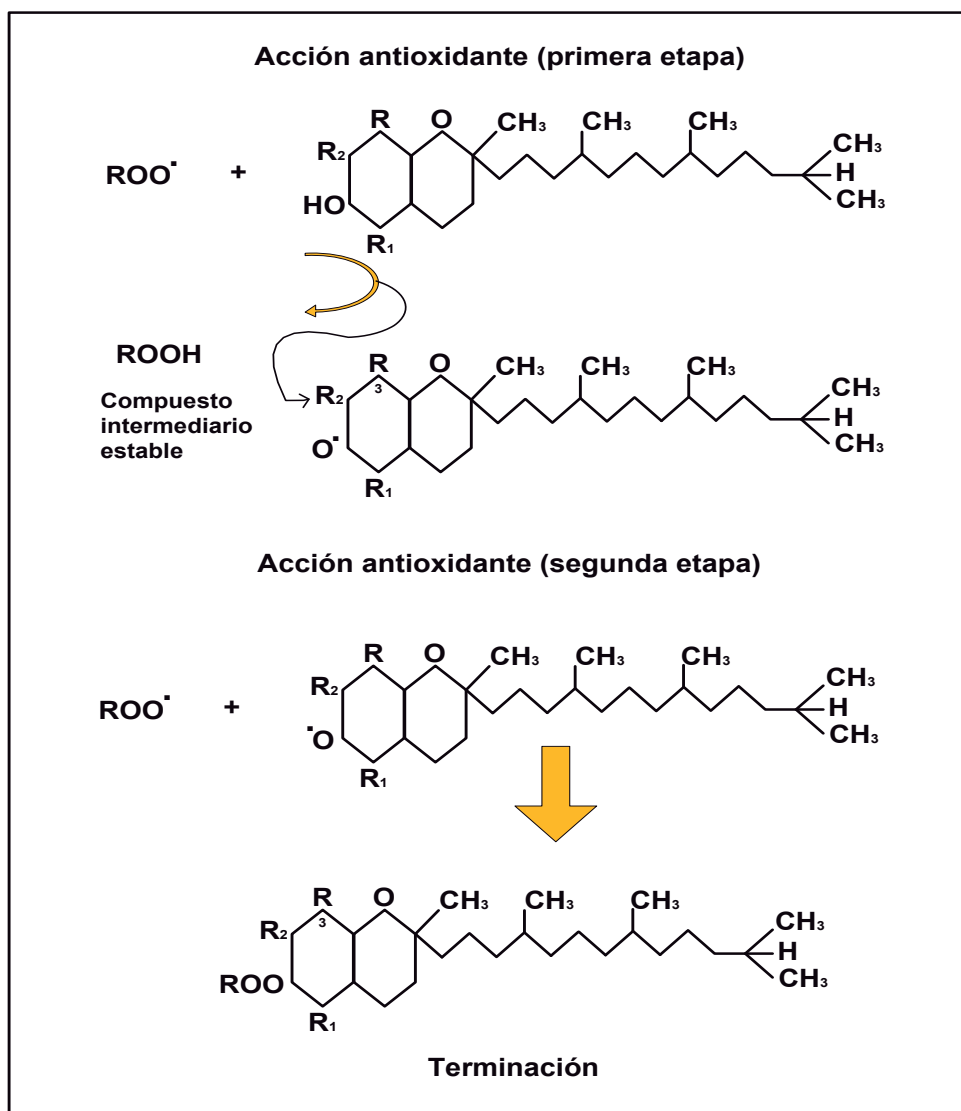
2) La vitamina E aumenta las vías de xenobióticos que realizan el metabolismo hepático y la excreción de todas las formas de vitamina K.

Asimismo, existe una relación antioxidante total de la leche humana y las concentraciones de la Coenzima Q10, α - y γ -tocoferol, que a su vez es mayor en leche de madres de recién nacidos a término que en recién nacidos prematuros; esta capacidad antioxidante va disminuyendo conforme avanza la lactancia. Cuando la vitamina E, se encuentra en una

concentración muy baja, existen moléculas que actúan regenerando o impidiendo la oxidación del tocoferol (Quiles *et al.* 2006).

La función antioxidante de la vitamina E (figura 7) se ve aumentada por la acción regeneradora de otros compuestos como la vitamina C que se encuentra en el plasma; esta vitamina, debido a su hidrosolubilidad, buen antioxidante cuando los radicales libres se generan en medio acuoso. Además, se produce una acción sinérgica entre las vitaminas C y E debido a la capacidad de la vitamina C de reducir el radical tocoferoxi *de nuevo* a α -tocoferol en la interfase, regenerando la vitamina E, e incrementando su efectividad (May *et al.* 1996).

Figura 7: Acción Antioxidante de la Vitamina E.



Fuente: Castillo (1999).

Las vitaminas C y E desempeñan un papel importante en la inhibición del proceso de la aterosclerosis, así como en la protección contra el estrés oxidativo de la enfermedad de Alzheimer, para retrasar la progresión de esta enfermedad, en la cual también está involucrado el selenio. El selenio actúa como un cofactor de varias enzimas con función antioxidante, incluyendo la glutatión peroxidasa y reductasa tiorredoxina, cuya capacidad de estas selenoenzimas a reciclar la vitamina C puede proporcionar el eslabón perdido entre la conocida capacidad de la vitamina E o el selenio para mitigar una deficiencia en la otra (Li *et al.* 2003).

2.2.5 La vitamina E y el Selenio en la Nutrición de Animales de Granja

El selenio y la vitamina E proporcionados a vacas lecheras redujo a 0 % la incidencia de placenta retenida, la incidencia de metritis y quistes ováricos durante el período postparto temprano (Harrison *et al.* 1984).

Se determinó en ratas hembras albinas alimentadas con levadura de torula e inducidas a carcinogénesis con metil-nitrosourea; luego de 30 semanas de tratamiento cancerígeno se les suministró dietas que contenían <0,02 mg de selenio/kg, y 3 UI de vitamina E/kg. Se encontró que la incidencia de cáncer y la latencia del cáncer en las ratas que consumieron la dieta deficiente en selenio y vitamina E eran mas altas que en las ratas que consumieron la dieta que contenía selenio y vitamina E (Thompson 1991).

Finch y Turner (1996) estudiaron la influencia de estos micronutrientes en la resistencia de los animales domésticos a una variedad de infecciones. Determinaron que las respuestas del sistema inmunológico de los animales domésticos, particularmente rumiantes, difieren de los seres humanos y animales de laboratorio, debido a diferencias en el estado nutricional basal de los animales afectados, el tipo de suplementos, el calendario de su administración y los diferentes agentes que han sido utilizados para estimular una respuesta inmune.

Se estableció que la inclusión de selenio orgánico y vitamina E en la dieta de gallinas reproductoras, cuyos pollos fueron criados en condiciones estándar por 10 días, aumentó significativamente su concentración en el huevo y en el hígado de los pollos obtenidos a partir de los huevos enriquecidos con estas sustancias. Además, hubo un efecto positivo de la suplementación de selenio en la dieta materna en la concentración de glutatión en el

hígado de los pollos, y una combinación de selenio con altas dosis de vitamina E aumentó aún más la concentración de glutatión en el hígado (Surai 2000).

Un experimento realizado en pollos de carne, sobre los efectos del selenio y la vitamina E en la aflatoxicosis demostró que disminuye su sistema inmune, generando disminución en el peso corporal y en el tracto gastrointestinal. Los resultados indicaron que la adición de niveles graduales de vitamina E y selenio aumentaron el peso del pollo y los órganos internos en estudio (Shlig 2009).

Gabryszuk y Klewicz (2002) experimentaron con ovejas merinas, a las que se les inyectó selenato de sodio y vitamina E (antes del apareamiento y el parto), encontraron que dichas inyecciones aumentaron la incidencia del celo, la fertilidad y la prolificidad de las ovejas; el peso de los corderos también aumentó en comparación con los controles. La administración del selenio determinó mayor ganancia de peso diario en las primeras 4 semanas de vida (220 g) en corderos de 2 años de edad.

En un grupo de búfalos con parto afectado con distocia y suplementados con selenio y vitamina E, el hallazgo fue una disminución en la concentración de cortisol en el plasma, el nivel de malondialdehído (MDA) y la actividad del superóxido dismutasa (SOD) fue mayor que en el grupo no suplementado. Esto sugiere que la suplementación con antioxidantes como la vitamina E y el selenio puede ser beneficioso en la reducción del estrés oxidativo en búfalos afectados de distocia en el período posparto inmediato (Sathya *et al.* 2007).

2.2.6 La vitamina E y el Selenio en la Nutrición de Peces

Trabajando con salmones del Atlántico (*Salmo salar*) con deficiencia de vitamina E y luego con suplementación; encontraron peces con anemia, agallas pálidas, anisocitosis, poiquilocitosis, diátesis exudativa, despigmentación cutánea, y además, se suprimió la actividad plasmática de la glutatión peroxidasa; hubo absorción de los sacos vitelinos indicando que eran necesarios los suplementos dietéticos de α -tocoferol y selenio para reducir significativamente la mortalidad (Poston *et al.* 1976); la suplementación con selenio y vitamina E aumentó significativamente la actividad del tocoferol en el hígado, pero no en tejidos de la canal. Los suplementos de vitamina E y el selenio fueron necesarios para evitar la distrofia muscular.

En truchas (*Salmo gairdneri*) al proporcionar dietas adecuadas o deficientes en selenio, vitamina E o ambos, se encontraron que con la dieta deficiente, las ganancias de peso fueron menores que con la dieta adecuada; no ocurrió mortalidad, pero sí diátesis exudativa. Los niveles de selenio y vitamina E en el plasma, disminuyeron a niveles muy bajos, y la actividad de la GSH-Px, en el hígado y plasma fue significativamente menor. Asimismo, hubo una interacción significativa entre los dos nutrientes respecto al volumen celular y formación de malondialdehído en la peroxidación del lípido (Bell *et al.* 1985).

Se realizó una investigación con el pez gato (*Ictalurus punctatus*) para determinar los efectos de deficiencias individuales y combinados del selenio y vitamina E en alevinos. Las deficiencias combinadas de selenio y vitamina E causaron una reducción del crecimiento, anemia, miopatía severa, diátesis exudativa y muerte. En cambio, las deficiencias individuales del selenio o la vitamina E no produjeron ninguno de esos signos de deficiencia. Dietas deficientes en selenio con y sin vitamina E, ha reducido la actividad de la GSH-Px y elevado la actividad del glutatión transferasa en el hígado. La deficiencia de vitamina E causó una elevada peroxidación del lípido, lo que no fue afectado por la suplementación con selenio. Los resultados también indicaron que hay una interacción entre el selenio y vitamina E en la nutrición del pez gato (Delbert *et al.* 1986).

Wise *et al.* (1993) en un similar estudio con pez gato (*Ictalurus punctatus*) corroboraron que las membranas celulares de los glóbulos rojos de peces alimentados con dietas deficientes en vitamina E eran más susceptibles a la peroxidación que aquellos peces alimentados con dietas adecuadas. En peces alimentados con dietas deficientes en selenio, la actividad de la GSH-Px fue suprimida en comparación con los peces alimentados con dietas que contenían niveles recomendados o más de selenio. Los resultados también indicaron que niveles superiores a las recomendadas de uno o de ambos nutrientes pueden aumentar la función de los macrófagos.

Una investigación realizada con alevinos del salmón real (*Oncorhynchus tshawytscha*) infectados por el *Renibacterium salmoninarum* (agente causante de la enfermedad renal bacteriana), fueron alimentados con dietas que contenían diferentes niveles de vitamina E y selenio. Luego de 334 días, no se produjo mortalidad en el grupo alimentado con la dieta adecuada de selenio y vitamina E, mientras que la mortalidad fue del 3 % en los peces alimentados con dietas adecuadas de selenio y bajas de vitamina E o bajas en selenio y

adecuadas en vitamina E, y el 31 % en los peces con la dietas baja en selenio y baja en vitamina E (Thorarinsson *et al.* 1994).

Se llevó a cabo un ensayo para evaluar la biodisponibilidad y toxicidad del Se orgánico e inorgánico en alevinos del híbrido róbalo norteamericano (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*). Después de 12 semanas de estudio, no encontraron signos de deficiencia de selenio en ninguno de los experimentos. Sin embargo, peces alimentados con dieta que contenía más de 20 mg Se/kg, mostraron signos de toxicidad, incluyendo el aumento de peso con retraso, reducción en la ingesta de alimento y eficiencia alimenticia, así como aumento de la mortalidad. Así mismo, la biodisponibilidad de selenio orgánico como fuente de selenio para los alevinos fue significativamente más alto (3,3 veces) que la selenita de sodio (Jaramillo *et al.* 2009).

Pezzato *et al.* (2010) realizaron un experimento sobre parámetros fisiológicos en tilapias del Nilo a diferentes niveles de selenio y vitamina E; resultando que, ni la falta, ni el suplemento de 0,25 mg Se/kg, afectó significativamente la disponibilidad de selenio; no se observaron diferencias significativas en los parámetros hematológicos para los diferentes niveles de suplementación con selenio, vitamina E, o la interacción entre ellos. También, los diferentes niveles de selenio y vitamina E y su interacción no afectaron la concentración de hemoglobina corpuscular. Igualmente, el selenio y la vitamina E no afectaron la ganancia de peso, conversión alimenticia aparente y los parámetros hematológicos de los peces, siendo mayor la disponibilidad de selenio y su concentración en el hígado, al aumentar los niveles de selenio en la ración.

Según Gisele *et al.* (2011) en un estudio con el pacú (*Piaractus mesopotamicus*), que tiene la característica de desarrollar lentamente, observaron el rol del selenio y la vitamina E en el crecimiento de los peces. Fueron distintos los niveles de selenometionina y de la vitamina E en forma de α -tocoferol. Después de 75 días no se observó mortalidad durante el experimento; el selenio y la vitamina E no afectaron el consumo de la dieta; no se observaron interacciones para cualquier variable analizada. Para la ganancia de peso, los peces alimentados con 0,6 mg selenio/kg dieta lograron la mayor ganancia de peso. Sin embargo, la suplementación dietética con 1,2 mg selenio/kg dieta generó reducción en la ganancia de peso, lo que sugiere ser signo principal de intoxicación por el selenio.

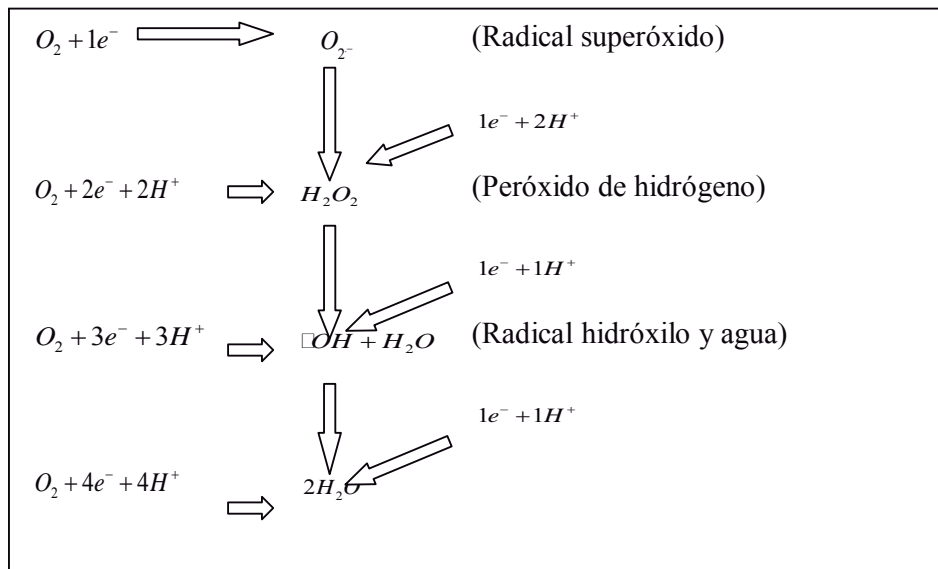
2.3 ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO

2.3.1 Radicales Libres

Los radicales libres son átomos o moléculas muy reactivas con un electrón no apareado en la órbita mas externa (Gilbert 2000). Esta condición de no apareado los hace altamente electrofilicos cuyas reacciones tienden siempre a restaurar la deficiencia electrónica (Van Haaften *et al.* 2003); además son muy inestables. Ejemplos de radicales libres de oxígeno son los radicales superóxido (O_2^-), hidroxilo (OH^\bullet), peroxilo (RO^*_2), alcoxilo (RO^*) e hidroperoxilo (HO^*_2) (figura 8).

Por otro lado, los radicales libres de nitrógeno son el óxido nítrico (NO^\bullet) y dióxido de nitrógeno (NO_2^\bullet). Los radicales libres del oxígeno y los de nitrógeno pueden convertirse a otras especies reactivas sin radical, como el peróxido de nitrógeno (H_2O_2), ácido hipocloroso ($HOCl$), ácido hipobromoso ($HOBr$) y peroxinitrito ($ONOO^\bullet$). El oxígeno reactivo, especies reactivas de nitrógeno y especies reactivas de cloro son producidos en animales y humanos en condiciones fisiológicas y patológicas (Evans y Halliwell 2001).

Figura 8: Especies reactivas de oxígeno.



Fuente: Salin (1988).

Según Salin (1988), la reducción del oxígeno hasta agua se puede llevar a cabo a lo largo de cuatro reacciones monovalentes, por las que se va incorporando un electrón ($1e^-$) a la

molécula que se va formando en cada etapa. La reducción total del oxígeno (figura 8), también se puede producir en una sola etapa por la incorporación de cuatro electrones.

2.3.2 Formación de los Radicales Libres

Los radicales libres son compuestos fisiológicos normales que se producen por efecto del metabolismo celular; es el caso del radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) y el óxido nítrico (NO^{\bullet}), entre otros. La fuente más importante de producción de superóxido ($O_2^{\bullet-}$) posiblemente es la cadena transportadora de electrones mitocondriales. Si bien la enzima citocromo-oxidasa libera cantidades no detectables de electrones hacia el O_2 para formar este radical, componentes de la cadena transportadora ubicados anteriormente a la citocromo-oxidasa, liberan un porcentaje mucho mayor de electrones (estimado en un 5 % del total consumido) para producir $O_2^{\bullet-}$ (Boonstra y Post 2004).

Halliwell y Gutteridge (1999) han sugerido que en condiciones fisiológicas de presión parcial de O_2 , entre el 1 y el 3 % del mismo se reduce a superóxido ($O_2^{\bullet-}$) en la mitocondria. Asimismo, muchas teorías acerca del mecanismo de envejecimiento descansan en la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) incrementada con el tiempo de vida.

El radical óxido nítrico (NO^{\bullet}) es un gas sintetizado en bajas concentraciones de manera constante por la enzima óxido nítrico sintasa (NOS), la cual es activa en muchos tejidos. Se produce a partir de la oxidación del aminoácido L-arginina, dando como productos L-citrulina y óxido nítrico (NO). La enzima NOS es un homodímero que usa el poder reductor del NADPH para oxidar a la L-arginina (Bove y Van Der Vliet 2006).

Este óxido nítrico es formado desde la L-arginina por una de las tres isoformas del NO sintasa (NOS): óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS), óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) (originalmente identificado como *inducible* por las citoquinas en los macrófagos activados e hígado. También es conocido como NOS-II o NOS-2) y eNOS (originalmente identificado integrante de las células endoteliales vasculares. También conocido como NOS-III o NOS-3) (Wu y Morris 1998).

El radical NO^{\bullet} actúa como mediador importante en el control del tono del músculo liso vascular y es sintetizado por una de las tres isoformas de la NOS, la denominada *endotelial* (eNOS). Una vez producido, el NO difunde hacia el músculo liso que integra los vasos

sanguíneos para activar a la enzima guanilato-ciclasa. El consecuente aumento de guanosín monofosfato cíclico (GMPc) hace que se relaje el músculo disminuyendo así la presión arterial e incrementando la volemia. En el cerebro actúa como neurotransmisor, sintetizado por la isoforma NOS *neuronal* (nNOS). Existe, por último, en los macrófagos una isoforma de NOS *inducible* (iNOS) que produce este radical bajo ciertas circunstancias para actuar como agente antiinfeccioso al favorecer la producción del radical peroxinitrito (ONOO^-) por reacción con peróxido (H_2O_2) o superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) generados *in situ* por los mismos macrófagos (Miersch y Mutus 2005).

Según Miersch y Mutus (2005), el radical óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$) tiene una vida media muy breve en los tejidos (de 3 a 10 segundos) ya que reacciona con el O_2 y el $\text{O}_2^{\cdot-}$ formando dióxidonitrico ($\text{NO}_2\cdot$) y peroxinitrito (ONOO^-) respectivamente.

El radical peroxinitrito (ONOO^-) puede descomponerse para producir más especies reactivas, tales como el radical hidroxilo ($\text{OH}\cdot$) y el radical dióxidonitrico ($\text{NO}_2\cdot$) o se dismuta generando ión nitrito (NO_2^-) y el anión nitrato (NO_3^-). Además, el radical óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$) puede auto oxidarse produciendo las especies reactivas de nitrógeno (RNS) como anhídrido nitroso (N_2O_3) y dióxidonitrico ($\text{NO}_2\cdot$). Durante todo el ciclo de vida, cualquier animal puede estar en riesgo de estrés oxidativo fomentado por las altas tasas de uso del oxígeno, activación autoinmune celular del sistema inmune y factores los ambientales (Schopfer *et al.* 2003) (cuadro 2).

Cuadro 2: Clasificación y abreviatura de los radicales libres.

Clasificación	Radical libre	Abreviatura
Especies reactivas del oxígeno	Oxígeno singlete Ión superóxido Radical hidroxilo Peróxido de hidrógeno Radicales alcoxi y peroxi Radical hidroperoxilo	$^1\text{O}_2$ $\text{O}_2^{\cdot-}$ $\text{OH}\cdot$ H_2O_2 $\text{RO}\cdot$ y $\text{ROO}\cdot$ $\text{ROOH}\cdot$
Especies reactivas del nitrógeno	Óxido nítrico Dióxido nítrico Peroxinitrito	$\text{NO}\cdot$ $\text{NO}_2\cdot$ $\text{ONOO}^{\cdot-}$
Especies radicales del azufre	Radical tiilo	$\text{RS}\cdot$
Especies reactivas del cloro	Ácido hipocloroso	HOCl

Fuente: Fernández *et al.* (2009).

Leonard *et al.* (2004) sostienen que el sistema de transporte mitocondrial es la fuente del radical superóxido debido a que el NADH, NADPH y FADH₂ son producidos casi exclusivamente mediante el metabolismo aeróbico de la proteína, grasa y glucosa. Un aumento en la ingesta de energía dietaria mejora la producción del radical libre mitocondrial, lo que produce el estrés oxidante; aunque en algunos casos el oxígeno del radical libre es necesario para combatir a las bacterias, el cual involucra un sistema que genera especies reactivas de oxígeno (ROS); así, una vez que el microorganismo ha sido internalizado en la célula, la enzima NADPH oxidasa (localizada en la membrana plasmática del leucocito) convierte el O₂ contenido en el tejido circundante en O₂^{•-}. Luego, el O₂^{•-} se convierte de manera espontánea en H₂O₂.

Se señalan que otra fuente endógena de ROS se localiza en la reacción catalizada por la enzima xantino-oxidasa (XO). Esta enzima forma parte de un grupo denominado flavinhidroxilasas que cataliza la hidroxilación de purinas y compuestos relacionados; en particular, la XO cataliza la transformación de hipoxantina a xantina, y de xantina a ácido úrico, por lo que se trata de un proceso que es sumamente activo en mamíferos. En ambos pasos, el O₂ es reducido en un primer momento a O₂^{•-} para luego ser convertido en H₂O₂ (Valko *et al.* 2006).

Una exposición prolongada a los radicales libres aún a una baja concentración puede producir daño a moléculas biológicamente importantes conduciendo posiblemente a la mutación del ADN, daño al tejido y enfermedades (Mc Cord 2000).

2.3.3 Estrés Oxidativo

El estrés oxidativo se origina por un desequilibrio entre la producción de ROS y RNS y la capacidad antioxidante de la célula. Las ROS incluyen, entre otras, el anión superóxido (O₂⁻), los radicales hidroxilo ([•]OH) y el peróxido de hidrógeno (H₂O₂); y las RNS incluyen el óxido nítrico (NO[•]), dióxido de nitrógeno (NO₂[•]) y el peroxinitrito (ONOO[•]), entre otras moléculas. El daño a los tejidos causado por estrés oxidativo se ha relacionado con diversos fenómenos biológicos, incluyendo envejecimiento, carcinogénesis, aterosclerosis y neurodegeneración (Halliwell 2006).

De otro lado, Agarwal y Tamer (2005) dividieron el estrés oxidativo en tres etapas (adaptación, agudo y crónico), considerando las características del daño estructural y

funcional ejercido en la salud como consecuencia de la reactividad de las diferentes especies reactivas, así como el tiempo de exposición a las mismas y la evidencia concomitante de modificaciones en los procesos biológicos afectados.

2.3.4 Efecto Biológico y Daños Ocasionados por los Radicales Libres

El oxígeno molecular es fundamental para la vida aeróbica; en consecuencia, los radicales libres ejercen un rol importante en el origen de la vida y evolución biológica, incluyendo sus efectos benéficos en los organismos. Sin embargo, el exceso de los radicales del oxígeno ejercen acciones críticas como la transcripción génica y la regulación de la actividad soluble del guanilato-ciclasa en las células (Zheng y Storz 2000). Asimismo, el óxido de nitrógeno (NO) es una de las moléculas señalizadoras más difundidas y participa en casi toda la función celular y de órganos corporales.

El nivel fisiológico del NO producido por las células endoteliales es esencial para regular la relajación y proliferación de las células del músculo liso vascular, adhesión del leucocito, acumulación de plaquetas, angiogénesis, trombosis, tono vascular y hemodinámica (Ignarro *et al.* 1999).

El efecto citotóxico de los radicales libres es perjudicial a las células de mamíferos e interviene en la patogénesis de muchas enfermedades crónicas, pero es responsable de matar a los patógenos mediante los macrófagos activados y otros fagocitos en el sistema inmune. Además, el óxido de nitrógeno (NO) producido por las neuronas sirve como neurotransmisor. Sin embargo, como los oxidantes e inhibidores de enzimas contienen un centro de hierro-azufre, radicales libres y otras especies reactivas producen la oxidación de las biomoléculas: lípidos, ADN, proteínas y aminoácidos, que luego conduce al daño y muerte celular (Mc Cord 2000).

2.3.5 Daño en Lípidos

En los lípidos donde se produce el mayor daño celular, y es la peroxidación de lípidos la que genera cambios en la fluidez y permeabilidad; este proceso se da en tres etapas: iniciación, propagación y terminación (Hallywell y Guteridge 1999).

La peroxidación lipídica se inicia cuando las ROS atacan un ácido graso poliinsaturado (AGPI) y le quitan un átomo de hidrógeno al grupo metileno adyacente al doble enlace,

para formar el radical libre acilácido graso. Rápidamente esta molécula adiciona oxígeno y se transforma en un radical libre, peroxilo ácido graso, que actúa como transportador de la reacción en cadena ya que ataca a otros AGPI e inicia nuevas reacciones (Blokhina *et al.* 2003). Así también, éste mecanismo de propagación se facilita con la presencia de iones de metales de transición y por los dobles enlaces contenidos en la cadena de ácidos grasos poliinsaturados.

Los productos terminales son lípidos peroxidados, que al degradarse originan nuevos radicales libres y una variedad de compuestos citotóxicos, como los aldehídos, entre ellos: el 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE) y malondialdehído (MDA); aunque este último posee una baja toxicidad. Las consecuencias del daño en la estructura molecular del ácido graso poliinsaturado son más evidentes cuando estos lípidos forman parte de las membranas celulares o subcelulares, que alteran su cohesión y función metabólica produciéndose edema y por lo tanto muerte celular (Cerolini *et al.* 2001).

Valko *et al.* (2006) sostienen que los peróxidos, tanto los orgánicos como el mismo peróxido de hidrógeno, son especies muy inestables, cuya reactividad va a estar determinada por su grupo R. El radical peróxido más simple es el dioxihidroperóxido (HOO^\bullet), que es el ácido conjugado del ión $\text{O}_2^{\bullet-}$. Los radicales peróxidos están involucrados en el clivaje del ADN y la modificación de la estructura de las proteínas, además de aumentar sinérgicamente la inducción del daño al ADN por parte de los iones $\text{O}_2^{\bullet-}$. La medición y detección de peróxidos lipídicos, forma más empleada para evidenciar la implicancia de los radicales peróxidos en las toxicosis y otras enfermedades humanas.

2.3.6 Daño en las Proteínas

Las proteínas son alteradas por los radicales libres de oxígeno principalmente sobre los enlaces insaturados, los anillos aromáticos y los grupos tiol (-SH) de los aminoácidos. Así por ejemplo, el hierro de la oxihemoglobina puede reaccionar con el radical superóxido o el peróxido de hidrógeno para formar la metahemoglobina (Freeman *et al.* 1995).

Las proteínas sufren varios tipos de oxidación; una de ellas, la formación de grupos carbonilo, que ha sido utilizado metodológicamente para evaluar el grado de daño oxidativo en diferentes sistemas biológicos. A pesar, que se desconocen los mecanismos que vinculan oxidación proteica y procesos como proteólisis, apoptosis y reproducción, se

acerca en descubrir el papel de la oxidación proteica en la fisiología celular (Díaz–Acosta y Membrillo-Hernández 2006).

Según Nyström (2005), la carbonilación ocurre principalmente en los residuos prolina, arginina y lisina, pues son los residuos más susceptibles a la oxidación catalizada por un metal, que se produce por reacción del H_2O_2 con un metal de transición (Fe^{2+}/Fe^{3+}) produciendo el radical hidroxilo (HO^\bullet), el cual a su vez, reacciona con las cadenas laterales de los aminoácidos adyacentes al sitio de unión al metal de la proteína. Los productos de la carbonilación de estos residuos son el semialdehído glutámico (producto de la oxidación de arginina y prolina) y semialdehído aminoadípico (producto de la oxidación de lisina).

Las proteínas con proporciones elevadas de triptófano, tirosina, fenilalanina, histidina, metionina y cisteína pueden sufrir modificaciones a causa de dichos radicales. Así, se ha observado que enzimas tales como la papaína, la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa e incluso la superóxido dismutasa, que dependen de estos aminoácidos para ser activas, son inhibidas en presencia de radicales libres. Las reacciones de los radicales con los aminoácidos mencionados, dan lugar a cambios estructurales en las proteínas, con formación de puentes disulfuro intra e intermoleculares que desencadenan procesos de agregación molecular (Gebicki y Gebicki 1993).

Asimismo, según Stadtman *et al.* (1992) el envejecimiento conlleva la acumulación de proteínas dañadas, debido a un aumento con la edad de la velocidad de oxidación de las mismas, a una disminución de la capacidad de degradar estas proteínas, o ambos a la vez.

2.3.7 Daño al ADN

Higuchi y Linn (1995) indican que los radicales libres pueden atacar a los ácidos nucleicos, cuya citotoxicidad se debe en gran parte a las aberraciones cromosómicas que sufren los azúcares y las bases nitrogenadas del ADN al reaccionar con dichos radicales, sobre todo con OH^\bullet . Este ADN, por su localización, se encuentra expuesto a un flujo constante y elevado de las especies reactivas de oxígeno (ROS) proveniente de la cadena respiratoria; además, carece de histonas en su estructura, lo que resta estabilidad. Las ROS, daña al ADN al reaccionar con las bases nitrogenadas y con la desoxirribosa (Tamer *et al.* 2005).

Valko *et al.* (2006) señalan el daño al ADN resulta en una inducción de la transcripción de ciertos genes, activación de vías de señalización vinculadas a la supervivencia celular, errores

en la replicación e inestabilidad génica. Todas estas consecuencias están íntimamente asociadas con los efectos citotóxicos y con la proliferación y carcinogénesis. También, en presencia de ROS, se fragmenta el ADN y aparecen fragmentos internucleosomales, formados por la ruptura del ADN entre los nucleosomas (estructuras fundamentales para la organización del ADN dentro de los cromosomas), ocasionando con ello, problemas en la compactación y enrollamiento del ADN dentro de la cromatina, y con ello, alteraciones en las propiedades funcionales de la misma cromatina, la cual juega un papel importante en la regulación de la transcripción genética (Agarwal y Allamaneni 2005).

Algunos estudios muestran que cuando las ROS alcanzan el núcleo o se generan dentro de éste, existen mecanismos de reparación que funcionan de manera eficiente, porque continuamente revisan que exista una adecuada secuencia de bases en la molécula del ADN, y en caso de que exista alguna mutación (ya sea ruptura, entrecruzamiento o eliminación de bases) reparan el daño causado, y cuando la modificación es más extensa del ADN, actúa el sistema de reparación por escisión de nucleótidos, removiendo todo el segmento dañado a través de una nucleasa, para ser remplazado por la ADN polimerasa I y la ligasa (Agarwal y Tamer 2005).

Según Ames *et al.* (1993) Las lesiones oxidativas al ADN parecen estar implicadas no sólo en el envejecimiento celular, sino también en la patogénesis de las enfermedades asociadas a la edad avanzada. Según estudios realizados, el daño oxidativo al ADN y la mutagénesis son dos causas importantes del cáncer. El ADN dañado es reparado por enzimas que cortan la parte afectada, que es entonces excretada por la orina. Puesto que las enzimas reparadoras no llegan a eliminar todas las lesiones, estas lesiones se acumulan, con lo que el número de mutaciones aumenta con la edad.

2.3.8 Daño a los Carbohidratos

Los carbohidratos reaccionan con facilidad con el radical hidroxilo. Los mono y disacáridos resisten la acción de los radicales libres de oxígeno. La glucosa constituye un captador del radical superóxido, al retenerlo e impedir su acción sobre otras moléculas. La manosa y el manitol son eliminadores del radical hidroxilo. Por ello, se ha observado que diversos polisacáridos actúan como agentes protectores celulares (Albertini *et al.* 1996; Blokhina *et al.* 2003).

La glucosa y otros monosacáridos tienen propiedades reductoras, por lo que la glucosa puede enolizar y reducir el oxígeno molecular, produciendo H_2O_2 y otros radicales libres; estos hechos indican la posibilidad de que los radicales libres que se están produciendo continuamente en la mitocondria, en condiciones normales, se produzcan en mayores cantidades, tanto por defectos en el metabolismo de la glucosa, o anomalías en la eliminación de radicales libres en presencia de hiperglucemia (Kashiwagi *et al.* 1994).

El daño oxidativo a los carbohidratos reviste importancia cuando se trata de polisacáridos de función estructural, debido a que los polisacáridos son despolimerizados por los radicales libres dando lugar a procesos degenerativos; un caso especial, el ácido hialurónico cuya función estructural reside en mantener la viscosidad del fluido sinovial, el cual se despolimeriza en presencia de concentraciones elevadas de radicales hidroxilo, provocando un descenso de la viscosidad del líquido sinovial de las articulaciones (Borel *et al.* 1988).

Asimismo, Wolff y Dean (1987) han observado una relación directa entre radicales libres y el estrés oxidativo en la diabetes mellitus, una enfermedad inicialmente caracterizada por una pérdida en la homeóstasis de la glucosa; así como también, con las complicaciones diabéticas. Al respecto, se postula que una regulación anormal en el metabolismo de los peróxidos y los metales de transición colaboran en el establecimiento de la enfermedad, así como en las complicaciones que aparecen a largo plazo.

2.3.9 Sistema de Defensa Antioxidante

De acuerdo a Sies y Stahl (1995), definen como antioxidante a la molécula que, estando presente en bajas concentraciones respecto a un sustrato oxidable, detiene o elimina la capacidad pro-oxidante del mismo. Esta defensa es de suma importancia que otorga a los sistemas biológicos la mínima protección necesaria para llevar adelante una fisiología compatible con la vida; estos antioxidantes que actúan por un mecanismo de rotura de cadena, en donde se puede situar a la vitamina E, que reacciona principalmente con los radicales peroxilo.

Los organismos superiores han desarrollado un conjunto de sistemas fisiológicos que se encargan de eliminar las especies reactivas de oxígeno (ROS), tratando de mantener el estado de equilibrio entre oxidantes y antioxidantes (Evans y Halliwell 2001). Por lo tanto,

los efectos de los radicales libres y de las especies radicales (ROS o RNS) son contrarrestados fisiológicamente por la acción de sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.

Los antioxidantes al colisionar con un radical libre, ceden un electrón, oxidándose a su vez y transformándose luego en un radical libre débil no tóxico y debido a que interactúan más rápido con los radicales libres que con el resto de las moléculas presentes, impiden que otras moléculas se unan al oxígeno. Su acción la ejercen en un determinado microambiente que puede ser, la membrana plasmática, el citosol, el núcleo y el líquido extracelular (Asikainen y White 2005).

Venero (2002) afirma que la acción del antioxidante es la pérdida de su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas funcionalmente vitales o más importantes. Su acción la realizan tanto en medios hidrofílicos como hidrofóbicos.

Los antioxidantes exógenos actúan como moléculas que se oxidan al neutralizar al radical libre, por lo que la reposición de ellos debe ser continua, mediante la ingestión de los nutrientes que los contienen. Los mecanismos de protección contra las especies radicales, sean ROS o RNS, se clasifican en dos categorías, a saber, la defensa de antioxidantes enzimáticos y antioxidantes celulares no enzimáticos (Dawson y Dawson 1996).

a) Antioxidantes enzimáticos

La protección enzimática contra las especies reactivas de oxígeno (ROS) y productos descompuestos de los lípidos peroxidados y del ADN oxidado es proporcionada por diferentes enzimas como el superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GSHPx), catalasa (CAT), glutatión reductasa, y proteínas que se unen a los metales para impedir la formación de los radicales libres.

a.1) Superóxido dismutasa (SOD)

La SOD está presente en todas las células del cuerpo, cataliza el cambio del radical superóxido a peróxido de hidrógeno. Presenta tres isoformas que, si bien difieren principalmente en la naturaleza del metal que compone el sitio activo de la enzima (Cu, Zn para la citosólica; Fe para la extracelular y Mn para la mitocondrial), poseen un mismo mecanismo de dismutación del anión superóxido ($O_2^{\cdot -}$). Esta

dismutación es una reacción en la que dos moléculas de sustrato idénticas tienen destinos diferentes, una molécula de superóxido se oxida y la otra se reduce (McCord y Fridovich 1969).

De acuerdo a Sentman *et al.* (2006), la primera defensa contra el radical superóxido que existen en el ser humano y otros mamíferos, son los siguientes tipos:

- CuZn SOD: Que actúa en el espacio intermembranal mitocondrial, citosol y núcleo.
- Mn SOD: Actúa en la matriz mitocondrial. Es la isoforma funcionalmente más importante.

La deficiencia de CuZn-SOD y/o de SOD extracelular sólo tiene efectos moderados. La principal función de la SOD es la protección contra el anión superóxido; así también, la biosíntesis de esta enzima (SOD) se encuentra fuertemente regulada por la concentración del sustrato sobre el cual actúa (Blokhina *et al.* 2003).

a.2) Catalasa (CAT)

Esta enzima es una hemo-proteína dependiente del hierro que se localiza en los peroxisomas (Turrens *et al.* 1984). La enzima CAT, se encuentra en todos los tejidos del cuerpo aunque su actividad se concentra en niveles superiores en el hígado, riñones y eritrocitos; dentro de las células, en los peroxisomas y se encarga de catalizar la conversión de H_2O_2 en H_2O y O_2 (Nishikawa *et al.* 2009).

Sin embargo, su afinidad por el agua es baja, por lo que se requieren altas concentraciones para su descomposición. La CAT, una enzima ferroporfirínica intracelular, está formada por cuatro subunidades, cada una de las cuales presenta un grupo *hemo* unido al sitio activo (Casado y López-Fernández 2003).

Nishikawa *et al.* (2009) afirman que en humanos se han encontrado mutantes deficientes en esta enzima, los cuales se pueden dividir en dos categorías: *acatalasémicos*, cuando la actividad de la CAT se encuentra por debajo del 10 % respecto de los valores normales, e *hipo-catalasémicos* cuando la actividad alcanza valores hasta la mitad de la actividad normal.

La CAT tiene dos funciones fundamentales; la primera cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno, proveniente de la dismutación del superóxido, en agua y oxígeno. Esta función es compartida con la enzima glutatión peroxidasa que no requiere de cofactores. La segunda función, es peroxidativa y forma parte del sistema antioxidante catalasa/superoxido dismutasa (CAT/SOD) que actúa en presencia de altas concentraciones de H_2O_2 (Venereo 2002).

a.3) Glutatión Peroxidasa (GSH-Px) dependiente del selenio.

La enzima glutatión peroxidasa se halla presente tanto en el citosol y en el espacio mitocondrial de la célula. Rotruck *et al.* (1973) demostraron que el selenio es el elemento esencial en esta metaloenzima en mamíferos, que interviene en el metabolismo del peróxido de hidrógeno y de los peróxidos lipídicos.

También interviene en la cascada de reacciones que catalizan la formación de prostaglandinas, leucotrienos, prostaciclina y tromboxanos a partir del ácido araquidónico (Sunde 1980) encontró que la glutatión peroxidasa tiene 4 subunidades similares o isoformas homólogas (GPX₁, GPX₂, GPX₃ y GPX₄), siendo la GPX₁ la enzima clásica (Ceballos *et al.* 1996, Gladyshev y Hatfield 1999).

Citosólica, y las otras comparten varias características comunes y en donde cada una de ellas posee un átomo de selenio, en la cual éste metal es el centro activo de la enzima, pero en la forma de selenocisteína. Asimismo, en el citosol hay al menos otras dos proteínas idénticas en más de 40 %, pero que no contienen selenocisteína.

Según Hayes y McLellan (1999), además de las GSH-Px que contienen selenio y las proteínas que contienen cisteína y tienen una estructura similar a la GSH-Px, existen muchas moléculas donde el selenio es independiente de la actividad de la GSH-Px en mamíferos. Estas actividades están asociadas principalmente con la glutatión-S-transferasa, que es una familia de enzimas con la actividad dirigida principalmente a hidroperóxidos orgánicos y de muy poca actividad en contra del peróxido de hidrógeno.

Cuadro 3: Principales selenoproteínas en los mamíferos.

SELENOPROTEÍNAS	FUNCIONES	LOCALIZACIÓN
A.- Glutati6n peroxidasas:		
1. Celular (cGPx-GI o GPX ₁)	Remoci3n de hidroper3xidos	Amplia
2. Gastrointestinal (GPx-GI O GPX ₂)	Remoci3n de hidroper3xidos	Gastrointestinal
3. Extracelular (eGSHPx O GPX ₃)	Remoci3n de hidroper3xidos	Plasma
4. fosfol6pido . hidroperoxidasa (PHGPx o GPX ₄)	Remoci3n de fosfol6pidos e hidroper3xidos	Amplia, test6culos
B. 5' Triyodotironina deyodinasas (5'-DI):	Conversi3n de T4 a T3,	Gl6ndula tiroides
1. Tipo 1 5'-DI	Conversi3n de T4 a rT3	H6gado, ri6n3n.
2. Tipo 2 5'-DI	Conversi3n T4 a T3	Gl6ndula pituitaria, SNC, Tejido adiposo marr3n.
3. Tipo 3 5'-DI	Conversi3n T4 a rT3	Placenta
C. Tioredoxin reductasa (TrxR)		
1. TRxR1	Reducci3n de tioredoxin	Amplia (citosol)
2. TRxR2	Reducci3n de tioredoxin	Amplia
3. TRxR3	No hay informaci3n	No hay informaci3n
D. Selenoprote6na P	Antioxidante? Acarreadora de Se?	Plasma
E. Selenoprote6na W	No se conoce	Amplia, m6sculo
F. Selenofosfato sintetasa 2 (SPS2):	S6ntesis de selenofosfato	Amplia
H. Selenoprote6na 15-kDA	No hay informaci3n	Amplia
I. Sel T	No hay informaci3n	No se conoce
J. Sel R/Sel X	No hay informaci3n	No se conoce
K. Sel N	No hay informaci3n	No se conoce

Fuente: Himeno e Imura (2000).

De acuerdo a Himeno e Imura (2000), mostrado en el cuadro 3, han llegado a clasificar 17 selenoproteínas en mamíferos, y entre estas están las del grupo glutatión peroxidasa, empezando por la glutatión peroxidasa clásica o citosólica (cGSP-Px o GSH-Px₁), luego se halla las otras enzimas genéricas como la glutatión peroxidasa gastrointestinal (GPX-GI o GSH-Px₂), la glutatión peroxidasa extracelular o plasmática (eGSH-Px o GSH-Px₃), y la glutatión peroxidasa fosfolípido-hidroperoxidasa (PHG-Px o GSH-Px₄).

Según Chu *et al.* (1993), la GPX-GI tendría como principal función la de proteger a los mamíferos de los hidroperóxidos lipídicos ingeridos con la dieta. La función antioxidante de la enzima eGSH-Px es plasmática y actúa catalizando la reducción del H₂O₂ y los hidroperóxidos lipídicos (Ottaviano *et al.* 2009). La enzima PHG-Px, aislada del citosol actúa reduciendo los fosfolípidos hidroperóxidos; en mamíferos es muy abundante, después de la cGSP-Px (Ursini *et al.* 1997).

Membrillo *et al.* (2003) afirma que la PHG-Px, es la selenoproteína en el esperma y participa de los mecanismos enzimáticos durante la espermatogénesis. Cualquier disminución en la actividad de la enzima o el contenido, puede crear trastornos en la espermatogénesis y la capacidad de los espermatozoides para la fertilización.

Según Burk *et al.* (2003), estas familias de selenoproteínas que incluyen las glutatión peroxidasa, las triyodotironinas deiodinasas y las tioredoxinas reductasas, son las metaloenzimas que se aprovechan de las propiedades químicas del selenio para catalizar, y proteger a las células de las especies reactivas de oxígeno mediante la eliminación de hidroperóxidos por el glutatión, la desyodación de las hormonas tiroideas y el apoyo de los procesos celulares que requieren reducción de disulfuros.

La selenoproteína P, es una proteína extracelular que contiene la mayor parte del selenio en el plasma; protegiendo contra el daño oxidativo y transportando el selenio al hígado y a los tejidos periféricos. Otra función, impide la propagación de radicales libres al disminuir los peróxidos inestables que se forman cuando estos atacan a los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares (De Rosa 1998).

a.4) Glutación peroxidasas no dependientes del Selenio

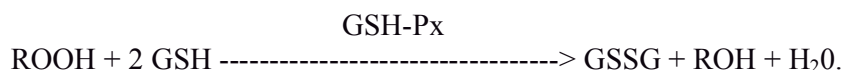
Ketterer y Meyer (1989) hacen conocer la existencia de un segundo grupo de GSH-Px en animales, la Glutación-S-transferasas (GST), que no requieren selenio para su actividad. Es de particular interés la GSH-transferasa, enzima extraída de los núcleos de la célula y que tiene alta actividad sobre los hidroperóxidos del ADN.

Kim y Lee (2007) indican asimismo, que presenta dos isoformas: GST citosólicas y GTS microsomales, donde catalizan la conjugación del glutati3n reducido GSH con numerosos xenobi3ticos. Estos productos conjugados pueden ser excretados a trav3s de la bilis o ser convertidos en 3cido mercapt3rico en el ri3n y ser eliminados por la orina. As3 tambi3n, Blokhina *et al.* (2003) sostienen que pueden detoxificar al 4-hidroxinonenal, un producto de la lipoperoxidaci3n.

Esta familia de enzimas es uno de los mayores grupos de enzimas detoxificantes, implicadas en el metabolismo de muchos xenobi3ticos. El amplio rango de sustratos de la enzima GST permite proteger a la c3lula mediante la conjugaci3n de la glutati3n (GSH) a sustratos electrof3licos, generando compuestos menos reactivos y m3s solubles, que son f3cilmente eliminados de la c3lula. Se encuentran en c3lulas de muy diversos tejidos, conoci3ndose 5 clases de enzimas de GST: alfa, mu, pi, sigma y theta (Hayes y Pulford 1995).

a.5) Glutacion peroxidasa (GSH-Px) en el sistema biol3gico

La enzima glutacion peroxidasa, al igual que la CAT, cataliza la reducci3n del per3xido de hidr3geno; pero a diferencia de la CAT, requiere glutacion reducido (GSH) como sustrato o donante de electrones, al cual oxida convirti3ndolo en glutacion oxidado (GSSG), para extender su acci3n a otros per3xidos org3nicos libres, siendo los 3tomos de selenio los responsables de la actividad catal3tica (Harris 1992):



Al igual que otras selenoproteínas, el sitio activo de la GSH-Px contiene selenio bajo la forma de residuos de selenocisteína incorporada a una cadena polipeptídica conformada por 21 aminoácidos (Chihuilaf *et al.* 2002).

Surai (1999) afirma que la primera línea de defensa celular antioxidante se basa en la actividad de tres enzimas: glutatión peroxidasa, SOD y CAT. Asimismo, la GSH-Px y el selenio tiene propiedades anti-cancerígenas y antivirales; también, cumplen grandes roles en la función y desarrollo reproductivo, inmunocompetencia y de envejecimiento.

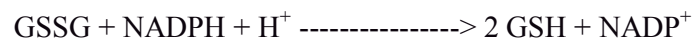
En nutrición animal, un nivel de defensa antioxidante y destoxificación del H₂O₂ por la acción de la SOD y destoxificación de hidroperóxidos en la célula esta en función de la actividad de la GSH-Px dependiente del selenio, que a su vez depende del nivel adecuado de selenio en la célula; además, aún a muy altos niveles de vitamina E dietario, es necesario el selenio con la GSH-Px (Surai 2002).

En salud humana esta enzima, además de combatir un aumento del estrés oxidativo en las células, es transformada en estadios tardíos de la espermatogénesis en una proteína estructural de la membrana mitocondrial del espermatozoide.

En los espermatozoides se asocian bajos valores de GPX₄ con infertilidad masculina, aunque se postula que esto no se debería a un déficit de selenio sino a la presencia de variantes polimórficas (Reeves y Hoffmann 2009).

a.6) Glutathion reductasa (GR)

La enzima glutathion reductasa es una enzima flavoproteína (tiene flavinadenina dinucleótido, FAD), perteneciente a las selenoproteínas que cataliza la reducción de NADPH, provenientes principalmente de la ruta de las pentosas fosfato, para convertir el GSSG en GSH (Halliwell y Gutteridge 1999):



Durante la catálisis, el NADPH reduce al FAD, el cual transfiere luego los electrones al puente disulfuro que forman las cisteínas en el GSSG para reducirlo. La reacción es esencial para el mantenimiento de los niveles de glutathion. Esta

molécula tiene un importante papel como reductor de los procesos de óxido-reducción, actuando también en los procesos de detoxificación y en otras funciones celulares de gran importancia.

La actividad de esta enzima permite mantener los niveles de GSH para la acción de la glutatión peroxidasa. Es beneficioso, por lo tanto, un elevado balance GSH/GSSG para el mantenimiento de la salud, ya que así se promueve la detoxificación del peróxido de hidrógeno y de otros agentes tóxicos externos (Arteel y Sies 2001).

b) Antioxidantes no enzimáticos.

Además de los antioxidantes enzimáticos, la célula dispone de un conjunto de antioxidantes no enzimáticos para contrarrestar la agresión oxidativa que causan los radicales libres. Algunos de estos antioxidantes no enzimáticos son hidrosolubles, como la vitamina C o el glutatión, y otros son liposolubles, como los β -carotenos o la vitamina E (Sies y Stahl 1995).

b.1) Vitamina C

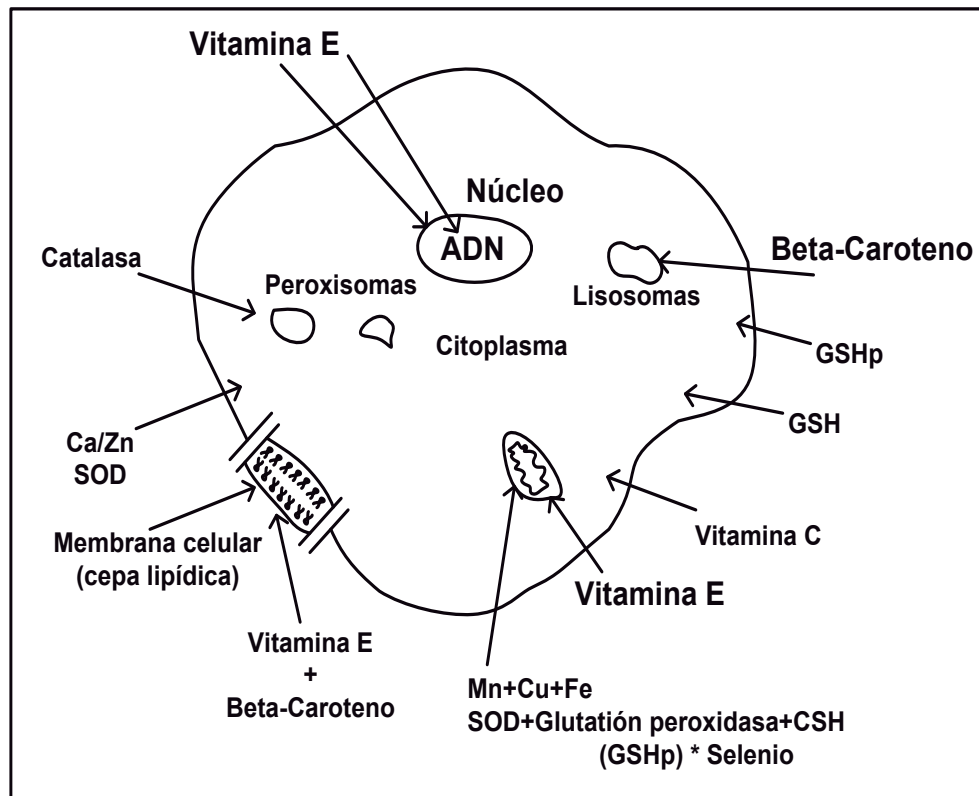
La vitamina C (ácido ascórbico) actúa como cofactor de muchas enzimas entre las que destacan la prolina-hidroxilasa y la lisina-hidroxilasa, involucradas en la biosíntesis del colágeno, importante en el mantenimiento del tejido conjuntivo y la cicatrización de heridas, o en los procesos de reparación tisular en general. Su carencia se asocia con enfermedades como el escorbuto y la fragilidad en las paredes de los vasos sanguíneos. Cierta evidencia experimental indica que la vitamina C poseería efectos mutagénicos, sobre todo en presencia de metales de transición como el Cu^{+2} y el Fe^{+3} (Odin 1997).

(Halliwell y Gutteridge 1999) sostienen que la vitamina E también ayuda a la absorción del hierro en el estómago al reducirlo a su estado ferroso, y favorece la utilización del ácido fólico que se convierte de folato en tetrahidrofolato. Las plantas y muchos animales pueden sintetizarlo a partir de la glucosa, pero los humanos, primates y cuyes carecen de la enzima gulonolactona-oxidasa necesaria para la transformación de la L-gulono- γ -lactona en L-ascorbato. Por este motivo, se debe incorporarla en la dieta.

Zadák *et al.* (2009) indican que reacciona en forma directa con los radicales libres: superóxido, hidroxilo y varios hidroperóxidos lipídicos. A pesar de su importancia como antioxidante, el consumo excesivo conlleva ciertos riesgos como la disminución de la actividad biológica de la vitamina B₁₂ en el intestino.

Como se observa en la figura 9, la vitamina C protege contra el daño oxidativo al ADN, proteínas y contra la peroxidación lipídica de los espermatozoides, actuando también sobre el radical libre tocoferoxilo regenerándolo a vitamina E. Este proceso transforma el ascorbato en el radical libre: hidroascorbato (Membrillo *et al.* 2003).

Figura 9: Lugar de acción de los antioxidantes en la célula.



Fuente: Castillo (1999).

b.2) Vitamina A y beta-carotenos.

Su naturaleza lipofílica y su localización en el compartimento hidrofóbico de las membranas biológicas y lipoproteínas hacen que la vitamina A sea un compuesto

efectivo en la reducción de la peroxidación lipídica, actuando como inhibidor de las reacciones de oxidación en cadena. Esta propiedad antioxidante es típica del retinol más que de sus derivados, incluido el ácido retinoico (Palace *et al.* 1999).

La vitamina A, según Evans y Kaye (1999), término genérico abarca a los compuestos de origen animal que presentan actividad biológica. En los vegetales, existe como pro-vitamina llamada beta-caroteno. Por su conformación estructural excelente capturador de radicales libres. Protege contra la lipoperoxidación, sobre todo, la inducida por el sistema de la xantina oxidasa, y elimina el ion superóxido y radicales peroxilos.

Los principales carotenoides hallados en el plasma humano son: Luteína, criptoxantina, caroteno, y carotenos. Las mayores fuentes de carotenoides de la dieta son las frutas y vegetales ingiriéndose en promedio unos 6 mg/d de los principales carotenoides (Michaud *et al.* 2000).

2.4 ALIMENTOS FUNCIONALES

Se puede definir un alimento como funcional a todo producto alimenticio, natural o procesado, el cual ha sido modificado por adición, remoción o cambio en la biodisponibilidad de algún componente, mediante procesos tecnológicos o biotecnológicos, a los que le han sido atribuidas propiedades benéficas para la salud, más allá de los efectos nutricionales, debido a que pueden favorecer funciones fisiológicas, a los sistemas nervioso, inmune, cardiovascular o reducir el riesgo de adquirir ciertas enfermedades (Shimizu 2003).

El concepto de alimento funcional, se inicia en Japón en el año 1984 como parte de la política del gobierno de mejorar la salud, y a su vez, incluye dos efectos primarios sobre la salud: el aumento de la función fisiológica y la disminución del riesgo de enfermedades (Verschuren 2002).

Este concepto fue introducido hace mucho tiempo por Hipócrates con su lema "Que el alimento sea tu mejor medicina y tu mejor medicina sea tu alimento", existen evidencias que apoyan esta hipótesis de que la dieta puede desempeñar un papel importante en la modulación de las funciones fisiológicas en el cuerpo (Vasiljevic y Shah 2008).

López-Varela *et al.* (2002) afirman que estos alimentos adquieran el nombre de funcional, por ser sometidos a metodologías, que pueden ser la adición, sustitución o modificación de un componente durante el proceso del alimento y son permitidos para desarrollar nuevos productos para el creciente mercado. Los componentes son: Probióticos (bacterias y levaduras), prebióticos (microfloras), simbióticos (mezclas de pre y probióticos), micronutrientes (vitaminas A, C y E, minerales como selenio, ácidos grasos poliinsaturados como los ω -3, etc.).

Según Dye y Blundell (2002), las áreas de la fisiología humana relacionada con la ciencia de los alimentos funcionales son:

Regulación de los procesos metabólicos básicos.

Defensa contra el estrés oxidativo.

Retardo del proceso de envejecimiento.

El sistema cardiovascular.

Fisiología y función gastrointestinal.

Crecimiento y desarrollo de la primera infancia.

Rendimiento cognitivo y mental.

Rendimiento y buen estado físico.

Aunque algunos de estos componentes ya están incluidos en el mercado de los alimentos funcionales (cereales, jugos, productos lácteos, etc.), por el importante papel que desempeñan en la prevención de enfermedades y la promoción de la buena salud. Se supone que como los alimentos convencionales, los alimentos funcionales se deben integrar en la dieta común; no obstante se debe tener cuidado, ya que el sobre-consumo de estos alimentos podría causar un desbalance nutricional (Diplock *et al.* 1999).

De acuerdo a Erickson *et al.* (2000), algunos estudios no tomaban en cuenta que ciertos micronutrientes como el selenio y las vitaminas A, C y E podían tener una gran influencia en los componentes del sistema inmune; aunque Schrauzer (2001), indicó que las formas sintéticas del selenio, como el selenito de sodio y el seleniato de sodio han sido utilizadas en premezclas vitamínicas, mezclas proteicas, productos para perder peso, y alimentos para animales, y últimamente, la seleno-metionina como fuente orgánica, que se utiliza bastante como suplemento en los alimentos.

Vinchira y Muñoz-Ramírez (2010) sostienen que es posible generar productos de origen animal con características funcionales como el pescado, que es un alimento con una composición nutricional de calidad para el humano, y podría llegar a ser enriquecido aún más con algunos nutrientes que han sido reconocidos por sus beneficios para la salud humana, como el selenio.

Cuadro 4: Algunos alimentos funcionales y sus beneficios para la salud.

Alimento funcional	Componente funcional	Propiedades
Huevos con ácidos grasos W-3 ^a	Ácidos grasos W-3	Reducen el colesterol total
Productos lácteos fermentados	Probióticos	Mejoran la salud gastrointestinal
Margarinas fortificadas	Esteres de estanol y esteroides vegetales	Reducen el colesterol total y LDL ^b
Te verde	Catequinas	Reducen el riesgo de algunos tipos de cáncer
Productos de avena	Beta-glucanos	Reducen el colesterol total y LDL

a: Omega-3. b: Lipoproteínas de baja densidad.

Fuente: ADA (2004).

Actualmente, muchos son los compuestos que se han desarrollado como alimento funcional. Así tenemos: alimentos enriquecidos con vitaminas, péptidos bioactivos, antioxidantes y con fitoesteroides, utilizada por pacientes con alto riesgo cardiovascular (Lafrest *et al.* 2007). Asimismo, existen trabajos desarrollados con yogures y leche enriquecida, pasando por las fórmulas infantiles enriquecidas con prebióticos y probióticos (Karaaslan *et al.* 2011); también, existen estudios con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga para proporcionar a los recién nacidos los nutrientes necesarios para un óptimo crecimiento y desarrollo, así como jugos enriquecidos con flavonoides (Chávez-Servín *et al.* 2009); igualmente, son diversos los trabajos con vitaminas y resveratrol (González-Barrio *et al.* 2009); del mismo modo, se mencionan experimentos de pastas elaboradas con leguminosas y carnes enriquecidas con compuestos bioactivos (Jiménez-Colmenero *et al.* 2010).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Centro Piscícola “El Ingenio”, ubicado en el distrito de Ingenio, a 27 km de la ciudad de Huancayo (Junín) a una altitud de 3452 msnm.

3.2 INSTALACIONES

Se utilizaron siete estanques construidas de material noble y revestido con cemento, cuyas dimensiones fueron de 9,75 m de longitud, 2,00 m de ancho y 1,20 m de profundidad (figura 10). El suministro de agua limpia para cada estanque 2,00 – 2,5 l/s, durante las 24 h del día.



Figura 10: Estanques utilizados en el estudio de la trucha Arco Iris.

3.3 ANIMALES EXPERIMENTALES

Se emplearon 4200 truchas juveniles Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*), de tamaño pre-comercial (\bar{X} : 164 g/trucha), procedentes de la misma piscigranja, que se distribuyeron en siete pozas, cada una con una densidad de 600 peces por estanque. El periodo experimental tuvo una duración de 40 días del 05/11/2009 al 15/12/2009, hasta obtener el peso y tamaño comercial de 240 a 260 g.

3.4 DIETAS EXPERIMENTALES Y TRATAMIENTOS

Se estudiaron dos niveles de vitamina E (25 y 50 mg/Kg de dieta) y, cada nivel con tres niveles de selenio (Se) orgánico (0,15; 0,25 y 0,35 mg/Kg de dieta). Se elaboraron seis dietas experimentales (T₂ a T₇) y una dieta basal (T₁, sin enriquecimiento de vitamina E ni selenio), como se muestra a continuación:

T₁: Dieta basal (DB).

T₂: DB con 25 mg vit E/Kg dieta y 0.15 mg selenio/Kg de dieta.

T₃: DB con 25 mg vit E/Kg dieta y 0.25 mg selenio/Kg de dieta.

T₄: DB con 25 mg vit E/Kg dieta y 0.35 mg selenio/Kg de dieta.

T₅: DB con 50 mg vit E/Kg dieta y 0.15 mg selenio/Kg de dieta.

T₆: DB con 50 mg vit E/Kg dieta y 0.25 mg selenio/Kg de dieta.

T₇: DB con 50 mg vit E/Kg dieta y 0.35 mg selenio/Kg de dieta.



Figura 11: Colocando peces experimentales en los estanques.

3.5 DIETA BASAL (DB)

El alimento en pellets para el acabado de las truchas Arco Iris fue preparado en la Planta de Alimentos Balanceados de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), perteneciente a la Facultad de Zootecnia, cuya formulación de ingredientes se presenta en el cuadro 5; el contenido nutricional calculado se da en el cuadro 6 y la composición de la premezcla de vitaminas, minerales en el cuadro 7.

Cuadro 5: Ingredientes utilizados en la dieta basal (DB).

Ingredientes	Cantidad para 100 Kg
Harina de pescado prime (67 % prot.)	31,86
Torta de soya (47 % prot.)	30,00
Harinilla de trigo	20,00
Harina de trigo	15,00
Aceite vegetal (soya)	2,00
Sal	0,82
Premezcla: Vitaminas y minerales	0,30
Antioxidante (BHT)	0,02
Total	100,00

3.6 VITAMINA E

Uno de los principales insumos utilizados fue la vitamina E comercial, polvo fino de color blanco que contiene 50 % de DL- α -tocoferol. Su inclusión en la dieta se dio durante la elaboración del alimento balanceado. Se usó 25 y 50 mg de vitamina E/Kg dieta.

3.7 SELENIO ORGÁNICO

Otro importante suplemento empleado en la investigación, el selenio orgánico (insumo procedente de la biotransformación del selenio inorgánico a selenometionina, selenocistina y selenocisteína, realizado por la levadura *Saccharomyces cerevisiae*) adicionado durante el proceso de elaboración del pellets. Su uso en el alimento fue de 0,15; 0,25 y 0,35 mg selenio orgánico/Kg dieta.

Cuadro 6: Contenido nutricional de la dieta basal para truchas.

Valor Nutritivo	Cantidad (%)
Materia seca	90,07
Proteína	40,17
Fibra	2,55
Grasa	7,22
Lisina	2,76
Metionina	0,90
Cistina	0,50
Arginina	2,62
Histidina	1,00
Isoleucina	1,86
Leucina	3,04
Fenilalanina	1,85
Tirosina	1,39
Treonina	1,63
Triptófano	0,51
Valina	2,11
Met + cis	1,40
Fen. + Tir.	3,22
Ac. G. Ins. n-3: EPA y DHA	1,41
Ac. G. Ins. n-6	1,07
Sodio	0,70
Potasio	1,22
Calcio	1,30
Fósforo total	1,21
Cloro	0,85
Prot. Dig.	37,43
Energía digestible, Mcal/Kg	3,54

**Cuadro 7: Fórmula de premezcla de vitaminas y minerales de la dieta basal.
(cantidades por tonelada de alimento).**

Nutriente	Cantidad
Vitamina A	14'000,000 UI
Vitamina D	2'800,000 UI
Vitamina E	140,000 UI
Vitamina K3	8.000 g
Tiamina (B1)	18.000 g
Riboflavina (B2)	20.000 g
Niacina	150.000 g
Acido Pantoténico	50.000 g
Piridoxina (B6)	15.000 g
Biotina	0.800 g
Acido fólico	4.000 g
Acido ascórbico	600.000 g
Vitamina B12	0.030 g
Cloruro de colina	600.000 g
Manganeso	40.000 g
Hierro	20.000 g
Zinc	20.000 g
Cobre	1.500 g
Yodo	1.500 g
Selenio	0.300 g
Cobalto	0.150 g
B.H.T.	120.000 g
Excipiente c.s.p.	3000.000 g

3.8 EL AGUA

Medio en la cual vive la trucha Arco Iris; la piscigranja cuenta con flujo continuo de agua proveniente del río Chiapuquio, el mismo que tiene como origen los manantiales en zonas

altas; por lo tanto, es incolora, libre de sedimento y no contiene materias en suspensión y cuyas principales características físico-químicas fueron:

Aspectos físicos del agua

Temperatura del agua (°C)	: 11
Transparencia (m)	: total
Color aparente	: incoloro

Aspectos químicos del agua

Oxígeno disuelto (ppm)	: 8,00
Anhidrido carbónico (ppm)	: 5,00
Alcalinidad fenolftaleina (ppm)	: 00
Alcalinidad Total (ppm)	: 205,20
Dureza Total (ppm)	: 157,50
pH	: 8,00

(anexo 1).

3.9 SANIDAD

Las siete pozas que albergaron a las truchas, días antes de utilizarlas, fueron refregadas con espátulas, para luego retirar todo sedimento y sarro del piso, y las paredes con escobillones y agua corriente; seguidamente, se procedió al encalado, por toda la superficie en contacto con el agua, utilizando cal viva disuelta en agua, con la finalidad eliminar toda materia orgánica y microorganismos patógenos que pudiesen contaminar a los peces; después de dos días se llenó de agua.

3.10 METODOLOGÍA

3.10.01 Alimentación

El manejo y alimentación se llevó a cabo bajo las mismas condiciones acostumbradas en la piscigranja. Los peces fueron alimentados en forma manual “al voleo” tratando de que toda la población de peces consuma el pellets, y con la frecuencia de dos veces al día: por la mañana entre las 8:00-9:00 y por la tarde entre las 15:00-16:00 horas, durante todo el tiempo que duró el experimento.



Figura 12: Alimentando a las truchas Arco Iris.

3.10.02 Tasa de Alimentación (TA)

La tasa de alimentación, cantidad de alimento suministrado durante un periodo determinado. Para el caso de la trucha Arco Iris se ha establecido tanto por criadores y las empresas productoras de alimentos, unas tablas en función de la biomasa, la temperatura del agua y el estadio del pez, expresándose en porcentaje del peso corporal, cuya finalidad que los peces consuman todo el alimento y obtengan buenos resultados productivos en el menor tiempo. Para el presente estudio, se utilizó la Tasa de Alimentación de 1,6 % (TA, porcentaje de la biomasa de los peces presentes), recomendado por la Planta de Alimento Balanceado de la UNALM (anexo 2).

3.10.03 Ganancia de Peso

La ganancia diaria de peso vivo está dada por la diferencia entre el peso final (Pf) en gramo y el peso inicial (Pi) también en gramo, durante el tiempo (T) que duró el experimento (tiempo de cultivo). El cálculo se hizo de acuerdo a la fórmula: $G P = (Pf - Pi)/T$

Para el registro de pesos, se tomó un balde de plástico con una determinada cantidad de agua pesados en una balanza calibrada, se introdujo al azar 25 truchas; luego balde, agua y

truchas fueron nuevamente pesadas; la diferencia de peso, es el peso de los peces, el cual se anotó en un cuaderno.



Figura 13: Pesando el alimento en función a la tasa establecida.

3.10.04 Conversión Alimenticia (CA)

El uso eficiente del alimento alcanzado por los organismos en cultivo durante un período dado de su ciclo de producción. La conversión alimenticia está definido por el consumo de alimento en un periodo de tiempo sobre la ganancia de peso en ese mismo periodo:

CA = Consumo de alimento durante experimento (g) / Ganancia de peso (g).

3.10.05 Relación de Eficiencia Proteica (PER)

El PER es un método basado en el cambio de peso corporal, y está definida como los gramos de peso ganado, por gramo de proteína consumida de los animales de experimentación, por lo general a un nivel óptimo de proteína de 10 %.

No se considera la utilización de la proteína para el mantenimiento, debido a que se presupone que toda la proteína es utilizada para el crecimiento del pez:

PER= Ganancia de peso (g) / Proteína cruda consumida (g).

3.10.06 Mortalidad

El control de la mortalidad se llevó a cabo mediante un registro diario de mortalidades durante el tiempo que duró el experimento, retirándose los peces muertos que se encontraba en la superficie y los alrededores, anotándose los peces muertos y las posibles causas, antes de entregar el alimento por la mañana.

3.10.07 Análisis Químico Proximal

a.1) De la dieta basal

EL análisis químico proximal de la dieta alimenticia fue realizado en el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA) del Departamento Académico de Nutrición de la Facultad de Zootecnia, UNALM. Se pesó 168 g de la dieta basal sin selenio ni vitamina E, en una bolsa de polietileno, la cual fue remitida al laboratorio para la determinación de humedad, grasas, proteína cruda y ceniza.

a.2) Del músculo de la trucha por tratamiento

El análisis químico proximal del músculo de la trucha arco iris por tratamiento se llevó a cabo en el Instituto Tecnológico Pesquero del Perú (ITP), en lo siguiente:

- a. Determinación de Cenizas.
- b. Determinación de Grasa cruda.
- c. Determinación de Humedad.
- d. Determinación de Proteína cruda.

Para tal efecto, se tomó muestras al azar de cada tratamiento y cada repetición; luego, en una caja isotérmica se trasladó al laboratorio del ITP.

3.10.08 Determinación de Nitrógeno de Bases Volátiles Totales (N-BVT)

Para conocer el nivel de frescura de la trucha arco iris se tomaron muestras al azar por cada tratamiento y por cada repetición, luego, fueron trasladados al ITP para su determinación mediante el método recomendado por la Directiva de la Comunidad Económica Europea.

3.10.09 Análisis del Estado de Oxidación

Para determinar el grado de oxidación del músculo de la trucha arco iris, se halló el contenido de malondialdehído (MDA) a cada uno de los tratamientos y su repetición. El análisis se realizó en el ITP.

3.10.10 Contenido de ácidos grasos saturados y poliinsaturados

Con la finalidad de conocer el proceso metabólico de los ácidos grasos saturados e insaturados de la dieta, en el organismo del pez, y la interacción que podría acontecer con los micro-elementos, antioxidantes en estudio, se determinó el contenido total de ácidos grasos saturados e insaturados del músculo de la trucha de la dieta basal, mediante el Método cromatográfico de extracción en frío en el ITP.

3.10.11 Análisis de Selenio Total

Con el objetivo de cuantificar el proceso metabólico del selenio orgánico en el organismo de la trucha Arco Iris, a cada uno de los siete tratamientos y sus repeticiones se tomaron muestras al azar del músculo para determinar el contenido de selenio, en los laboratorios de Certificaciones Pesqueras del Perú (CERPER).

3.10.12 Análisis de Vitamina E

Igualmente, con el objetivo de hallar el metabolismo del acetato de α -tocoferol suministrado en la dieta de la trucha arco iris, se tomaron muestras del músculo de cada uno de los tratamientos y repeticiones, para luego determinar el contenido de la vitamina E, empleando el método arriba citado de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), en los laboratorios de CERPER.

3.10.13 Diseño Experimental

Se utilizó el Diseño Completamente Randomizado o al Azar (DCA), con siete tratamientos (un tratamiento de la dieta basal y seis tratamientos por cada nivel de enriquecimiento de

vitamina E y selenio orgánico) con tres repeticiones por cada tratamiento. Los 4200 peces fueron distribuidos al azar en cada tratamiento que tuvo 600 peces y cada repetición estaba formada por 200 truchas arco iris.

El modelo aditivo lineal fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Es la observación con el i-ésimo tratamiento en la j-ésima repetición.

μ = Es el efecto de la media general.

τ_i = Mide el efecto del i-ésimo tratamiento.

ε_{ij} = Mide el efecto del error experimental en el i-ésimo tratamiento y en la j-ésima repetición.

3.10.14 Análisis estadístico

La ganancia de peso, estado de oxidación y el metabolismo tanto del selenio orgánico y la vitamina E en el cuerpo de la trucha, fueron evaluados mediante el Análisis de Varianza (ANVA), y comparados los seis tratamientos enriquecidos contra la dieta basal (T_1) utilizando la prueba de Dunnett; así también, la comparación múltiple de medias de Tukey para la determinación del mejor de los siete tratatamientos. En el desarrollo del diseño experimental se utilizó el Software (Programa estadístico) SAS (Statistical Analysis System), en su versión 8, con un nivel de significancia de: $\alpha=0,05$, para luego ser comparado con el valor de probabilidad: ($P \leq 0,05$).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE TRUCHAS

4.1.1 Ganancia de Peso

Los resultados sobre Ganancia de Peso (GP) que lograron los grupos de truchas consumiendo dietas enriquecidas con vitamina E y selenio orgánico durante 40 días se presentan en el cuadro 8, figura 14, anexos 3 y 4.

Se encontró que las truchas que consumieron la dieta T7 enriquecida con 50 mg de vitamina E y 0,35 mg de selenio orgánico alcanzaron en promedio (viene de 3 repeticiones de 200 truchas cada una - durante los 40 días) una ganancia de peso de 17,567 Kg. En cambio, las truchas del T1 lograron, en promedio, una ganancia de peso de 11,610 Kg. Es decir, la vitamina E y el selenio orgánico en la dieta T7 incrementaron la ganancia de peso en más del 50 % (5,957 Kg) respecto a la dieta basal.

Por otro lado, las ganancias de peso en promedio correspondientes a 25 mg y a 50 mg de vitamina E fueron 12,197 y 14,660 Kg respectivamente. A mayor nivel de vitamina E en la dieta correspondió mayor ganancia de peso ($P \leq 0,05$). Asimismo, se observó que con 0,15 mg de selenio se logró una ganancia de peso de 10,690 Kg, con 0,25 mg de selenio 14,145 Kg y con 0,35 mg de selenio 15,450 Kg. Es decir, a mayor nivel de selenio orgánico se alcanzó mayor ganancia de peso.

El análisis de varianza de la Ganancia de Peso (anexo 4) mostró diferencias significativas entre tratamientos ($P \leq 0,05$, valor de probabilidad 0,0016).

La prueba múltiple de medias de Tukey reveló que en el T7, cuya media de 17,567; fue superior a los restantes tratamientos, y sobre todo al T1 (control), cuya media alcanzó los 11,610 Kg; esto indica que se obtuvo significación estadística ($P \leq 0,05$) a favor del T7.

Al comparar las medias de todos los tratamientos con el control, mediante la prueba múltiple de Dunnett, se determinó solamente que entre los tratamientos 7 y 1, existe diferencia entre las medias de 6,200 Kg, igualmente significativa a favor del T7. Esto demostró que la combinación de 50 mg de vitamina E y 0,35 mg de selenio orgánico (T7), mejoró la utilización del alimento peletizado proporcionado (38,5 % de proteína y 15 % de lípidos), a una tasa de alimentación de 1,6 % del peso de la biomasa.

Por lo tanto, el tratamiento 7 de 600 truchas (3 repeticiones de 200 cada uno), mejoró significativamente la ganancia de peso, superando en más de 50 % al tratamiento control y a los otros tratamientos, que permanecieron en los estanques 1 ó 2 semanas más, hasta que alcancen el peso comercial suficiente para la venta.

La biomasa al inicio de la prueba fue de 687,3 Kg, y 40 días después 965,9 Kg (peso promedio por cada trucha: 230 g); ganancia de peso de 278,610 Kg (incremento total: 40,54 %). Se halló que la ganancia de peso por cada trucha POR DÍA en el T7 fue de 2,2 g.

De otro lado, la carga animal al comienzo de la prueba fue de 4,58 Kg por m³ y al final de 6,43 Kg por m³, superándolo en 1,85 Kg/m³.

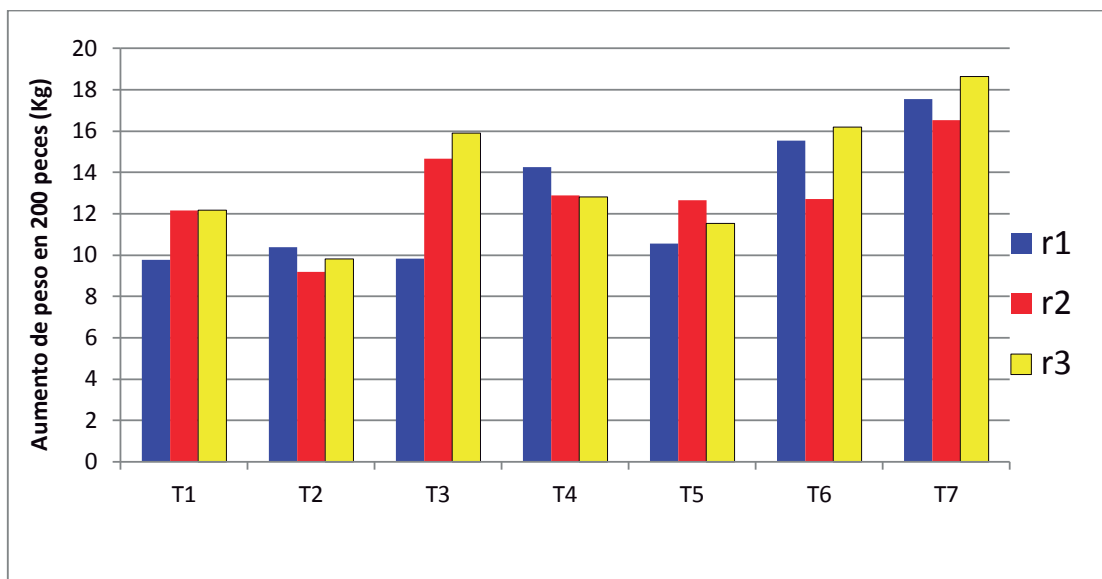


Figura 14: Representación gráfica de las ganancias de peso en Kg de las truchas. Cada columna de tres colores es un tratamiento (600 truchas), y cada color es una repetición (200 truchas).

Cuadro 8: Ganancia de Peso (GP) de truchas por tratamiento.

		Vitamina E por kilo de dieta						
		25 mg			50 mg			
Se/Kg dieta		Control (T1)	0,15 mg (T2)	0,25 mg (T3)	0,35 mg (T4)	0,15 mg (T5)	0,25 mg (T6)	0,35 mg (T7)
Ganancia de Peso (GP)	r1	9,76	10,38	9,83	14,27	10,56	15,53	17,54
	r2	12,15	9,18	14,67	12,90	12,66	12,72	16,52
	r3	12,91	9,82	15,91	12,83	11,55	16,21	18,64
Promedio GP por cada tratamiento (*)		11,61	9,79	13,47	13,33	11,59	14,82	17,57
Efecto de los niveles de vit. E sobre la GP (Kg)		11,61		12,197			14,660	
Efecto de los niveles de Selenio sobre la GP (Kg)		11,61	0,15 mg (de 25 y 50 mg) 10,690		0,25 mg (de 25 y 50 mg) 14,145		0,35 mg (de 25 y 50 mg) 15,450	
GP por trucha/día (g)		1,451	1,225	1,685	1,665	1,450	1,850	2,196
Biomasa		Inicial: 687,27 Kg		Final: 965,91 Kg		Ganancia: 278,64 Kg (40,54 %)		
Carga		Inicial: 4,58 Kg/m3			Final: 6,43 Kg/m3			

(*): Cada valor corresponde a 200 truchas (una repetición) en 40 días.

(**): GP 17,57 Kg(tratamiento 7) estadísticamente superior a 11,61 Kg (tratamiento 1).

Arredondo *et al.* (1996) reportaron un incremento diario en el peso de 3,6 g en truchas consumiendo un alimento balanceado de 42 % de proteínas y 12 % de lípidos, pero usando una tasa de alimentación de 3 % de la biomasa. En el presente estudio, el incremento de peso fue de 2,2 g/día, pero trabajando con un menor nivel de proteína (38,5 %) y también con menor tasa de alimentación (1,6 %).

En una crianza de truchas en “jaulas flotantes” se probaron 3 regímenes alimenticios: a “saciedad”, ración de crecimiento y ración de mantenimiento. Luego de cuatro semanas, los mejores pesos, estadísticamente significativos, favorecieron a las truchas en el régimen a “saciedad” (Morales y Quirós 2007). Esto corrobora lo que en la práctica se conoce, que la alimentación a saciedad incrementa el peso más rápido, pero a mayor costo de producción.

Pokniak *et al.* (1996) encontraron, después de 77 días de estudio, que truchas consumiendo la dieta peletizada, a diferencia de las truchas que recibieron la ración extruída, alcanzaron los mayores pesos debido a que consumieron más alimento peletizado que las truchas que consumieron el extruído, aunque estas últimas truchas debieron tener mayor peso final.

Alvarado (1999), al cabo de 270 días, encontró mayor crecimiento en truchas sembradas a diferentes densidades de carga en “estanques de concreto” que en truchas criadas más bien en estanques de tierra. El manejo, la alimentación y el aspecto sanitario pudieron controlarse mejor en los estanques de concreto, tal como se hizo en el presente estudio, al encalar previamente los estanques en Ingenio.

En conclusión, las truchas del tratamiento 7, suplementadas con 50 ppm de vitamina E más 0,35 ppm de selenio orgánico lograron ganancias de peso en promedio de 87,8 g (53,3 %; anexo 3), estadísticamente superiores ($P \leq 0.05$) a las truchas de los otros tratamientos.

4.1.2 Conversión Alimenticia

La información sobre Conversión Alimenticia (CA) de las truchas por tratamiento en forma resumida se consigna en el Cuadro 9 y en la figura 15; detalles de lo mismo se dan en el anexo 5.

Las tendencias observadas son: Para lograr 1,0 Kg de peso vivo de las truchas del tratamiento 7, estas consumieron en promedio 1,203 Kg de la dieta T7 (50 mg vitamina E y 0,35 mg selenio orgánico).

Alternativamente, para producir la misma cantidad de carne de trucha se necesitó en promedio 1.843 Kg del alimento T1 (control). Es decir, se ahorró 640 gramos de alimento T7 por cada kilo de trucha que se produjo; deduciéndose que los antioxidantes vitamina E y selenio orgánico maximizan el índice de Conversión Alimenticia.

Los índices de conversión alimenticia correspondientes a nivel de 25 mg y 50 mg de vitamina E, en promedio, fueron del orden de 1.797 y 1.492 Kg de dieta/Kg de trucha producida; esto es, a mayor nivel de vitamina E le siguió una más eficiente conversión alimenticia.

Asimismo, la suplementación con 0.15, 0.25 y 0.35 mg de selenio orgánico se asociaron a C A progresivas de 1.996, 1.540 y 1.396 Kg, respectivamente. Esto indica que, a mayor nivel de selenio orgánico correspondió mayor ahorro de alimento para producir la misma cantidad de trucha.

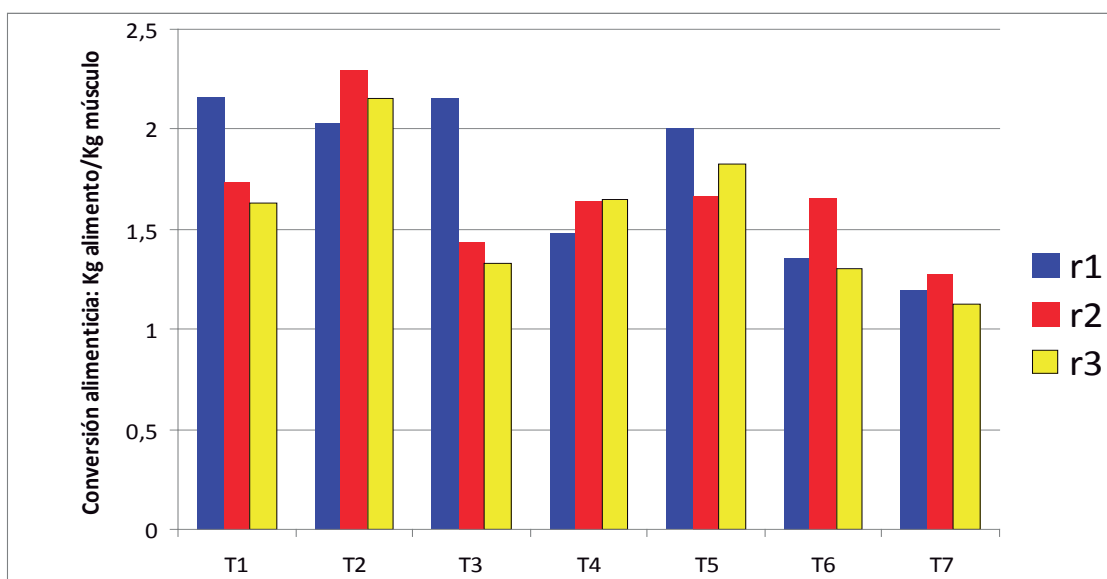


Figura 15: Representación gráfica de conversión alimenticia en Kg de alimento consumido convertido en 1 Kg de músculo. El tratamiento 7 mostró el mejor índice, y uno de los peores índices correspondió al tratamiento 1 (control).

Cuadro 9: Conversión Alimenticia (CA) de las truchas por tratamiento (kg dieta/kg trucha).

		Vitamina E por kilo de dieta						
		0 mg	25 mg			50 mg		
Se/Kg dieta	(control) (T1)	0,15 mg (T2)	0,25 mg (T3)	0,35 mg (T4)	0,15 mg (T5)	0,25 mg (T6)	0,35 mg (T7)	
Consumo de alimento por 200 truchas. (Kg)	21,120 *	21,120	21,120	21,120	21,120	21,120	21,120	
Conversión Alimenticia	r1	2,16 **	2,03	2,15	1,48	2,00	1,20	
	r2	1,74	2,30	1,44	1,64	1,67	1,28	
	r3	1,63	2,15	1,33	1,65	1,83	1,13	
Promedio C. A. por cada tratamiento.	1,84	2,16	1,64	1,59	1,83	1,44	1,203 ***	
Efecto de los niveles de la vit. E sobre la C. A. (Kg).	1,843	1,797			1,492			
Efecto de los niveles del selenio sobre la C. A. (Kg).	1,843	0,15 mg (25 y 50 mg)	1,996	0,25 mg (25 y 50 mg)	1,540	0,35 mg (25 y 50 mg)	1,396	

(*): Consumo de alimento: Por repetición de 200 truchas durante 40 días (33 Kg biomasa x 1,6 % x 40 = **21,120 Kg**),
 Por tratamiento de 3 repeticiones c/u (21,120 x 3 = **63,36 Kg**).

Total en 7 tratamientos (63.360 x 7 = **445 Kg**).

Por cada trucha al día (21,120 / 200 x 40 = **2,64 g**).

(**): C.A. Kilos de alimento / 1 Kg aumento en peso corporal en las truchas.

(***): C.A. de 1,203 es estadísticamente superior a 1,843.

Al análisis de varianza de la conversión alimenticia (anexo 6) se encontró diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$, valor de probabilidad 0,0056).

La prueba múltiple de medias de Tukey señaló que las medias en T7 y T1 fueron respectivamente 1,203 y 1,843 Kg, cuya diferencia de 0,64 Kg fue estadísticamente superior ($P \leq 0,05$) a favor del T7.

En la prueba múltiple de Dunnett, al comparar los 6 tratamientos suplementados con vitamina E y selenio orgánico contra la dieta “control”, se determinó que solamente la diferencia entre las medias del T7 (1,203 Kg) y el del T1 (control: 1,843 Kg) fue también estadísticamente significativa ($P \leq 0,05$) a favor del T7: 50 mg de vitamina E y 0,35 mg selenio orgánico; deduciendo que, los valores altos del T7 indican que las truchas están haciendo adecuado uso del alimento, cuyo beneficio se debe a la presencia de los antioxidantes en estudio.

Morales (2004) en truchas criadas en “jaulas” determinó un Índice de CA de 1,13 Kg para una tasa de alimentación de 4,49 % de la biomasa y una CA de 1,32 Kg para una tasa de alimentación de 2,19 % del peso de la biomasa; concluyendo que, cuando se trabaja con altas tasas de alimentación, el factor de CA se maximiza.

En el presente estudio se utilizó la tasa de alimentación: 1,6 %, que lógicamente es baja en comparación al empleado en el experimento citado.

De otro lado, Sarmiento (2011) encontró que cuanto mayor es la densidad de carga animal (10, 20 y 30 Kg/m³) es menos eficiente el factor de CA (1,91; 2,02 y 2,15 Kg) como consecuencia del estrés que genera una mayor población de truchas. En general, la vitamina E y el selenio orgánico pueden inhibir la actividad estresante en las truchas.

Bastardo *et al.* (2005) obtuvieron, después de 90 días, una CA de 1,3 Kg en truchas consumiendo “pellets comerciales” con 45 % de proteínas, al sustituir la harina de pescado por harina de lombriz, harina de carne y harina de hueso.

En una investigación de Pokniak *et al.* (2004), con salmones del pacífico (*Oncorhynchus kisutch*), especie del mismo género que la trucha, utilizando dietas altas en proteínas (40 a 45 %) y altas en lípidos (22 a 30 %), después de 115 días, obtuvieron índices de CA entre

1,08 y 1,14; resultados muy aceptables, aunque el salmón es una especie más voraz y de mayor tamaño que la trucha.

4.1.3 Índice de Eficiencia Proteica (PER)

Los datos correspondientes a Índice de Eficiencia Proteica (PER) se dan en la figura 16, cuadro 10 y anexo 7.

Examinando las tendencias se determinó que las truchas consumiendo la dieta N° 7, enriquecida con vitamina E y selenio orgánico mostraron un PER promedio de 2,16 g de ganancia de peso por cada gramo de proteína consumida. Esta Eficiencia Proteica (PER) superó en 52 % al PER de 1,42 g de aumento de peso por gramo de proteína ingerida en las truchas que consumieron la dieta T1 (control). El valor 2,16 sí fue aceptable, porque se acerca al PER de la caseína (2,5), el cual se toma como referencia.

Asimismo, se observó que con los 50 mg de vitamina E se logró un PER de 1,80 g el cual superó en 21 % al PER obtenido con 25 mg de vitamina E (1,49 g).

Similar tendencia se detectó para niveles crecientes de selenio orgánico. A mayor nivel de selenio orgánico siguió un mayor PER (1,31; 1,74 y 1,90 g respectivamente); sugiriendo que la presencia de los nutrientes antioxidantes sean los responsables de esa diferencia, al haber mejorado la absorción y el metabolismo de los aminoácidos y proteínas de la harina de pescado de la dieta.

De acuerdo al Análisis de Varianza de los valores de PER (anexo 8) hubieron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($P \leq 0,05$; valor de probabilidad: 0,0018). La prueba múltiple de medias de Tukey destacó que las medias de PER correspondientes para T7 fue 2,16 g, y para T1 fue 1,42 g fueron significativas ($P \leq 0,05$) a favor de T7.

En la prueba múltiple de Dunnett, en la cual se compara los 6 tratamientos con vitamina E y selenio orgánico contra el tratamiento T1 (control), se comprobó nuevamente que el PER del T7 fue superior al PER del T1, siendo estadísticamente significativa ($P \leq 0,05$) a favor del T7 (50 mg de vitamina E y 0,35 mg de selenio orgánico).

Okumus y Mazlum (2002) reportaron valores de PER 2,08; 2,07 y 2,03 en truchas que consumieron durante 22 semanas, 3 dietas de crecimiento a saciedad con diferentes porcentajes de proteína animal (40 a 48%). Estos PER son ligeramente menores al PER del presente trabajo: 2,16 con solo 38,54 % de proteína, logrado por el T7.

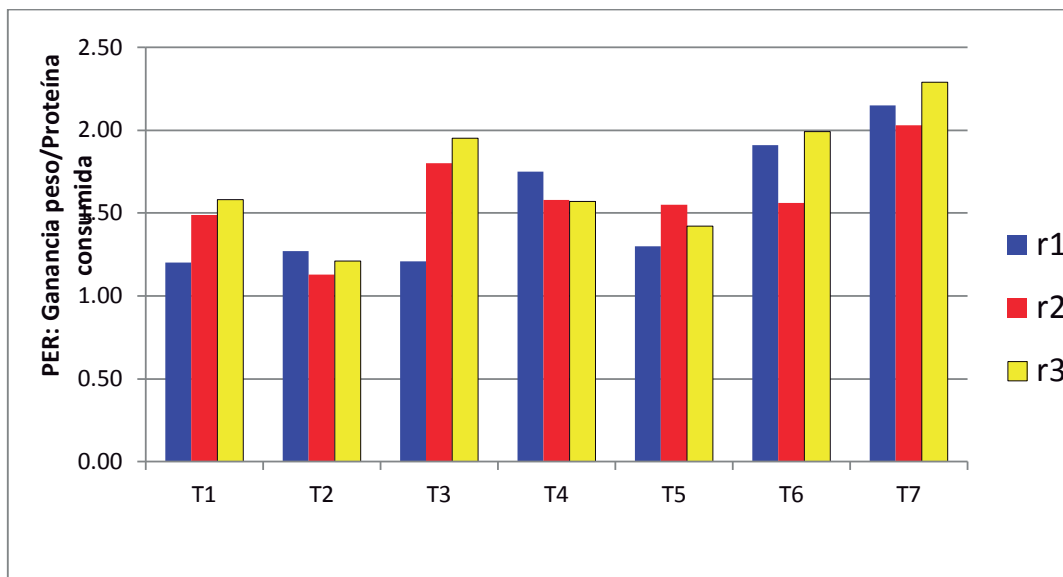


Figura 16: Representación gráfica de los valores de PER: aumento de peso (g) sobre la ingestión proteica (g) en 40 días. El mayor valor de PER es 2,16 en el tratamiento 7, indicando así la mayor eficiencia proteica.

Kiaalvandi *et al.* (2011) citaron similares valores de PER: 1,87; 1,95 y 2,18, en truchas alimentadas durante 12 semanas, con dietas todas con 40 % de proteína de harina de pescado procedente de diferentes especies.

Por el contrario, Bórguez *et al.* (1999) después de 127 días encontraron valores de PER de sólo 0,957 para el alimento peletizado y de sólo 0,720 para el alimento extruído, ambos alimentos tenían proteína de harina de pescado, pero no mencionan las razones de esos valores bastante bajos.

Gümüş e Ikis (2009) estudiando durante 13 semanas la tasa de crecimiento y digestibilidad, detectaron bajos valores de PER (de 0,90 a 1,42) en truchas consumiendo dietas con 40 % de proteína, pero de origen vegetal, que tiene alta presencia de carbohidratos y no contiene todos los aminoácidos esenciales como la proteína de harina de pescado.

Cuadro 10: Índice de eficiencia proteica (PER) de truchas en estudio.

		Vitamina E por kilo de dieta						
		0 mg			25 mg			50 mg
Se/Kg dieta	Control (T1)	0,15 mg (T2)	0,25 mg (T3)	0,35 mg (T4)	0,15 mg (T5)	0,25 mg (T6)	0,35 mg (T7)	
	r1	1,20 *	1,21	1,75	1,30	1,91	2,15	
	r2	1,49	1,13	1,80	1,58	1,55	1,56	2,03
	r3	1,58	1,21	1,95	1,57	1,42	1,99	2,29
Promedio PER en cada tratamiento,		1,42	1,20	1,65	1,63	1,42	1,82	2,16 **
Efecto de los niveles de la vit, E sobre el PER (Kg) .		1,42	1,49			1,80		
Efecto de los niveles del selenio sobre el PER (Kg) .		1,42	0,15 mg (25 y 50 mg)	0,25 mg (25 y 50 mg)	0,35 mg (25 y 50 mg)	1,31	1,74	1,90

(*): Cada valor es promedio de una repetición de 200 truchas en 40 días.

(**): PER 2,16 fue estadísticamente superior a PER 1,42.

4.1.4 Mortalidad

La figura 17 y anexo 7 muestran en general, una baja mortalidad registrada en el estudio con poca variación de tratamiento a tratamiento. El número de truchas muertas en cada uno de los tratamientos del T1 al T7 fue como sigue: 12; 13, 12, 13, 10, 11 y 12 unidades, respectivamente; en total 83; es decir, 1,98 % de la población total de 4200 truchas con las que se inició la investigación.

El rango de mortalidad en los tratamientos varió entre 0,24-0,31 %. Hay que destacar que la baja mortalidad de 1,98 % revela que la vitamina E y el selenio orgánico cumplieron su rol de aumentar las defensas y la capacidad inmunológica de las truchas, las que resistieron mejor las enfermedades.

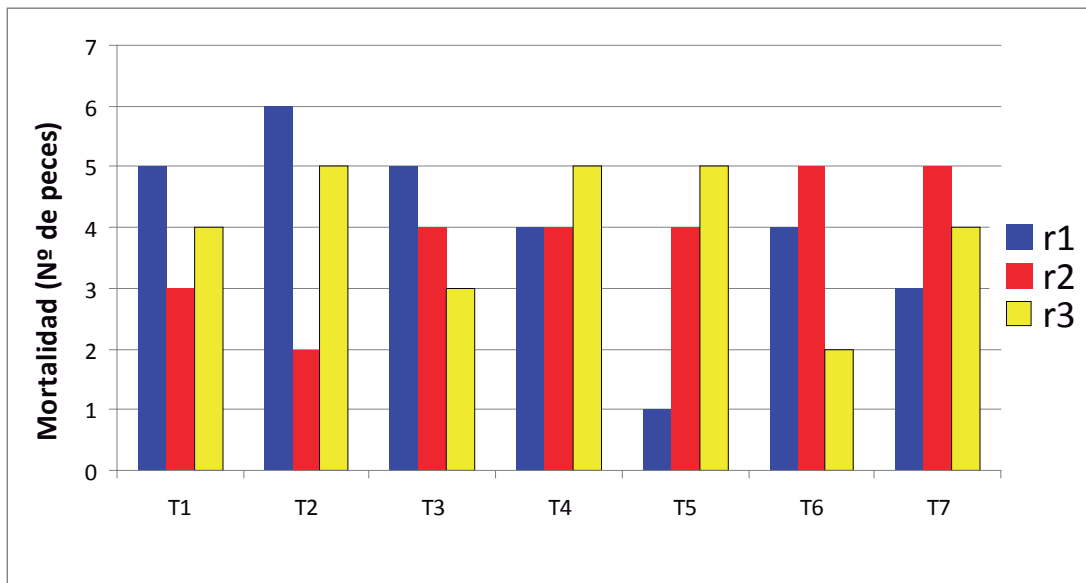


Figura 17: Representación gráfica de la mortandad de las truchas en estudio. La mayor mortandad se dio en la repetición 1 del T2, y la menor en la repetición 1 del T5, pero en un 90 % de los casos se produjo por acción predatora de las aves.

En el anexo 9 se tiene el Análisis de Varianza, la prueba múltiple de medias de Tukey y de Dunnett de la mortalidad donde no existen comparaciones significativas de los varios tratamientos contra el control.

La insignificante cantidad de truchas muertas fue debido a la captura por las aves predatoras que se alimentan de peces y que en la localidad los denominan “martín

pescador” o “huaco” y cuyo nombre científico es *Nictycorax nictycorax* (Figuras 18, 19 y 20).

Aproximadamente la mayoría de las truchas muertas, era consecuencia del picotón proporcionado por las referidas aves con la intención de llevar la presa a su nido y que por el gran peso se les caía alrededor de los estanques (figura 18). El saldo restante de las truchas muertas se podría atribuir a razones endógenas, tanto de orden sanitario como de manejo.



Figura 18: Trucha tamaño comercial del tratamiento 7 repetición 3, capturada por el “martín pescador” y cuyo peso fue de 267 g.

La salud de las truchas en estudio en general fue buena. Así, en la misma piscigranja “El Ingenio”, cuya crianza es estrictamente comercial, en la misma fecha reportaron una tasa de mortalidad superior a 2,5 %.



Figuras 19 y 20: “Martín pescador” capturado, predador de la trucha.

En un trabajo con 900 truchas en “jaulas” consumiendo alimento extruído de 45 % de proteína, durante 90 días, la mortalidad reportada fue de 2,7 % (Potniak *et al.* 1996), cantidad aceptable, porque en “jaulas” productivas, la mortalidad es mayor.

Bastardo y Sofia (2003) en una investigación durante 18 meses, con 9000 truchas encontraron una tasa de mortalidad de 5 %, el cual es considerado alto. Asimismo, Akbulut *et al.* (2002) determinaron tasas de mortalidad de 4,6 a 10,8 % en una prueba con 1000 truchas en crecimiento durante 202 días en “jaulas” consumiendo “a saciedad” un alimento de 46 % de proteínas.

De otro lado, el INP de México (1995) alimentando truchas durante 10 meses con dietas de 38 % proteína, a diferentes densidades de carga y diferentes tamaños de jaulas, registró una mortalidad de 13 %.

4.2 CALIDAD FUNCIONAL DE LA CARNE DE TRUCHA

4.2.1 CONTENIDO DE VITAMINA E EN EL MÚSCULO

La información sobre el contenido de vitamina E en el músculo de trucha proveniente de varios tratamientos dietéticos se consigna en el cuadro 11, figura 21, anexos 11 y 12. Las tendencias encontradas merecen ser comentadas.



Figura 21: Trucha cogida y soltada por sus predadores. Al no poder trasladarla a sus nidos debido al alto peso; en todas, se observan las huellas longitudinales de sus picos.

Cuadro 11: Vitamina E en truchas de los siete tratamientos dietéticos (mg vitamina E /kg muestra).

		Vitamina E por kilo de dieta						
		0 mg	25 mg			50 mg		
Se orgánico/Kg dieta	Control (T1)		0,15 mg (T2)	0,25 mg (T3)	0,35 mg (T4)	0,15 mg (T5)	0,25 mg (T6)	0,35 mg (T7)
	r1	14,04 *	11,26	10,11	15,92	22,53	15,82	10,31
	r2	15,19	14,62	10,60	15,75	15,03	13,32	14,51
	r3	14,05	12,24	10,85	12,44	18,05	16,44	11,28
Promedio de vitamina E por cada tratamiento,		14,43	12,71	10,52	14,70	18,54	15,19	12,03
Efecto de cada nivel dietético de vitamina E (mg/Kg).		14,43	12,64			15,25		
Efecto de los niveles del selenio sobre el contenido de vitamina E (mg/Kg)		14,43	0,15 mg (25 y 50 mg)		0,25 mg (25 y 50 mg)		0,35 mg (25 y 50 mg)	
			15,63	12,86	13,37			

(*): Cada valor es promedio de una repetición de 200 truchas en 40 días.

El contenido de vitamina E de las 7 muestras de carne de truchas, proveniente de los 7 tratamientos, varió en un rango bastante amplio: desde el T3 con 10,52 mg de vitamina/Kg de muestra, y para el T5 de 18,54 mg de vitamina/Kg de músculo.

Los valores de vitamina E de la carne, proveniente de la dieta suplementada con 25 mg de vitamina E y 0,35 mg de selenio orgánico fue de 14,70 mg de vit. E/Kg carne, valor ligeramente superior a la carne de la dieta “control” de 14,43 mg de vit. E/Kg de carne. Sin embargo, el contenido de la carne de la dieta suplementada con 25 mg de vit. E y 0,15 mg de selenio fue levemente inferior (12,71 mg de vit. E/Kg de carne); y mucho más bajo, en la carne de 25 mg de vit. E y 0,25 mg de selenio orgánico (10,52 mg de vit. E/Kg de músculo).

De otro lado, la carne de trucha del régimen 50 mg de vitamina E y 0,15 mg de selenio orgánico (T5), muestra el valor más alto de vitamina E (18,54 mg/Kg). El contenido correspondiente a 50 mg vitamina E y 0,25 mg de selenio orgánico fue de 15,19 mg/Kg de muestra (T6), y a su vez, inferior al valor de T5; y por el contrario, al sistema 50 mg de vit. E y 0,35 mg de selenio orgánico correspondió un valor menor de 12,03 mg de vit. E/Kg de carne (T7). Estos valores y sus variantes se deben a que los análisis se realizaron en el músculo, y supuestamente, el mayor contenido de vitamina E estaría presente en la grasa (no se realizó), por ser una vitamina liposoluble.

Los valores de vitamina E en el músculo de las raciones suplementadas con 25 y 50 mg de vitamina E fueron de 12,64 mg y 15,25 mg de vit. E/Kg de músculo respectivamente, valores muy similares a la carne de la dieta “control” (14,43).

Los contenidos de vitamina E para los sistemas 0,15; 0,25 y 0,35 mg de selenio orgánico fueron: 15,63; 12,86 y 13,37 mg de vit. E/Kg, respectivamente, valores bastante similares a la carne de la dieta basal.

El análisis de varianza de los resultados (anexo 10) indica que si existen diferencias estadísticas significativas entre los 7 tratamientos ($P < 0,05$; valor de probabilidad 0,0154).

Según la prueba múltiple de medias de Tukey, el T5 logró la mayor media (18,54 mg vitamina E / Kg) y la menor media fue el T3 (10,52 mg vitamina E /Kg), y entre estos dos tratamientos, el T5 fue estadísticamente significativo versus el T3. Asimismo, las diferencias entre medias T7 y T1 de Dunnett, no alcanzaron significación estadística.

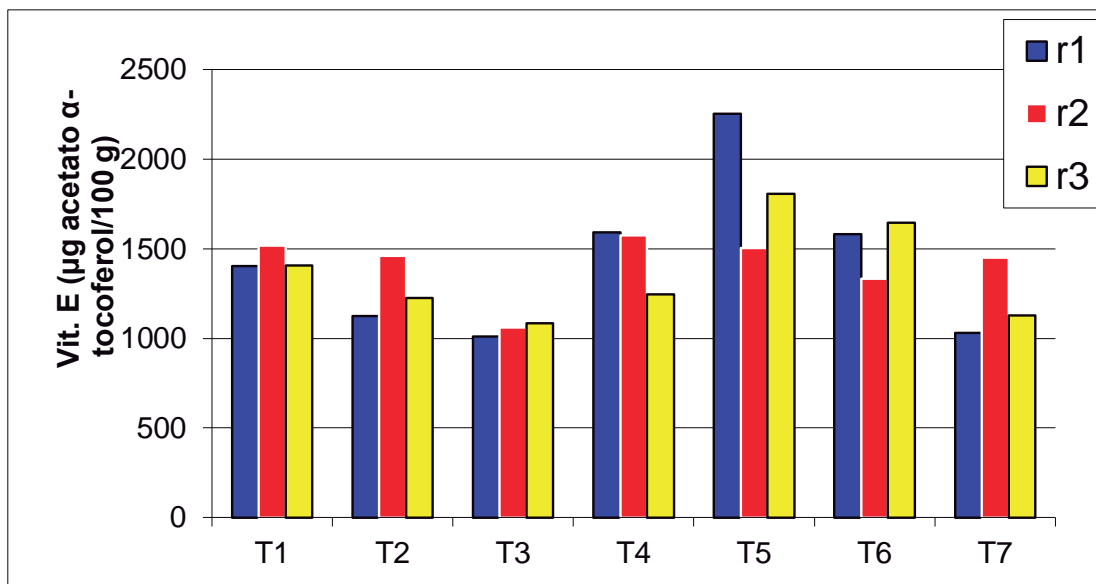


Figura 22: Representación gráfica de los resultados del contenido de vitamina E muscular.

4.2.2 SELENIO EN EL MÚSCULO DE TRUCHA

El contenido de selenio del músculo de la trucha de los tratamientos dietéticos con vitamina E y selenio orgánico y el valor de selenio de la trucha del régimen control se dan en el cuadro 12, figura 23, anexos 13, 14 y 15.

Los valores determinados del selenio en el músculo de los regímenes T7 y T4 (ambos con 0,35 mg de selenio orgánico) fueron 0,23 y 0,22 mg/Kg, respectivamente. Dichos valores superaron en 109 y 100 % al contenido de selenio de la trucha de la dieta basal (0,11 mg/Kg).

Similarmente, los contenidos promedio de selenio correspondientes a 25 mg de vitamina E (0,18 mg/ Kg) y 50 mg de vitamina E (0,19 mg/Kg) son similares, pero también superaron en 64 a 73 % al control.

Por otro lado, a 0,15; 0,25 y 0,35 mg de selenio orgánico/Kg en las dietas correspondieron en el músculo a valores de selenio progresivamente mayores (0,155; 0,170 y 0,225 mg/Kg), siendo significativamente superiores en 42; 54 y 104 %, respecto al control.

Estos valores aparentemente indican que la cantidad de selenio metabolizado en la trucha, está en función directa del contenido del selenio en el alimento.

Cuadro 12: Valores de selenio en truchas de los siete tratamientos dietéticos (mg de selenio / kg de muestra).

		Vitamina E por kilo de dieta						
		0 mg			25 mg			50 mg
Se/Kg dieta	Control (T1)		0,15 mg (T2)	0,25 mg (T3)	0,35 mg (T4)	0,15 mg (T5)	0,25 mg (T6)	0,35 mg (T7)
	r1	0,13 *	0,06	0,20	0,24	0,10	0,13	0,23
	r2	0,07	0,21	0,18	0,25	0,20	0,22	0,24
Contenido de selenio por cada repetición	r3	0,12	0,19	0,12	0,18	0,17	0,15	0,22
Promedio de selenio por cada tratamiento		0,11	0,15	0,17	0,22	0,16	0,17	0,23
Efecto de los niveles dietéticos de vitamina E (mg/ Kg).		0,11	0,18			0,19		
Efecto de cada nivel dietético de selenio (mg/ Kg).		0,11	0,15 mg (25 y 50 mg)	0,25 mg (25 y 50 mg)	0,25 mg (25 y 50 mg)	0,15 mg (25 y 50 mg)	0,35 mg (25 y 50 mg)	0,35 mg (25 y 50 mg)
			0,155	0,170	0,170	0,170	0,225	0,225

(*): Cada valor es promedio de una repetición de 200 truchas en 40 días.

En el anexo 13, se muestra el análisis de varianza del contenido de selenio en el músculo, el cual indica que no existen diferencias estadísticas significativas ($P > 0,05$; valor de probabilidad: 0,0768) entre los tratamientos.

En la prueba múltiple de medias de Tukey se corroboró que las pequeñas diferencias observadas no logran alcanzar significación estadística.

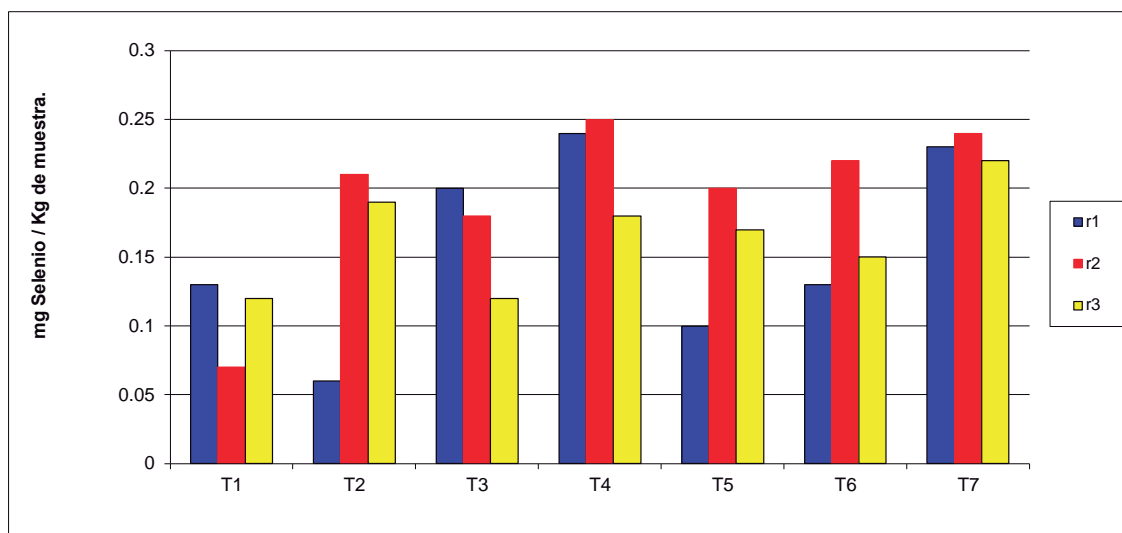


Figura 23: Representación gráfica de los resultados del contenido de selenio. En ella T1 tiene el más bajo nivel, siguen T2, T3 y T4, y los de mejor nivel son T5, T6 y T7. Además, T4 y T7 fueron suplementadas con 0,35 ppm en la dieta, T3 y T6 con 0,25 ppm en dieta.

Sin embargo, en la prueba múltiple de tratamientos de Dunnett, se encontró que las diferencias entre la media del T7 (0,23 mg Se/Kg), y la del T4 (0,22 mg Se/Kg) versus T1 (0,11 mg Se/Kg), alcanzaron ambas significación estadística ($P \leq 0,05$) a favor de T7 y T4, cuyas diferencias entre medias fueron 0,123 y 0,116 mg/Kg respectivamente.

Hilton *et al.* (1980) determinaron que la trucha requiere 0,35 mg de selenio/Kg dieta para la máxima actividad de la enzima “Glutation peroxidasa” en el plasma. Otros, como Bay *et al.* (2002) sostienen que se necesita niveles mayores de selenio para la síntesis de alrededor de 30 selenoproteínas con roles funcionales como la inmunomodulación o estabilización genómica entre otros. En base a esta afirmación, se podría experimentar mayores dosis dietéticas de selenio.

Watanabe *et al.* (1997), afirman que el selenio y la vitamina E en peces evita la distrofia muscular nutricional y la diátesis exudativa. Igualmente, Miller (2006) manifiesta que el selenio juega importante papel en el crecimiento, el desarrollo, reproducción, calidad de la carne, el mantenimiento de la salud y en la inmunidad de los peces. En cambio, la deficiencia del mineral traza se asocia con el estrés oxidativo por lo que actúa como antioxidante.

Según Ciardullo *et al.* (2008), el selenio se acumula en mayor cantidad en el hígado y en las gónadas, y en menor cantidad en el músculo. Además, a diferencia de otros minerales, una alta concentración de selenio en los tejidos no afecta de forma significativa el crecimiento de los peces. Asimismo, Miller (2011) reafirma que existe una relación entre los niveles de selenio de la dieta y los valores del mismo en el músculo y en todo el cuerpo.

Lo más importante, desde el punto de vista nutricional y de salud pública, es que se puede obtener un alimento funcional por el contenido de selenio, como lo esbozan Vinchira y Muñoz-Ramírez (2010) y Şara *et al.* (2010), especialmente cuando se utilizó 0,35 ppm de selenio orgánico en la dieta, y también por la presencia de AGPI de la familia omega-3 (EPA y DHA), reconocidos por sus características funcionales en la prevención y reducción de enfermedades cardiovasculares, como lo afirman Araya y Lutz (2003) y Chen *et al.* (2006), dando la posibilidad de crear sistemas acuícolas para desarrollar nuevos alimentos funcionales con contenido de Omega-3 y de selenio orgánico.

4.2.3 CONTENIDO DE PROTEÍNA Y GRASA MUSCULAR DE LA TRUCHA

Los contenidos de proteínas y grasas del músculo de trucha en los diferentes tratamientos dietéticos se pueden observar en el cuadro 13 y en la figura 24. Los valores de ácidos grasos en el músculo de trucha sólo para los tratamientos T1 y T7 se consignan en los cuadros 14 y 15 respectivamente.

Por cada tratamiento dietético se hizo el análisis químico proximal de una sola muestra obtenida de 3 truchas. La razón del análisis de una sola muestra fue que todas las dietas tuvieron como componentes los mismos ingredientes alimenticios, excepto la vitamina E y el selenio orgánico, por lo que no habría mayor variación en los contenidos de selenio en el músculo. Las tendencias observadas se describen a continuación.

Cuadro 13: Análisis químico proximal del músculo de trucha en base fresca (una sola muestra por tratamiento).

Tratamientos	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Ceniza (%)
T₁:	75,4	19,2	4,8	1,4
T₂:	72,3	18,6	7,4	1,5
T₃:	75,7	18,8	4,3	1,4
T₄:	74,4	19,0	5,3	1,4
T₅:	74,8	18,0	5,7	1,3
T₆:	75,0	20,3	3,6	1,4
T₇:	75,6	19,5	3,7	1,4

El contenido de proteína del músculo de la trucha de la dieta T1 (control) y la T7 fueron de similar cuantía (19,2 vs 19,5 %). En los 6 tratamientos con antioxidantes, las concentraciones de proteína correspondientes a 25 y 50 mg de vitamina E, igualmente fueron parecidas (18,8 y 19,3 %). Estos contenidos proteicos del músculo de trucha concuerdan con el rango de 18 a 20 % de proteína reportado por García-Macías *et al.* (2008) para productos industriales elaborados a base de carne de trucha.

Similares valores se encontraron en el tenor de grasa del músculo de trucha de la ración control (T1) y del T7 (4,8 vs 3,7 %), 25 y 50 mg vitamina E (5,7 vs 4,3 %). Estos resultados sobre contenido de grasa de la carne de trucha, en general, son semejantes a los que han encontrado varios investigadores (García-Macías *et al.* 2006, Celik *et al.* 2007, Aranzadi 2011).

Al comparar (Cuadro 14), el contenido de familias de ácidos grasos en el músculo de trucha del tratamiento 1 (control) y el del tratamiento 7 (50 mg vitamina E y 0,35 mg selenio orgánico) se estableció que en ácidos grasos saturados, prácticamente no hay diferencia (25,74 y 26,52 %), en los monoinsaturados se registra una ligera diferencia de 2,18 % a favor del tratamiento 7, y que en los poliinsaturados la diferencia es algo mayor (3,28 %) a favor del control (45,46 y 42,28 %). Aparentemente, no hubo mayor efecto de la vitamina E y el selenio orgánico en la composición de familias de ácidos grasos en carne

de trucha, excepto la de actuar como antioxidantes y previniendo la peroxidación de lípidos.

Cuadro 14: Resumen del contenido de familias de ácidos grasos de la trucha.

RESUMEN		
ACIDOS GRASOS	Trat-1	Trat-7
	(%)	(%)
Saturados	25,74	26,52
Monoinsaturados	23,87	26,05
Poliinsaturados	45,56	42,28
TOTAL	95,17	94,85
EPA + DHA	22,19	17,85

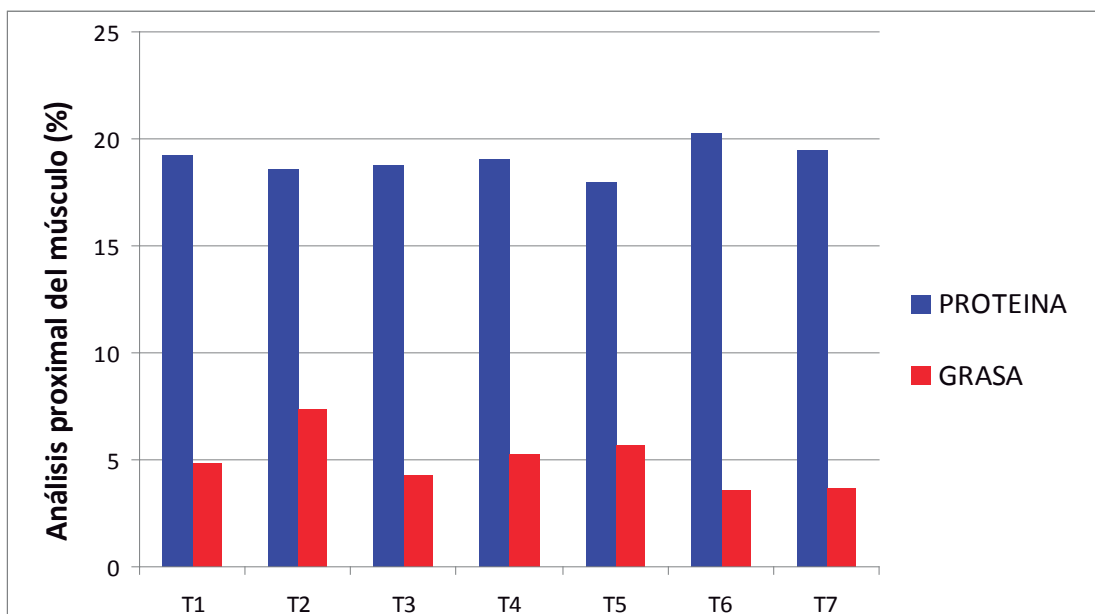


Figura 24: Representación gráfica del análisis de proteína y grasa del músculo de trucha. Se observa que no hay mayor variación entre los dos macronutrientes en los tratamientos dietéticos.

El músculo de trucha del tratamiento 1 (control) y del tratamiento 7 (vitamina E y selenio orgánico) (cuadro 15) muestran valores semejantes en ácido palmítico (18,00 y 18,13 %), ácido esteárico (3,78 y 4,17 %), oleico (15,86 y 17,40 %), linoleico (16,33 y 17,10 %), α -linolenico (1,54 y 1,82 %), ácido eicosapentaenoico (EPA: 7,01 y 6,45 %) y ácido docosahexaenoico (DHA: 15,18 y 11,40 %).

Cuadro 15: Familias de ácidos grasos del músculo de trucha.

Tipos de Ácidos Grasos	Estructura (Cn:m)	Trat-1 (control)	Trat-7
		(%)	(%)
Palmítico	16 : 0	18,00	18,13
Esteárico	18 : 0	3,78	4,17
Oleico	18:1 w-9	15,86	17,40
Vaccenico	18:1 w-7	2,40	2,40
Linoleico	18:2 w-6	16,33	17,10
γ-Linolénico	18 :3 w-6	0,48	0,60
α-Linolénico	18:3 w-3	1,54	1,82
Eicosapentaenoico (EPA)	20:5 w-3	7,01	6,45
Docosahexaenoico (DHA)	22:6 w-3	15,18	11,40
EPA + DHA		22,19	17,85

Cuando se observan los valores del EPA y DHA (Cuadros 14 y 15) se reconocen valores de 22,19 % en trucha del tratamiento 1 (Control) y de 17,85 % en trucha del tratamiento 7. La diferencia de 4,34 % es a favor de la dieta control. Se esperaba, que por efecto de la vitamina E y el selenio orgánico, la diferencia favoreciera al tratamiento 7.

Finalmente, el nivel de ceniza presente en el músculo de la trucha, al igual que la humedad, tienen valores muy coincidentes que varían solo en décimas, no existiendo diferencias por la existencia de las distintas concentraciones del selenio en la dieta, lo que indicaría que todo el selenio orgánico ha sido metabolizado y convertido en diferentes metaloenzimas que luego fueron usados en los distintos procesos fisiológicos del pez.

4.2.4 NITRÓGENO DE BASES VOLÁTILES TOTALES (N-BVT)

La información sobre nitrógeno de bases volátiles totales se da en el cuadro 16 y figura 25. Una vez terminado el trabajo en los estanques, las truchas se sacaron, y una hora después fueron sometidas a congelamiento rápido por medio de placas, a -35 °C durante 2 horas, almacenándolas luego en cámaras a -24 °C. El análisis de N-BVT se hizo en una muestra congelada por cada tratamiento un mes más tarde.

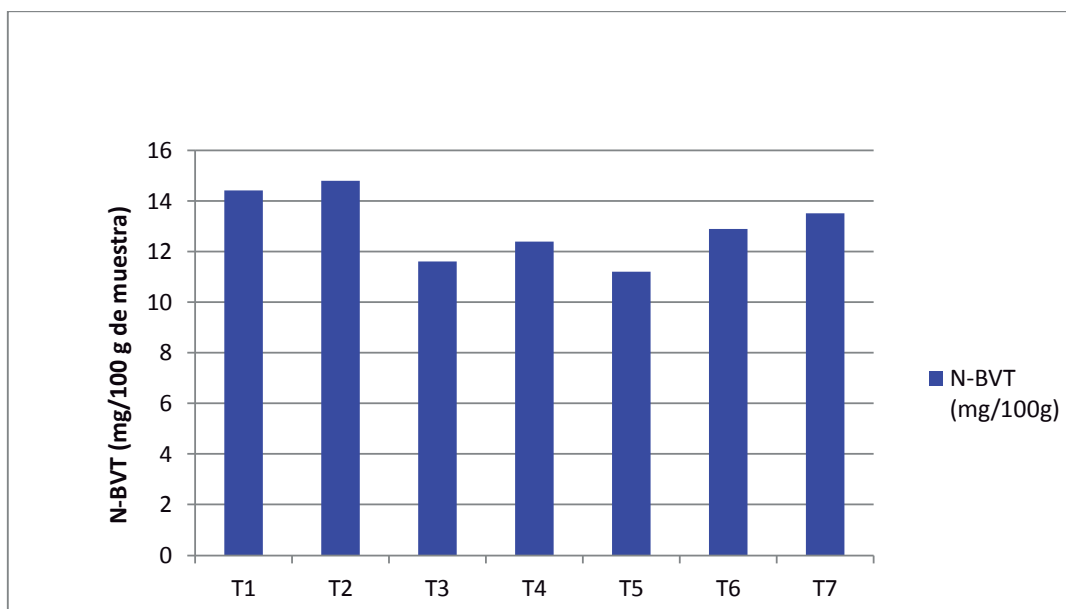


Figura 25: Representación gráfica de los valores de N-BVT de la trucha en varios regímenes nutricionales.

El N-BVT, indicador tradicional de la frescura del pescado, expresa el contenido de bases volátiles (Trimetilamina, Dimetilamina y NH_3), y aminas de la descarboxilación microbiana de los aminoácidos, donde ninguno llega a 30 mg/100 g, que sería el límite de aceptabilidad para especies semigrasas (Koral *et al.* 2010).

En el estudio se encontró que el contenido de N-BVT de la muestra de carne de truchas alimentadas con la dieta basal (control) fue de 14,4 mg/100 g. Mientras que, el valor de N-BVT del músculo de trucha que consumió la dieta T7 (enriquecida con vitamina E y selenio orgánico) fue de 13,5 mg/100 g.

Cuadro 16: Contenido de nitrógeno de bases volátiles totales (n-bvt). (mg n-bvt / 100 g de muestra).

	Vitamina E por kilo de dieta						
	0 mg	25 mg			50 mg		
Se orgánico/Kg dieta	Control	0,15 mg	0,25 mg	0,35 mg	0,15 mg	0,25 mg	0,35 mg
N-BVT (mg/100 g).	(T1) 14,4	(T2) 14,8	(T3) 11,6	(T4) 12,4	(T5) 11,2	(T6) 12,9	(T7) 13,5
Efecto de los niveles de vit. E sobre el N-BVT (mg/100 g).	14,4	12,9			12,5		
Efecto de los niveles de selenio sobre el N-BVT (mg/100 g).	14,4	0,15 mg (25 y 50 mg) 13,00	0,25 mg (25 y 50 mg) 12,25	0,35 mg (25 y 50 mg) 12,25	0,35 mg (25 y 50 mg) 12,95		

Respecto a los niveles dietéticos de vitamina E, son muy parecidos el contenido de N-BVT de la carne de trucha de las dietas con 25 mg de vitamina E (12,9 mg/100 g) y el N-BVT de la carne de trucha de las dietas enriquecidas con 50 mg de vitamina E (12,5 mg/100 g).

Así también, considerando los niveles de selenio en la dieta, son similares los valores de N-BVT correspondientes a 0,15; 0,25 y 0,35 mg de selenio orgánico (13,0; 12,2 y 12,95 mg/100 g).

Como se observa, todos estos valores, que tienen como suplemento a los nutrientes antioxidantes, son menores que el tratamiento basal. Lo mismo sucede cuando se observa, el promedio de los tratamientos suplementados (T2 al T7), donde se obtiene sólo 12,73 mg/100 g, indicando que los antioxidantes suplementados disminuyeron la descomposición bacteriana y redujeron al mínimo la acción de las enzimas endógenas.

Los valores expuestos están dentro de los límites de frescura aceptables para el pescado y que coincide con lo reportado por Ruiz-Capillas y Horner (1999) quienes indican que el pescado recién capturado debe tener un contenido de N-BVT entre 10 a 15 mg por cada 100 g de muestra, a excepción de los peces pelágicos.

De otro lado, en un experimento efectuado por Oğuzhan y Angiş (2012) después de cultivar truchas, reportaron valores de N-BVT de 12,42 mg/100 g, para ser conservados mediante salado y deshidratado.

Özogul y Özogul (2000), utilizaron valores de N-BVT como Índice de calidad de frescura para comparar el deterioro de la trucha envuelta en láminas de aluminio para luego ser almacenadas.

Según Márquez *et al.* (2006) el nivel de N-BVT máximo tolerable y que coincide con el inicio de la alteración organoléptica de la carne de peces grasos como la trucha es de 30 mg N-BVT/100 g de muestra.

En conclusión, la vitamina E y el selenio orgánico en los niveles empleados en el presente estudio, mantuvieron la excelente frescura de la trucha, para ser analizada en los laboratorios o usada como alimento fresco o procesada en cualquiera de sus presentaciones.

4.2.5 DETERMINACIÓN DE MALONDIALDEHÍDO (MDA)

Los datos de la prueba del ácido tiobarbitúrico (TBA) en mg de MDA/Kg de muestra de carne de trucha, se presentan en el cuadro 17 y la figura 26.

El valor promedio de TBA del músculo de trucha fue de 1,16 mg MDA/Kg en el caso del T1 (control), mientras que truchas con 25 mg/Kg de vitamina E tuvieron un valor levemente más elevado (1,23 mg MDA/Kg), y aquellas muestras con 50 mg/Kg de vitamina E mostraron un resultado ligeramente reducido (1,09 mg MDA/Kg).

Respecto a los 6 tratamientos suplementados con vitamina E y selenio orgánico (T2 a T7), también tuvieron un promedio de 1,16 mg MDA/Kg; todos estos contenidos son tan pequeños que no causarían ningún daño a los lípidos musculares. Con 2 niveles de vitamina E y 3 niveles de selenio orgánico en sus dietas, los valores de TBA, son todos muy bajos, cuyos rangos están entre 1,49 (T5) y 0,80 (T6).

Así también, se observó que en cada nivel de vitamina E, a mayor dosis de selenio orgánico se logra un ligero menor valor de TBA. Así también, con 50 mg de vitamina E, en relación a 25 mg, se produce una muy ligera reducción en el valor TBA. Estos resultados indicarían que la presencia del selenio orgánico y la vitamina E han tenido algún efecto protector en las células y tejido muscular durante el tiempo de crianza, y que una vez sacrificados estos peces, han inhibido la peroxidación lipídica.

En el análisis de varianza (anexo 16) se puede observar, que no existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($P > 0,05$; valor de probabilidad: 0,6460); esto se ve también corroborado con la prueba múltiple de medias de Tukey, donde el tratamiento 6 tiene la media más baja (0,803 mg MDA/Kg), indicando la inexistencia de algún tipo de lipoperoxidación; incluso, el tratamiento 5, que tiene el valor más alto (1,493 mg MDA/Kg), no es un valor que indique inicio de peroxidación. Asimismo, la prueba múltiple de Dunnett muestra que las pequeñas diferencias entre los tratamientos dietéticos, no alcanzaron significación estadística.

De acuerdo a Suárez *et al.* (2009), los valores de TBA que indican buena calidad de músculo de pescado están alrededor de 5 mg de malondialdehído/kg, mientras que pueden ser aceptados para consumo humano valores hasta de 8 mg de malondialdehído/kg.

**Cuadro 17: Prueba del ácido tiobarbitúrico (tba).
(mg mda/kg muestra).**

		Vitamina E por kilo de dieta						
		0 mg	25 mg			50 mg		
Se/Kg dieta	Control (T1)		0,15 mg (T2)	0,25 mg (T3)	0,35 mg (T4)	0,15 mg (T5)	0,25 mg (T6)	0,35 mg (T7)
	r1	1,28	1,50	1,13	2,14	0,80	0,64	0,76
	r2	0,90	1,98	0,54	0,87	1,14	0,78	0,92
	r3	1,30	0,83	1,13	0,96	2,54	0,99	1,21
Promedio de selenio por cada tratamiento		1,16	1,44	0,93	1,32	1,49	0,80	0,96
Efecto de los niveles de vit. E sobre el TBA (mg MDA/Kg).		1,16	1,23			1,09		
Efecto de los niveles de selenio sobre el N-BVT (mg MDA/Kg).		1,16	0,15 mg (25 y 50 mg)		0,25 mg (25 y 50 mg)		0,35 mg (25 y 50 mg)	
			1,465		0,865		1,14	

El resultado del presente estudio está bastante lejos de estas cifras.

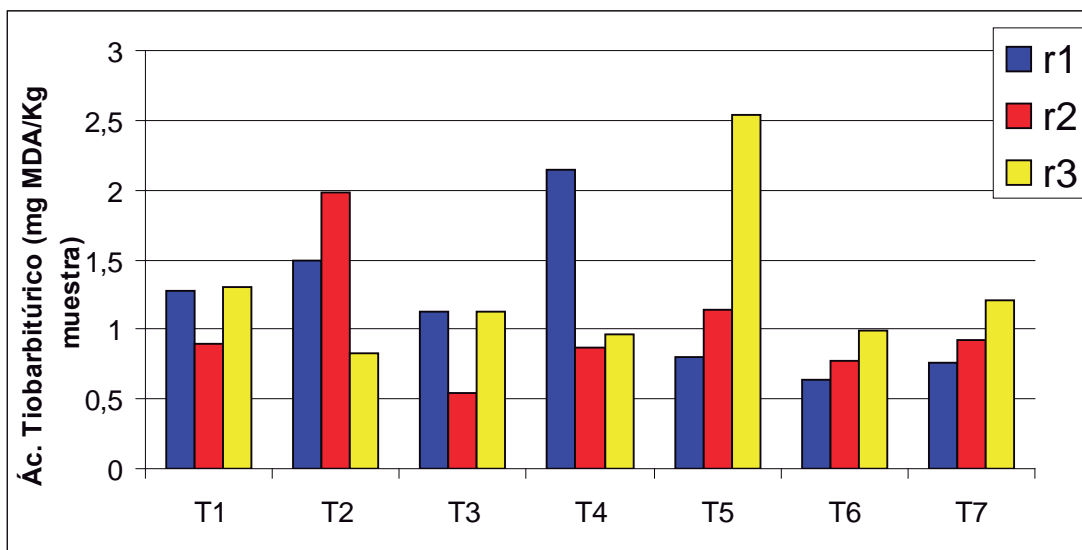


Figura 26: Representación gráfica del contenido de malondialdehído. Desde el valor más bajo (r1 del T6) al más alto (r3 del T5) y que mantienen la estabilidad oxidativa del músculo debido a la vitamina E y al selenio orgánico. Fuente: Tuna (2012).

Como la cuantificación del ácido tiobarbitúrico es una medida de la calidad lipídica del tejido muscular, se han realizado numerosas pruebas, sobre todo con las especies de mucha demanda comercial. Así, Haghparast *et al.* (2010) en un estudio con truchas almacenadas a 4 °C, utilizando acetato de sodio y citrato de sodio como antioxidante, reportaron valores de 0,18 a 1,91 mg MDA/Kg, cifras que coinciden con el presente estudio, en el cual se emplea como antioxidantes α -tocoferol y selenio orgánico.

Bilgin *et al.* (2010) criaron truchas en un estanque hasta tamaño comercial, luego de ser sacrificados cuantificaron 0,42 mg MDA/Kg; inmediatamente fueron sometidos a un tratamiento térmico con aceite de oliva obteniendo 2,11 mg MDA/Kg; considerándolo apto para el consumo. Asimismo, Jasour *et al.* (2011) en un experimento en truchas alimentadas con diferentes niveles de adición de vitamina E, con el objeto de impedir la oxidación primaria, se obtuvieron valores menores a 1 mg MDA/Kg muestra.

En general, todos los valores de TBA (mg MDA/Kg de músculo) del presente estudio son muy bajos e indican que la trucha durante el mes de almacenamiento en frío, no sufrió ningún daño (peroxidación) de los lípidos, en particular de los ácidos grasos poliinsaturados.

V. CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en el presente estudio, se llega a las siguientes conclusiones:

1. Las truchas del T7, cuya dieta fue suplementada con 50 ppm de vitamina E y 0,35 ppm de selenio orgánico, lograron ganancias en el peso corporal durante 40 días, en promedio 88 g; dicho valor fue estadísticamente superior al del control T1 (58 g).

2. El índice de conversión alimenticia más eficiente de 1,203 Kg de alimento por Kg de ganancia de peso, correspondió también a las truchas del T7 (cuya dieta se suplementó con 50 mg de vitamina E y 0,35 mg de selenio orgánico), dicho índice superó estadísticamente al del control (1,843 Kg).

3. La eficiencia proteica más alta (PER: 2,16), igualmente se logró en las truchas del T7 que recibieron la dieta cuyo contenido de vitamina E y selenio orgánico fueron los más elevados, siendo dicho valor estadísticamente significativo versus el control T1 (PER: 1,42).

4. Asimismo, la calidad de frescura de la carne de trucha fue ligeramente superior en T7 (13,5 mg N-BVT/100g) versus la calidad del control T1 (14,4 mg N-BVT/100g), ambos valores están lejos de lo permitido (30 mg N-BVT/100g).

5. La calidad del músculo de la trucha, en términos de peroxidación lipídica (prueba del MDA) fue excelente, cuyos valores obtenidos para el T7 (0,96 mg MDA/Kg) y el T1 (1,16 mg MDA/Kg), revelaron reducción de la oxidación intracelular.

6. Los contenidos de selenio del músculo de las truchas del T4 (0,35 ppm de selenio orgánico y 25 ppm vitamina E) y de las truchas del T7 (0,35 ppm de selenio orgánico y 50 ppm vitamina E), mostraron una capacidad acumulativa superior estadísticamente al contenido de las truchas control.

VI. RECOMENDACIONES

En función a los resultados obtenidos se hace las siguientes recomendaciones:

- 1.** Enriquecer alimentos para truchas a escala comercial con un nivel de 50 mg de vitamina E y 0,35 mg de selenio orgánico por cada Kg de alimento.
- 2.** Realizar experimentos con truchas dosificando en sus dietas, los mismos y mayores niveles de vitamina E y selenio orgánico, pero sin llegar a niveles de toxicidad.
- 3.** Evaluar el comportamiento de dietas experimentales formuladas en este estudio, pero con alimento extruído, empleando otras infraestructuras como jaulas flotantes de cultivo y pozas de tierra.
- 4.** Realizar estudios y evaluar los parámetros productivos piscícolas con otras especies de peces comerciales que se cultiven en nuestro medio, empleando la vitamina E y el selenio orgánico.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION. 2004. Position of the american dietetic association: Functional Foods. J. Am. Diet. Assoc. 104(5): 814 – 826.
- AGARWAL, A; TAMER MS. 2005. Oxidative stress, DNA damage and apoptosis in male infertility: a clinical approach. B J U International; 95: 503 – 507.
- AGARWAL, A; ALLAMANENI SS. 2005. Sperm DNA damage assessment: a test whose time has come. Fertility and Sterility. 84 (4): 850 – 853.
- AKBULUT, B; SAHIN V; AKSUNGUR N; AKSUNGUR M. 2002. Effect of Initial Size on Growth Rate of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, Reared in Cages on the Turkish Black Sea Coast. Turk. J. Fish. Aquat. Sci. 2: 133-136.
- ALBERTINI R; RINDI S; PASSI A; BARDONI A; SALVINI R; PALLAVICINI G ; DE LUCA G. 1996. The effect of cornea proteoglycans on liposome peroxidation. Arch. Biochem. Biophys. 327(2): 207-214.
- ALVARADO, H. 1995. Sustitución de la harina de pescado por harina de carne y hueso en alimentos para truchas Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*). Zootecnia Trop. Vol. 13(2): 233-243.
- ALVARADO, H. 1999. Crecimiento y sobrevivencia de la trucha Arco Iris cultivada en diferentes tipos de estanques y densidades. Veterinaria Tropical. 24(2): 121-129.
- AMES, BN; SHIGENAGA, MK; HAGEN, TM. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 90:7915-7922.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 1990. Official methods of analysis (15 Th Ed.). Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

- ARANZADI, L. 2011. "Formulación y caracterización de salchichas a base de filete de trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*): aceptabilidad por parte de los consumidores". Univ. Nac. del Centro de la Prov. de Buenos Aires. Fac. de Ciencias Veterinarias. Argentina.
- ARAYA, H; LUTZ, M. 2003. Alimentos funcionales y saludables. Rev. Chilena Nutr. 30 (1): 8-14.
- ARREDONDO, JL; VALDIVIA, HR; HERNÁNDEZ L; CAMPOS R. 1996. Evaluación del crecimiento, factor de conversión de alimento y calidad del agua del cultivo de trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) en un sistema cerrado. Hidrobiología; 6(1-2): 59-65.
- ARTEEL, GE; SIES H. 2001. The biochemistry of selenium and the glutathione system. Environ Toxicol Phar. 10: 153-158.
- ARTHUR, JR; MCKENZIE, RC; BECKETT, GJ. 2003. Selenium in the immune system. J. nutr. 133:1457S-1459S.
- ASIKAINEN, TM; WHITE, CW. 2005. Antioxidant defenses in the preterm lung: role of hypoxia – inducible factors in BPD?. Toxicol Appl Pharmacol. 203: 177-188.
- ATANASIU, V; STOIAN I; CERCASOV C; MANOLESCU B. 2006. α -Tocopherol transfer protein: molecular aspects of specific recognition of α -tocopherol. Revue Roumaine de Chimie, 51(3): 163–168.
- BASTARDO, H; SOFÍA, S. 2003. Masculinización de la trucha Arco Iris, *Oncorhynchus mykiss*, para obtener descendencia todas hembras en un criadero venezolano. Zootecnia Trop.; 21(1): 27-4.
- BASTARDO, H; MEDINA, A; SOFÍA, S. 2005. Evaluación de la Sustitución Total de Harina de Pescado por Harina de Lombriz en Dietas para Iniciador de Trucha Arco Iris. Agroalimentación y Desarrollo sustentable. N° 7. Art. 1. pp. 01-06.
- BAY, SM; VIDAL D; SCHLENK D. 2002. Effects of Selenium Accumulation on Larval Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Department of Environmental Sciences, University of California. Technical Report 373.

- BEDRIÑAGA, SM. 2011. Información directa proporcionada por el referido funcionario de la Dirección Regional de Producción perteneciente al Gobierno Regional de Junín.
- BEHERA, KS; DIMRI U; KUMAR S; KUMAR M. 2011. The curative and antioxidative efficiency of ivermectin and ivermectin + vitamin E-selenium treatment on canine *Sarcoptes scabiei* infestation. *Veterinary Research Communications*; 35(4): 237-244.
- BEHNE, D; KYRIAKOPOULOS A. 2001. Mammalian selenium containing proteins. *Annu. Rev. Nutr.* 21: 453-473.
- BELL, EF; FILER, LJ. 1981. The role of vitamin E in the premature infants. *Am. J. Clin. Nutr.* 34: 414-422.
- BELL, JG; COWEY CB; ADRON JW. 1985. Some effects of vitamin E and selenium deprivation on tissue enzyme levels and indices of tissue peroxidation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *British Journal of Nutrition*; 53: 149-157.
- BELL, JG; COWEY, CB. 1989. Digestibility and bioavailability of dietary selenium from fishmeal, selenite, selenomethionine and selenocystine in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, September; 81(1): 61-68.
- BENZIE, IF. 1996. Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurement and dietary influences. *Internat J Food Sci Nutr.* 47: 233-261.
- BILGIN S; IZCI L; GÜNLÜ A; BOLAT Y. 2010. Effects of pan frying with different oils on some of the chemical components, quality parameters and cholesterol levels of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *African Journal of Biotechnology*; Vol. 9(39): 6573-6577.
- BJORNEBOE, A; BJORNEBOE GA; BODD E; HAGEN BF; KVESETH N; DREVON CA. 1986. Transport and distribution of alpha-tocopherol in lymph, serum and liver cells in rat. *Biophys Biochim. Acta.* 889: 310-315.
- BLÉ-CASTILLO, JL; DÍAZ-ZAGOYA JC; MÉNDEZ JD. 2008. Suplementación con vitamina E, ¿benéfica o dañina? *Gac Méd Méx.* Vol. 144 No. 2.

- BLOKHINA, O; VIROLAINEN E; FAGERSTEDT V. 2003. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a Review. *Annals of botany*. 91: 179-194.
- BOONSTRA, J; POST JA. 2004. Molecular events associated with reactive oxygen species and cell cycle progression in mammalian cells. *Gene*; 337:1-13.
- BOREL, P; GROLIER P; BOIRIE Y; SIMONET L; VERDIER E; ROCHETTE Y; BEAUFRERE B ; LAIRON D. 1988. Oxidative stress status and antioxidant status are apparently not related to carotenoid status in healthy subjects. *J. Lab. Clin. Med.* 132: 61-66.
- BÓRQUEZ, RA; VALDEBENITO N; DANTAGNAN, HP; BARILES, SJ. 1999. Rendimientos productivos de dietas extruidas y pelletizadas en cultivo intensivo de trucha, *Oncorhynchus mykiss*. *Rev. Invest. Cient. Tecnol., Ser. Cienc. Mar.* 4: 1-3.
- BOVE, PF; VAN DER VLIET A. 2006. Nitric oxide and reactive nitrogen species in airway epithelial signaling and inflammation. *Free Radic Biol Med*, 41: 515-527.
- BOWLES, DK; TORGAN, CE; EBNER S; KEHRER, JP; IVY, JL; STARNER, JW. 1991. Effects of acute, submaximal exercise on skeletal muscle vitamin E. *Free Radic Commun.* 14: 139-143.
- BRIGELIUS-FLOHÉ, R; TRABER MG. 1999. Vitamin E: Function and metabolism. *The FASEB Journal*. Vol. 13:1145-1155.
- BURK, RF; HILL, KE; MOTLEY, AK. 2003. Selenoprotein metabolism and function: evidence for more than one function for selenoprotein P. *J. Nutr.* May; 133 (5 Suppl 1): 1517S-20S.
- BURK, RF. 1978. Selenium in nutrition. *World Rev. Nutr. Diet.* 30: 88-106.
- BURTON, GW. 1994. Vitamin E: molecular and biological function. *Proceedings of the Nutrition Society*; 53: 251-262.
- BURTON, GW; TRABER MG. 1990. Vitamin E: antioxidant activity, biokinetics and bioavailability. *Annu. Rev. Nutr.* 10: 357-382.

- CASADO, A; LÓPEZ-FERNÁNDEZ, ME. 2003. Age-correlated changes of the erythrocyte catalase activity in Spanish population. *Gerontology*. 49(4): 251-254.
- CASTILLO, IG. 1999. Mejoramiento de la vida de anaquel de la carne. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos. Exposición en el XXVII Congreso Nacional de Buiatría. Méjico.
- CEBALLOS, A; ARAYA, O; PAREDES, E. 1996. Aspectos clínico-patológicos de la esteatosis en el equino: Descripción de un caso. *Arch. Med. Vet.* 28: 125-130.
- CELIK, M; GÖKÇE MA; BASUSTA N; KÜÇÜKGÜLMEZ A; TASBOZAN O; TABAKOGLU S. 2007. Nutritional quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) caught from the atatürk dam lake in Turkey. *Journal of Muscle Foods*; 19: 50–61.
- CEROLINI, S; MALDJIAN A; PIZZI F; GLIOZZI TM. 2001. Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. *Reproduction* 121: 395 – 401.
- CERTIFICACIONES DEL PERÚ. 2010. Determinación de la vitamina E. Método AACC 86-06.10 th Edition 2000 (Including the 2002 supplement).
- CERTIFICACIONES DEL PERÚ. 2010. Determinación del selenio: Método AOAC - 986. 15, c9, 18 th Ed. 2005. Multielement method.
- CHAIYAPECHARA, S; CASTEN MT; HARDY RW; DONG FM. 2003. Fish performance, fillet characteristics, and health assessment index of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing adequate and high concentrations of lipid and vitamin E. *Aquaculture*, 219: 715-738.
- CHANDAN, K; KHANNA S; ROY S. 2006. Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols. *Life Sciences*; 78(18): 2088–2098.
- CHÁVEZ-SERVIN, JL; CASTELLOTE AI; MARTÍN M; LOPEZ-SABATER MC. 2009. Stability during storage of LC-PUFA supplemented infant formula containing single cell oil or egg yolk. *Food Chemistry*; 113; 484-492.

- CHEN, YC; NGUYEN J; SEMMENS K; BEAMER S; JACZYNSKI J. 2006. Enhancement of Omega-3 Fatty Acid Content in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fillets. Journal of Food Science. Vol.71 (7): C383-C389.
- CHIHUAILAF, RH; CONTRERAS PA; WITTEWER FG. 2002. Patogénesis del estrés oxidativo: Consecuencias y evaluación en salud animal. Rev. Veterinaria México. Vol. 33. Número 3.
- CHU, F; DOROSHOW J; ESWORTHY R. 1993. Expression, characterization and tissue distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-Gl. J. Biol. Chem. 268: 2571-2576.
- CIARDULLO, S; AURELI F; CONI E; GUANDALINI E; IOSI F; RAGGI A; RUFO G; CUBADDA F. 2008. Bioaccumulation Potential of Dietary Arsenic, Cadmium, Lead, Mercury, and Selenium in Organs and Tissues of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) as a Function of Fish Growth. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56 (7): 2442-2451.
- COMBS, GF; SCOUT, ML. 1979. The selenium needs of laying and breeding hens. Poultry Science 58: 871-884.
- COMBS, GF Jr. 2001. Selenium in global food systems. Br. J. Nutr. 85 (5): 517-547.
- CORDERO VILCA, TA. 2002. Evaluación nutricional de la proteína de la hoja de coca (*Erythroxylum coca Lamarck var. Coca*). Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico. Universidad de San Marcos. Lima. Perú.
- DANABAS, D. 2011. Fatty acids profiles of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792), fed with zeolite (clinoptilolite). The Journal of Animal & Plant Sciences, 21(3): 561-565.
- DAWSON, VL; DAWSON TM. 1996. Free radicals and neuronal cell death. Cell Death & Diff. 3: 71-78.
- DE ROSA JF. 1998. Estado actual de la terapéutica antioxidante: oxidación y antioxidación. Rev Fed Arg Cardiol. 27: 496-498

- DELBERT, MG; POE WE; WILSON RP. 1986. Effects of Singular and Combined Dietary Deficiencies of Selenium and Vitamin E on Fingerling Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*); J. Nutr. 116: 1061-1067.
- DÍAZ-ACOSTA, AE; MEMBRILLO-HERNANDEZ J. 2006. Consecuencias fisiológicas de la oxidación de proteínas por carbonilación en diversos sistemas biológicos. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas. 9(1): 34-44.
- DIETRICH, B; KYRIAKOPOULOS A. 2001. Mammalian selenium-containing proteins. Annual Review of Nutrition, 21: 453-473.
- DIPLOCK, AT. 1985. Vitamin E. In Fat-Soluble Vitamins: Their Biochemistry and Applications; Ed. A. T. Diplock. Heinemann; London; pp. 154-224.
- DIPLOCK, AT; AGGETT V; ASHWELL M; BORNET F; FERN EB; ROBERFROID MB. 1999. Scientific Concepts of Functional Foods in Europe: Consensus Document. British Journal of Nutrition; 81(No 1): S1-S27.
- DOWD, P; ZHENG ZB. 1995. On the mechanism of the anticlotting action of vitamin E quinone. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 92(18): 8171-8175.
- DREVON, CA. 1991. Absorption, transport and metabolism of vitamin E. Free Radic Res Commun. 14: 229-246.
- DYE, L; BLUNDEL J. 2002. Functional foods: psychological and behavioural functions. British Journal of Nutrition; 88(2): 187-211.
- ENSMINGER, EM; OLDFIELD JE; HEINEMANN WW. 1990. Feeds & Nutrition 2a Ed. The Ensminger Publishing Company. pp 121-122, 135-136.
- ENSMINGER, EM; OLENTINE CG. 1983. Alimentos y Nutrición de los Animales. Editorial El Atemeo. pp. 51-52 y 55-56.
- ERICKSON, KL; MEDINA EA; HUBBARD NE. 2000. Micronutrients and innate immunity. J. Infect. Dis. 182: S5-S10.

- EVANS, P; HALLIWELL B. 2001. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. Br. J. Nutr. 85 (suppl 2): S67-S74.
- EVANS T, RJ; KAYE SB. 1999. Retinoids: present role and future potential. British J. Cancer 80: 1-8.
- FAUSTMAN, CW; CHAN; SCHAEFER D; HAVENS A. 1998. Beef Color Update: The Role for Vitamin E. J. Anim. Sci. 76:1019-1026.
- FERNÁNDEZ, JM; DA SILVA-GRIGOLETTO ME; TÚNEZ-FIÑANA I. 2009. Estrés oxidativo inducido por el ejercicio. Rev. Andal. Med. Deporte; 2: 19-34.
- FINCH, JM; TURNER, RJ. 1996. Effects of selenium and vitamin E on the immune responses of domestic animals. Research in Veterinary Science. 60(2): 97–106.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). 1986. Sensory Physical and Chemical Analysis. pp 205 T 14/7, 1986.
- FREEMAN, BA; WHITE CR; GUTIERREZ H; PALER-MARTINEZ A; TARPEY MM; RUBBO H. 1995. Oxygen radical-nitric oxidereactions in vascular diseases. Adv. Pharmacol. 34: 45-69.
- FURONES, MD; ALDERMAN DJ; BUCKE D; FLETCHER TC; KNOX D; WHITE A. 1992. Dietary vitamin E and the response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), to infection with *Yersinia ruckeri*. Journal of Fish Biology; Vol. 41(6): 1037-1041.
- GABRYSZUK, M; KLEWIEC, J. 2002. Effect of injecting 2- and 3-year-old ewes with selenium and selenium–vitamin E on reproduction and rearing of lambs. Small Ruminant Research. 43(2): 127-132.
- GARCÍA-MACÍAS, JA; NÚÑEZ-GONZÁLEZ; RENTERÍA-MONTEERRUBIO AL; JIMÉNEZ JA; ESPINOSA-HERNÁNDEZ MR. 2006. Calidad de canal y carne de tres variedades de trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Hidrobiológica; 16(1): 11-22.

- GARCÍA-MACÍAS, JA; NÚÑEZ-GONZÁLES FA; ESPINO-RODRÍGUEZ GJ; ALARCÓN-ROJO AD; RENTERÍA-MONTEERRUBIO AL; CHÁVEZ-MENDOZA C; ESPINOSA-HERNÁNDEZ MR. 2008. Características organolépticas de productos elaborados con carne de trucha Arco Iris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Tecnociencia Chihuahua*. Vol. 2(3): 156-165.
- GEBICKI, S; GEBICKI JM. 1993. Formation of peroxides in amino acids and proteins exposed to oxygen free radicals. *Biochem. J.* 289:743-749.
- GHANY-HEFNAWY, AE; LÓPEZ-ARELLANO R; REVILLA-VÁZQUEZ A; RAMÍREZ-BRIBIESCA E; TÓRTORA-PÉREZ J. 2007. The relationship between fetal and maternal selenium concentrations in sheep and goats. *Small Ruminant Research*. 73: 174-180.
- GISELE, C; YUKIHIRO R; MONTEDOR P; ZANUZZO S. 2011. Dietary selenium and vitamin E supplementation on Body weight gain of pacu juvenile (*Piaractus mesopotamicus*). Department of Animal Morphology and Physiology. São Paulo State University (UNESP).
- GILBERT, DL. 2000. Fifty years of radical ideas. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 899: 1-14.
- GLADYSHEV, VN; HATFIELD DL. 1999. Selenocysteine-Containing Proteins in Mammals. *J. Biomed. Sci*; 6:151-160.
- GOMES, G. 2008. Suplementação com selênio orgânico nas dietas de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Dissertação de mestrado apresentada ao Centro de Aqüicultura da UNESP como requisito para a obtenção do título de Mestre em Aqüicultura. Universidade Estadual Paulista; 59 pp.
- GÓMEZ, C; BERMEJO LM; LORIA V. 2011. Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health. Nutritional recommendations. *Nutr. Hosp.* 26(2): 323-329.
- GONZÁLEZ-BARRIO, R; VIDAL-GUEVARA ML; TOMÁS-BARBERÁN FA; ESPÍN JC. 2009. Preparation of a resveratrol-enriched grape juice based on ultraviolet C-treated berries. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*; 10; 374-382.

- GONZÁLES, E. 2006. La placenta en la gestante diabética. Revista de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva. Vol. XIII; Nº 2: 16-22.
- GONZALEZ-CORREA, JA; ARREBOLA MM; GUERRERO A; J MUNOZ-MARÍN A; RUIZ-VILLAFRANCA D; SÁNCHEZ DE LA CUESTA F; DE LA CRUZ JP. 2005. Influence of vitamin E on the antiplatelet effect of acetylsalicylic acid in human blood. Platelets. 16: 171-179.
- GÜMÜŞ, E; IKIZ R. 2009. Effect of dietary levels of lipid and carbohydrate on growth performance, chemical contents and digestibility in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* walbaum, 1792. Pakistan Vet. J. 29(2): 59-63.
- GUNTER, SA; BECK, PA; PHILLIPS, JM. 2003. Effects of supplementary selenium source on the performance and blood measurements in beef cows and their calves. J. Anim. Sci. 81: 856-864.
- GRUMBERG, J. 1986. Comparación de las velocidades de crecimiento de truchas Arco Iris (*Salmo gairdnerii*) provenientes de ovas de distinto origen. Avances en Ciencias Veterinarias; 1(1): 30-34.
- HAGHPARAST, S; KASHIRI H; SHABANPOUR B; PAHLAVANI MH. 2010. Antioxidant properties of sodium acetate, sodium citrate and sodium lactate on lipid oxidation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) sticks during refrigerated storage (4°C). Iranian Journal of Fisheries Sciences; 9(1): 73-86.
- HALLIWELL, B. 2006. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? J. Neurochem. 97: 1634-1658.
- HALLIWELL, B; GUTERIDGE J, MC. 1999. Free radicals in Biology and Medicine, Third Edition. Oxford Science Publications.
- HARRIS, A; DEVARAJ S; IALAL J. 2002. Oxidative stress, Alpha-tocopherol therapy, and atherosclerosis. Curr. Atheroscler Rep. 4: 373-380.
- HARRIS, ED. 1992. Regulation of antioxidant enzymes. FASEB Journal. Vol 6: 2675-2683.

- HARRISON, JH; HANCOCK DD; HR CONRAD. 1984. Vitamin E and Selenium for Reproduction of the Dairy Cow. *Journal of Dairy Science*. 67(1): 123–132.
- HAYES, JD; PULFORD, DJ. 1995. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Biochem Mol Biol.*; 30(6): 445-600.
- HAYES, JD; MCLELLAN, LI. 1999. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a coordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radic. Res.* 31: 273-300.
- HEINONEN, O; ALBANES, PD. 1994. The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N. Engl. J. Med.* 330: 1029-1035.
- HIGUCHI, Y; LINN S. 1995. Purification of all forms of HeLa cell mitochondrial DNA and assessment of damage to it caused by hydrogen peroxide treatment of mitochondrial or cells. *J. Biol. Chem.* 270: 7950-7956.
- HILTON, JW; HODSON PV; SLINGER SJ. 1980. The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Nutr.* (110): 2527-2535.
- HILTON, J; HODSON PV; SLINGER SJ. 1982. Absorption, distribution, half-life and possible routes of elimination of dietary selenium in juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comparative Biochemistry and Physiology; Part C: Comparative Pharmacology*; 71(1): 49-55.
- HIMENO, S; IMURA N. 2000. New aspects of physiological and pharmacological roles of Selenium. *Journal of Health Science*; 46 (6): 393-398.
- HOPKINS, K. 1992. Reporting fish growth: A review of the Basics. *J. World Aquacult. Soc.*, 23(3): 173-179.
- HORWITT, MK. 1976. Vitamin E: a reexamination. *Am. J. Clin. Nutr.* 29: 569-578.

- IGNARRO, LJ; CIRINO G; CASINI A; NAPOLI C. 1999. Nitric oxide as a signaling molecule in the vascular system: An overview. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 34: 879-885.
- INSTITUTO NACIONAL DE LA PESCA. 1995. Cultivo experimental de trucha Arco Iris en jaulas en la presa Pucato Mpio de Hidalgo, Michoacan. Informe técnico. Diciembre de 1995.
- ISEA, LF; BLÉ MC; MEDINA GA; AGUIRRE P; BIANCHI G; KAUSHIK S. 2008. Estudio de digestibilidad aparente de la harina de lombriz (*Eisenia andrei*) en la alimentación de trucha Arco Iris (*Onchorinchus mykiss*). *Rev. chil. nutr.* Vol. 35(1): 62-68.
- INSTITUTO TECNOLÓGICO PESQUERO DEL PERÚ. 2010. Determinación de ácidos grasos por cromatografía. LABS-ITP-FQ-002-98. Rev. 4, 2003.
- INSTITUTO TECNOLÓGICO PESQUERO DEL PERÚ. 2010. Determinación de cenizas: FAO, Food and Nutrition Paper, pp 228 T 14/7, 1986.
- INSTITUTO TECNOLÓGICO PESQUERO DEL PERÚ. 2010. Determinación de grasa cruda. LABS-ITP-FQ-003-09, 2009.
- INSTITUTO TECNOLÓGICO PESQUERO DEL PERÚ. 2010. Determinación de humedad. FAO, Food and Nutrition Paper pp 205 T 14/7, 1986.
- INSTITUTO TECNOLÓGICO PESQUERO DEL PERÚ. 2010. Determinación de Nitrógeno de Bases Volátiles Totales: Directiva 95/149. CE (NL 97/84, NL 97/85, NL 97/86), 1995.
- INSTITUTO TECNOLÓGICO PESQUERO DEL PERÚ. 2010. Determinación de proteína cruda. LABS-ITP-FQ-001-09, 2009.
- INSTITUTO TECNOLÓGICO PESQUERO DEL PERÚ. 2010. Determinación del ácido tiobarbiturico: Sinnhuber, R.O. and T.C. Yu. 1977. The 2-Thiobarbituric acid reaction, an objective measure of the oxidation deterioration occurring in fats and oil. *Yukagaku*; 26(5): 259-267.

- JARAMILLO, F Jr; PENG I; GATLIN DM. 2009. Selenium nutrition of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) bioavailability, toxicity and interaction with vitamin E. *Aquaculture Nutrition*. 15(2): 160–165.
- JASOUR, MS; RAHIMABADI EZ; EHSANI A; RAHNAMA M; ARSHADI A. 2011. Effects of Refrigerated Storage on Fillet Lipid Quality of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Supplemented by α -Tocopheryl Acetate Through Diet and Direct Addition after Slaughtering. *J. Food Process. Technol.* 2(5): 1-5.
- JIANG, Q; WONG J; FYRST H; SABA JD; AMES BN. 2004. Tocopherol or combinations of vitamin E forms induce cell death in human prostate cancer cells by interrupting sphingolipid synthesis. *PNAS* vol. 101; 51: 17825–17830.
- JIANG, Q; CHRISTEN S; SHIGENAGA MK; AMES BN. 2001. γ -Tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention. *Am. J. Clin. Nutr.* 74: 714–722.
- JIMÉNEZ-COLMENERO, F; SÁNCHEZ-MUNIZ FJ; OLMEDILLA-ALONSO B. 2010. Design and development of meat-based functional foods with walnut: technological, nutritional and health impact. *Food Chemistry*; 123; 959-967.
- JITTINANDANA, S; KENNEY PB; SLIDER SD; KAMIREDDY N; HANKINS JS. 2006. High Dietary Vitamin E Affects Storage Stability of Frozen-refrigerated Trout Fillets. *Journal of Food Science*. Vol. 71(2): C91-C96.
- JUNIPER, DT; RH PHIPPS; RAMOS-MORALES E; BERTIN G. 2008. Effect of dietary supplementation with selenium-enriched yeast or sodium selenite on selenium tissue distribution and meat quality in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 86: 3100–3109.
- KALYONCU, L; YAMAN Y; AKTUMSEK A. 2010. Determination of the seasonal changes on total fatty acid composition of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* in Ivriz Dam Lake, Turkey. *African Journal of Biotechnology*; Vol. 9(30): 4783-4787.
- KARAASLAN, M; OZDEN M; VARDIN H; TURKOGLU H. 2011. Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. *LWT - Food Science and Technology*; 44; 1065-1072.

- KASHIWAGI, A; ASAHINA T; IKEBUCHI M; TANAKA Y; TAKAGI Y; NISHIO Y; KIKKAWA R; SHIGETA Y. 1994. Abnormal glutathione metabolism and increased cytotoxicity caused by H₂O₂ in human umbilical vein endothelial cells cultured in high glucose medium. *Diabetologia*. 37(3): 264-269.
- KETTERER, B; MEYER DJ. 1989. Glutathione transferases: a possible role in the detoxication and repair of DNA and lipid hydroperoxides. *Mutat. Res.* 214: 33-40.
- KETTERER, B; MEYER DJ; 1989. Glutathione transferases: A possible rol in the detoxification and repair of DNA and lipid hydroperoxides. *Mutat. Res.*; 214(1): 33-40.
- KLEIN, EA. 2009. Selenium and vitamin E: interesting biology and dashed hope. *J Natl Cancer Inst.* 101(5): 283-285.
- KIAALVANDI, S; FARAMARZI M; IRANSHANHI F; JALAE H. 2011. Effects of Different Fish Meal as Main Protein Sources no the Growth and Feeding Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *World Journal of Fish and Marine Sciences*; 3(4): 265-268.
- KIM, SG; LEE SJ. 2007. PI3K, RSK and mTOR Signal Networks for the GST Gene Regulation. *Toxicol. Sci.* 96 (2): 206-213.
- KNOWLES, SO; GRACE, ND; WURMS K; LEE J. 1999. Significance of amount and form of dietary selenium on blood, milk and casein selenium concentrations in grazing cows. *J. Dairy Sci.* 82: 429-437.
- KOENING, KM; BUCKLEY, WT; SHELFORD JA. 1991. True absorption of selenium in dairy cows: Stable isotope tracer methodology and effect of dietary copper. *Can. J. Anim. Sci.* 71: 175–183.
- KÖPRÜCÜ, K; ÖZDEMİR Y. 2002. The contents of A2, C and E vitamins in the meat of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). *F.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 14 (2): 227-232.

- KORAL, S; KÖSE S; TUFAN B. 2010. The Effect of Storage Temperature on the Chemical and Sensorial Quality of Hot Smoked Atlantic Bonito (*Sarda sarda*, Bloch, 1838) Packed in Aluminium Foil. Turk. J. Fish. Aquat. Sci. 10: 439-443.
- KÜÇÜKBAY, FZ; YAZLAK H; KARACA I; SAHIN N; TUZCU M; CAKMAK MN; SAHIN K. 2009. The effects of dietary organic or inorganic selenium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under crowding conditions. Aquaculture Nutrition; 15(6): 569-576.
- LAFORREST, L; MOULIN P; SCHWALM MS; LE JEUNNE, P; CHRETIN S; KITIO B. 2007. Use of margarine enriched in phytosterols by patients at high cardiovascular risk and treated by hypolipidemic drugs. Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases; 17: 657-665.
- LEE, HJ; JU J; PAUL S; SO JY; DE CASTRO A; SMOLAREK A; LEE, MJ; YANG CS; NEWMARK HL; SUH N. 2009. Mixed Tocopherols Prevent Mammary Tumorigenesis by Inhibiting Estrogen Action and Activating PPAR-gamma. Clin. Cancer Res. 15(12): 4242-4249.
- LEONARD, SS; HARRIS GK; SHI X. 2004. Metal-induced oxidative stress and signal transduction. Free Radic. Biol. Med. 37: 1921-1942.
- LEONARD, SW; TRABER MG. 2006. Measurement of the vitamin E metabolites, carboxyethyl hydroxychromans (CEHCs), in biological samples. Current Protocols in Toxicology. Chapter 7: Unit 7.8.1-7.8.12.
- LEONARD, SW; GUMPRICHT E; DEVEREAUX MW; SOKOL RJ; TRABER MG. 2005. Quantitation of rat liver vitamin E metabolites by LC-MS during high-dose vitamin E administration. Journal of Lipid Research. Vol 46: 1068-1075.
- LEVANDER, OA; AGER AL; BECK MA. 1995. Vitamin E and selenium: contrasting and interacting nutritional determinants of host resistance to parasitic and viral infections. Proceedings of the Nutrition Society; 54: 475-487

- LI, X; HUANG J; MAY JM. 2003. Ascorbic acid spares alpha-tocopherol and decreases lipid peroxidation in neuronal cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 6; 305(3): 656-665.
- LIM, C; KLESIUS PH. 2000. El Papel de los Minerales Traza en la Salud de los Peces. *J. of Aquatic Animal Health.* 7: 147-154.
- LIN, YH; SHIAU, SY. 2005. Dietary selenium requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture* 250: 356–363.
- LÓPEZ-VARELA, S; GONZALES-GROSS M; MARCOS A. 2002. Functional foods and the immune system: a review. *European Journal of Clinical Nutrition.* 56(3): S29–S33.
- LYONS, MP; PAPAZYAN, TT; SURAI, PF. 2007. Selenium in Food Chain and Animal Nutrition: Lessons from Nature-Review- *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* Vol. 20(7): 1135–1155.
- MÁRQUEZ, F; CABELLO AM; VILLALOBOS LB; GUEVARA G; FIGUEROA BE; VALLENILLA OM. 2006. Cambios Físicos-químicos y microbiológicos observados durante el proceso tecnológico de conserva de atún. *Zootecnia Tropical;* 24(1): 17-29.
- MAY, JM; QU, ZC; MORROW D. 1996. Interaction of ascorbate and alpha-tocopherol in resealed human erythrocyte ghost. Transmembrane electron transfer and protection from lipid peroxidation. *J Biol. Chem.* 271: 10577-10582.
- MAYNARD, LA. 1968. *Nutrición Animal: Fundamentos de la Alimentación del Ganado.* 3a Ed. Editorial Hispano Americana, México.
- MC CORD, JM. 2000. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am. J. Med.* 108: 652-659.
- MC CORD, JM; FRIDOVICH I. 1969. "Superoxide dismutase. An enzymatic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein)". *Journal of Biological Chemistry.* 244: 6049-6055.

- MC DONALD, P; EDWARDS RA; GREENHALGH JF. 1979. *Nutrición Animal*. 2a ed. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, España. p 93-115.
- MC SHEEHY, S; YANG L; STURGEON R; MESTER Z. 2005. Determination of methionine and selenomethionine in selenium-enriched yeast by species-specific isotope dilution with liquid chromatography-mass spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry detection. *Anal. Chem.* 77(1): 344-349.
- MEMBRILLO, OA; CÓRDOVA IA; HICKS GJ; OLIVARES CI; MARTÍNEZ TV; VALENCIA MJ. 2003. Peroxidación lipídica y antioxidantes en la preservación de semen. *Interciencia.* 28(12): 699-704.
- MICHAUD, DS; FESKANICH D; RIMM EB; COLDITZ GA; SPEIZER FE; WILLETT WC; GIOVANNUCCI E. 2000. Intake of specific carotenoids and risk of lung cancer in 2 prospectives US cohorts. *Am. J. Clin. Nutr.* 72: 990-997.
- MIERSCH, S; MUTUS B. 2005. Protein S–nitrosation: Biochemistry and characterization of protein thiol–NO interactions as cellular signals. *Clin. Biochem;* 38: 777-791.
- MILLER, JK; BRZEZINSKA SE. 1993. Oxidative Stress, antioxidants and animal function. *J. Dairy Sci.* 76: 2812-2823.
- MILLER, ER; PASTOR-BARRIUSO R; DALAL D; RIEMERSMA RA; APPEL LJ; GUALLAR E. 2005. Meta-Analysis: High-Dosage Vitamin E Supplementation May Increase All-Cause Mortality. *Ann. Intern. Med.* 142: 37-46.
- MILLER, LL. 2006. The effects of selenium on the physiological stress response in fish. Department of Biological Sciences University of Lethbridge. Canadá. Pp. 163.
- MILLER, LL. 2011. Species differences in selenium toxicity: linking cellular responses to population effects. A Thesis the School of Graduate Studies of the University of Lethbridge for the Degree Doctor of Philosophy. Canada.
- MISRA, S; NIYOGI S. 2009. Selenite causes cytotoxicity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes by inducing oxidative stress. *Toxicology in Vitro.* 23(7): 1249-1258.

- MORALES, G. 2004. Crecimiento y eficiencia alimentaria de trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) en jaulas bajo diferentes regímenes de alimentación. Área de Sistemas de producción Acuática, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos aires, Argentina. 1- 51.
- MORALES, GA; QUIRÓS R. 2007. Desempeño productivo de la trucha Arco Iris en jaulas bajo diferentes estrategias de alimentación. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal. Vol. 15, Núm. 4: 121-129.
- MUNTEANU, A; ZINGG JM; AZZI A. 2004. Anti-atherosclerotic effects of vitamin E-myth or reality. J. Cell. Mol. Med. 8: 59-76.
- MUSTACICH, DJ; BRUNO RS; TRABER MG. 2007. Vitamin E. Vitam Horm. 2007; 76: 1-21.
- NAVARRO-ALARCON, M; CABRERA-VIQUE, C. 2008. Selenium in food and the human body: a review. Science of The Total Environment. 400(1-3):115-141.
- NISHIKAWA, M.; M. HASHIDA and Y. TAKAKURA. 2009. Catalase delivery for inhibiting ROS mediated tissue injury and tumor metastasis. Adv. Drug Deliv. Rev. 61: 319-326.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1993. Nutrient Requirements Of Fish. National Academy Press. Washigton D. C. 3-6 pp.
- NORMA TÉCNICA PERUANA. 2008. N T P N° 204.059. TRUCHAS. Método para medir el factor de conversión alimenticia. R.0067-2008/ Indecopi-CRT. 1ª Edición. Perú.
- NYSTRÖM, T. 2005. Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence. EMBO Journal. 24: 1311-1317.
- ODIN, AP. 1997. Vitamins as antimutagens: Advantages and some possible mechanism of antimutagenic action. Mutat Res. 386 (1): 39-67.

- OĞUZHAN, P; ANGIŞ S. 2012. Effect of Salting and Packaging Treatments on Fresh Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fillets During Storage at Refrigerator Temperatures. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg. 18 (3): 443-448.
- OKUMUS, I; MAZLUM MD. 2002. Evaluation of Commercial Trout Feeds: Feed Consumption, Growth, Feed Conversion, Carcass Composition and Bio-economic Analysis. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 2: 101-107.
- OLCOTT, HS; MATTILL HA. 1931. The unsaponifiable lipids of lettuce. II Fractionation. J. Biol. Chem. 93: 59-64.
- OLDFIELD, JE. 2003. Some recollections of early swine research with selenium and vitamin E. Journal of Animal Science. Vol. 81; No. 14; Suppl. 2: E145-E148.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 1973. Los Oligoelementos en la nutrición humana. Informe técnico de expertos N° 532: 26-32. Ginebra-Suiza.
- ORTMAN, K; PEHRSON B. 1999. Effect of selenate as a feed supplement to dairy cows in comparison to selenite and selenium yeast. J. Anim. Sci. 77: 3365-3370
- OTTAVIANO F; TANG S; HANDY D; LOSCALZO J. 2009. Regulation of the extracellular antioxidant selenoprotein plasma glutathione peroxidase (GPx-3) in mammalian cells. Mol. Cell. Biochem. Vol. 327, No. 1-2: 111-126.
- ÖZOGUL, F; ÖZOGUL Y. 2000. Comparison of Methods Used for Determination of Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N) in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Turk. J. Zool. 24: 113–120.
- OZOGUL, Y; AHMAD JI; HOLE M; OZOGUL F; DEGUARA S. 2006. The effects of partial replacement of fish meal by vegetable protein sources in the diet of rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) on post mortem spoilage of fillets. Food Chem. 96: 549-561.
- PACKER, L. 1991. Protective role of Vitamin E in biological Systems. Am. J. Clin. Nutr. 53(4 Suppl): 1050s-1055s.

- PACKER, L; WEBER S; RIMBACH G. 2001. Molecular Aspects of α -Tocotrienol Antioxidant Action and Cell Signalling. Department of Molecular and Cellular Biology, University of California, Berkeley. J. Nutr. 131: 369S–373S.
- PALACE, VP; SPALLHOLZ JE; HOLM J; WAUTIER K; EVANS RE; BARON CI. 2004. Metabolism of selenomethionine by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) embryos can generate oxidative stress. Ecotoxicology and Environmental Safety. 58 (1): 17-21.
- PALACE, VP; KHAPER N; QUIN Q; SINGAL PK. 1999. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. Free Radic. Biol. Med. 26: 746-761.
- PATON, ND; CANTOR, AH; PESCATORE, AJ; FORD, MJ; SMITH, CA. 2002. The Effect of Dietary Selenium Source and Level on the Uptake of Selenium by Developing Chick Embryos. Poult. Sci. 81: 1548-1554.
- PAYNE, RL; SOUTHERN LL. 2005. Comparison of inorganic and organic selenium sources for broilers. Poult. Sci. 84: 898–902.
- PEARCE, J; HARRIS JE; DAVIES SJ. 2003. The effect of vitamin E on the serum complement activity of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Nutrition; Volume 9(5): 337-340.
- PEZZATO, LE; BARROS, MM; KLEEMANN, GK; FALCON, DR. 2010. Selenium and Vitamin E on Growth Performance and Physiological Parameters of Nile Tilapia. Universidade Estadual Paulista. Dpto de Melhoramento e Nutrição Animal. Brazil; CEP: 18618-000.
- POKNIAK, J; DE BRAVÓ L; GALLEGUILLOS C; BATTAGLIA J; CORNEJO S. 1996. Respuesta productiva de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) a dietas extruidas con alto contenido lipídico. Avances en Ciencias Veterinarias; Vol. 11; No. 2.
- POKNIAK, J; CORNEJO S; GALLEGUILLOS C; LARRAÍN C; BATTAGLIA J. 1999. Efectos de la extrusión o peletización de la dieta de engorda sobre la respuesta

- productiva de la trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) tamaño plato. Arch. Med. Vet. Vol. 31(1): 141-150.
- POKNIAK, J; CORNEJO S; BRAVO I; BATTAGLIA J. 2001. Pigmentación de trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) tipo mar alimentadas con dos niveles de astaxantina en dietas de crecimiento-engorda. Arch. Med. Vet. 33(2): 155-164.
- POKNIAK, J; MUÑOZ S; DÍAZ N; GONZÁLEZ C; DÍAZ I. 2004. Efecto de dietas con diferentes proporciones de proteínas y lípidos sobre la respuesta productiva y características del salmón del Pacífico (*Oncorhynchus kisutch*). Arch. Med. Vet. V. 36(2): 163-172.
- POSTON, HA; COMBS, GF Jr; LEIBOVITZ L. 1976. Vitamin E and selenium interrelations in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*): gross, histological and biochemical deficiency signs. The Journal of Nutrition; 106(7): 892-904.
- POTTER, LM; SHELTON, JR; PARSONS, CM. 1980. The unidentified growth factor in menhaden fish meal. Poultry Sci. 59: 128-134.
- QUILES, JL; OCHOA JJ; RAMIREZ-TORTOSA MC; LINDE J; BOMPADRE S; BATTINO M; CARBONA E; MALDONADO J; MATAIX J. 2006. Coenzyme Q concentration and total antioxidant capacity of human milk at different stages of lactation in mothers of preterm and full-term infants. Free Radical Research. 40: 199-206.
- REDDY, CC; MASSARO EJ. 1983. Biochemistry of selenium: A brief overview. Fundamental and Applied Toxicology; 3 (5): 431-436.
- REEVES, MS; HOFFMANN PR. 2009. The human selenoproteome: recent insights into functions and regulation. Cell. Mol. Life Sci. 66: 2457-2478.
- RICCIARELLI, RJ; ZINGG M; AZZI A. 2001. Vitamin E: Protective role of a Janus molecule. FASEB J. 15: 2314-2325.
- RIDER, SA; DAVIES SJ; JHA AN; CLOUGH R; SWEETMAN JW. 2010. Bioavailability of co-supplemented organic and inorganic zinc and selenium sources in a white

- fishmeal-based rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diet. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr; 94(1): 99-110.
- ROBERTS D, CK. 1989. Do human and animals require vitamin E? Human Nutrition Unit, University of Sydney. Proc. Nutr. Soc. Aust. 14.
- ROBIN, JH; REGOST C; ARZEL J; KAUSHIK SJ. 2003. Fatty acid profile of fish following a change in dietary fatty acid source: model of fatty acid composition with a dilution hypothesis. Aquaculture; Vol. 225(1-4): 283-293.
- ROJANO, B; GAVIRIA C; GIL M; SÁEZ J; SCHINELLA G; TOURNIER H. 2008. Actividad antioxidante del isoespintanol en diferentes medios. Vitae: Revista de la Facultad de Química Farmacéutica; 15: 173-181.
- ROTRUCK, JT; POPE, AL; GHANTER, HE; HOEKSTRA, WG. 1973. Selenium: Biochemical rol as a component of glutathione peroxidase. Science; 179: 558-590.
- ROWLEY, AF; KNIGHT J; LLOYD-EVANS P; HOLLAND JW; VICKERS PJ. 1995. Eicosanoids and their role in immune modulation in fish a brief overview. Fish and shellfish immunology; 5(8): 549-567.
- RUIZ-CAPILLAS, C; HORNER W. 1999. Determination of Trimethylamine Nitrogen and Total Volatile Basic Nitrogen in Fresh Fish by Flow Injection Analysis. J. Sci. Food Agric. 79: 1982-1986.
- SALIN, ML. 1988. Toxic oxygen species and protective systems of the chloroplast. Physiologia Plantarum; 72(3): 681-689.
- SARA, A; ANI AR; BARBU A. 2010. Influence of Organic Selenium on Morphological Characters and Survival of Fry and Juvenile Carp (*Cyprinus carpio*), Lausitz Variety. Animal Science and Biotechnologies; 67(1-2).
- ŞARA, A; BARBU A; ANI A; BENŢEA M. 2010. The Effects of some Additives on the Bioproductive Indices and Meat Quality of Brook Trout (*Salvelinus fontinalis M.*). Animal Science and Biotechnologies; 43 (1): 94-99.

- SARMIENTO, DF. 2011. Eficiencia productiva de trucha Arco Iris, bajo un sistema de recirculación de aguas con diferentes densidades de carga animal en la zona de Pailones, Informe del proyecto de investigación como requisito para optar al título de Ing. Agropecuario. Ecuador.
- SATHYA, A; PRABHAKAR S; SANGHA PS; GHUMAN SP. 2007. Vitamin E and Selenium Supplementation Reduces Plasma Cortisol and Oxidative Stress in Dystocia-Affected Buffaloes. *Veterinary Research Communications*; 31(7): 809-818.
- SAUL, AW. 2003. Vitamin E: A Cure in Search of Recognition. *Journal of Orthomolecular Medicine*; Vol. 18: Nos. 3 & 4; p. 205-212.
- SCHAICH, K. 2005. Lipid Oxidation: Theoretical aspects. En: Shahidi, F editors. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Sixth Edition, Six Volume Set*. John Wiley & Sons, Inc; p. 269-355.
- SCHOPFER, FJ; BAKER RS; FREEMAN, BA. 2003. NO-dependent protein nitration: a cell signaling event or an oxidative inflammatory response?. *Trends. Biochem. Sci.* 28: 646-654.
- SCHRAM, E; PEDRERO Z; CÁMARA C; HEUL; LUTEN JB. 2008. Enrichment of african catfish with functional selenium originating from garlic. *Aquaculture Research*; 39: 850-860.
- SCHRAUZER, GN. 2001. Nutritional selenium supplements: Product types, quality, and safety. *J. Am. Coll. Nutr*; 20(1): 1-4.
- SCOTT, ML; NESHEIM MC; YOUNG RJ. 1976. *Nutrition of the chicken*. 2nd Edition, Chapters 23 and 28. Ithaca, New York.
- SENTMAN, ML; GRANSTRÖM M; JACOBSON H; REAUME A; BASU S; MARKLUND SL. 2006. Phenotypes of mice lacking extracellular superoxide dismutase and copper- and zinc-containing superoxide dismutase. *J Biol Chem.* 281: 6904-6909.

- SHIMIZU, T. 2003. Health claims on functional foods: the Japanese regulations and international comparison. *Nutr. Res. Rev.* 16(2): 241-252.
- SHLIG, AA. 2009. Effect of vitamin E and selenium supplement in reducing aflatoxicosis on performance and blood parameters in broiler chicks. *Iraqi J. Vet. Sci.*, 23(I): 97-103.
- SIES, H; STAHL W. 1995. Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *Am. J. Clin. Nutr.* 62: 1315S - 1321S.
- STADTMAN, ER; STARKE-REED PE; OLIVER CN; CARNEY JM; FLOYD RA. 1992. Protein modification in aging. *EXS.* 62: 64-72.
- SUÁREZ, H; PARDO SC; CORTÉS M; RICAURTE SC; ROJANO B. 2009. Evaluación de nueva tecnología para mitigar las espinas intramusculares en filetes de cachama *Piaractus brachypomus* (Pisces: Characidae). *Rev. Fac. Nac. Agr. Medellín.* Vol. 62(1): 4989-4997.
- SUNDE, RA. 1990. Molecular biology of selenoproteins. *Annual Review Nutrition*; 10: 451-474.
- SUNDE, RA. 1980. Selenium. In: O'Dell, BL. and Sunde, RA. eds.: *Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements*, Vol. 18, pp. 493-556, New York.
- SURAI, PF. 1999. Tissue-specific changes in the activity of antioxidant enzymes during the development of the chicken embryo. *Br. Poult. Sci.* 40(3): 397-405.
- SURAI, PF. 2000. Effect of selenium and vitamin E content of the maternal diet on the antioxidant system of the yolk and the developing chick. *Brit. Poult. Sci.*, 41(2): 235-243.
- SURAI, PF. 2002. *Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction.* Nottingham University Press.
- SVOBODA, M; KOTRBÁČEK V; FICEK R; DRÁBEK J. 2009. Effect of Organic Selenium from Se-enriched Alga (*Chlorella* spp.) on Selenium Transfer from Sows to Their Progeny. *Acta Vet. Brno.* 78: 373-377.

- TALAS, ZS; ORUN I; OZDEMIR I; ERDOGAN K; ALKAN A; YILMAZ I. 2008. Antioxidative role of selenium against the toxic effect of heavy metals (Cd^{+2} , Cr^{+3}) on liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792). Fish Physiol. Biochem., 34: 217-222.
- TAMER, MS; ASHOK A; RAKESH, KS; ANTHONY JT; SURESH CS. 2005. Impact of sperm morphology on DNA damage caused by oxidative stress induced by nicotinamide adenine dinucleotide phosphate. Fertility and Sterility. 83: 95–103.
- TASHJIAN, DH; TEH SJ; SOGOMONYAN A; HUNG SS. 2006. Bioaccumulation and chronic toxicity of dietary L-selenomethionine in juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Aquat Toxicol. 79: 401-409.
- THOMPSON, HJ. 1991. Effect of deficiencies of selenium and vitamin E alone or in combination on the induction of mammary carcinogenesis by 1-methyl-1-nitrosourea. Carcinogenesis; 12(11): 2175-2179.
- THORARINSSON, R; LANDOLT ML; ELLIOTT DG; PASCHO RJ; HARDY RW. 1994. Effect of dietary vitamin E and selenium on growth, survival and the prevalence of Renibacterium salmoninarum infection in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Aquaculture; 121(4): 343-358.
- TRABER, MG; SIES H. 1996. Vitamin E in humans: demand and delivery. Annual Review of Nutrition; 16: 321-347.
- TRABER, MG. 2008. Vitamin E and K interactions -a 50- year- old problem. Nutr Rev. 66(11): 624-629.
- TRUSHENSKI, JT; KOHLER C. 2007. Influence of Stress and Dietary Natural-Source Vitamin E on Nonspecific Immunocompetence, Tissue Tocopherol Composition, and Postslaughter Fillet Oxidative Stability in Sunshine Bass. North American Journal of Aquaculture; 69: 330-339.

- TUNA. K. 2012. The Antioxidant Vitamin (A, C, E) and the Lipid Peroxidation Levels in Some Tissues of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) at Different Oxygen Levels. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 11(2): 315-324.
- TURRENS, JF; CRAPO JD; FREEMAN BA. 1984. Protection against oxygen toxicity by intravenous injections of liposome-entrapped catalase and superoxide dismutasa. J. Clin. Invest. 73: 87-95.
- UNDERWOOD, EJ. 1969. Los Minerales en la Alimentación del Ganado. 2a ed. Editorial Acribia. Brcelona, España. pp. 270-297.
- URSINI, F; MAIORINO M; ROVERI A. 1997. Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx): more than an antioxidant enzyme? Biomed Environ Sci. 97(10): 327-332.
- UTTERBACK, PL; PARSONS CM; YOON I; BUTLER J. 2005. Effect of Supplementing Selenium Yeast in Diets of Laying Hens on Egg Selenium Content. Poult. Sci. 84: 1900-1901.
- VALKO, M; RHODES CJ; MONCOL J; IZAKOVIK M; MAZUR M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress – induced cancer. Chem. Biol. Interact; 160: 1-40.
- VAN HAAFTEN, RI; HAENEN GR; VAN BLADEREN PJ; BOGAARDS JJ; EVELO CT; BAST A. 2003. Inhibition of various glutathione S-transferase isoenzymes by RRR- α -phatocopherol. Toxicol In Vitro. 17: 245-51.
- VAN HAAFTEN, R; HAENEN G; EVELO C; BAST A. 2003. Effect of vitamin E on Glutathione-Dependent Enzymes. Drug Metab. Rev. 35: 215-253.
- VASILJEVIC, T; SHAH NP. 2008. Probiotics from Metchnikoff to bioactives. International Dairy Journal; 18; 714-728.
- VENEGAS, P; CATTERINA DEL P; ORTIZ CM. 2008. Efecto de Tiempos de Retención Hidráulico de Agua, en un Sistema de Cultivo Experimental de un Paso para Trucha Arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Información tecnológica. Vol. 19 (6): 71-82.

- VENEREO, Jr. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev. Cubana Med. Milit.* 31(2): 126-133.
- VENKATESWARAN, V; FLESHNER NE; KLOTZ LH. 2004. Synergistic effect of vitamin E and selenium in human prostate cancer cell lines. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*; 7: 54–56.
- VERSCHUREN, PM. 2002. Functional foods: Scientific and global perspectives. *British Journal of Nutrition*, 88, S125–S130.
- VIDAL, DE; BAY SM; SCHLENK D. 2005. Effects of dietary selenomethionine on larval rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*; 49(1): 71-75.
- VINCHIRA, JE; MUÑOZ-RAMÍREZ AP. 2010. Selenio: Nutriente objetivo para mejorar la composición nutricional del pescado cultivado. *Rev. Med. Vet. Zoot*; 57(1): 48-64.
- WANG, C; LOVELL, RT. 1997. Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*; 152: 223-234.
- WATANABE, T; KIRON V; SATOH S. 1997. Trace Minerals in fish nutrition. *Aquaculture*. 151(1-4): 185-207.
- WEISS, WP. 2005. Selenium Sources for dairy cattle. Tri State Dairy Nutrition Conference. Ohio Agricultural Research and Development Center. The Ohio State University.
- WHANGER, PD. 2002. Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. *J. Am. Coll. Nutr.* 21: 223-232.
- WISE, DJ; TOMASSO, JR; GATLIN, DM; BAI, SC. 1993. Effects of Dietary Selenium and Vitamin E on Red Blood Cell Peroxidation, Glutathione Peroxidase Activity, and Macrophage Superoxide Anion Production in Channel Catfish. *Journal of Aquatic Animal Health*; 5(3): 177-182.

- WOLFF, SP; DEAN RT. 1987. Glucose autoxidation and protein modification. The potential role of 'autoxidative glycosylation' in diabetes. *Biochem J.* 245: 243-250.
- WOLFFRAM, S. 1999. Absorption and Metabolism of Selenium: Differences Between Inorganic and Organic Sources: Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's 15th Annual Symposium. Edited by T.P. Lyons and K. A. Jacques. pp. 547-560.
- WU, G; MORRIS, SM. 1998. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem. J.* 336: 1-17.
- YANG, GQ; WANG SZ; ZHOU RH; SUN SZ. 1983. Endemic selenium intoxication of humans in China. *Am. J. Clin. Nutr;* 37: 872-881.
- YILDIZ, M. 2004. The Study of Fillet Quality and the Growth Performance of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fed with Diets Containing Different Amounts of Vitamin E. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences;* 4: 81-86.
- YOUNG, VR; NAHAPETIAN A; JANGHORBANI M. 1982. Selenium bioavailability with reference to human nutrition *Am J Clin Nutr* 1982: 1076-1088.
- ZADÁK, Z; HYSPLER R; TICHÁ A; HRONEK M; FIKROVÁ P; RATHOUSKÁ J; HRNCIARIKOVÁ D; STETINA R. 2009. Antioxidants and vitamins in clinical conditions. *Physiol Res.* 58 (Suppl. 1): S13-17.
- ZAMBRANO, NJ; LANDINES, PM. 2011. Ingestión de lípidos oxidados: efecto sobre actividad enzimática antioxidativa en trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Rev. MVZ Córdoba.* Vol. 16(3): 2765-2777.
- ZENG, H. 2009. Selenium as an Essential Micronutrient: Roles in Cell Cycle and Apoptosis. *Molecules;* 14: 1263-1278.
- ZHENG, M; STORZ, G. 2000. Redox sensing by prokaryotic transcription factors. *Biochem Pharmacol.* 59: 1-6.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Calidad de agua del río Chía, recurso hídrico que abastece al centro piscícola "El Ingenio", año 2009.

MES	UNIDAD	SETIEMBRE	OCTUBRE	NOVIEMBRE	DICIEMBRE
Fecha		29/09/2009	20/10/2009	16/11/2009	16/12/2009
Hora	Hrs.	10,50	11,30	10,50	10,50
Nubosidad	Octavas	0/8	0/8	7/8	0/8
Viento	Escala Beaufort	0 calma	1 aire ligero	1 aire ligero	2 brisa ligera
Color aparente		incoloro	incoloro	incoloro	incoloro
Transparencia	m	total (0,55)	total (0,55)	total (0,55)	total (0,60)
Caudal	Litros/seg	1,15	1,15	1,20	1,30
Temperatura del aire	°C	12,50	12,50	15,50	12,00
Temperatura del agua	°C	10,00	10,00	11,00	11,50
Oxígeno disuelto	ppm	7.5	7,50	7,00	7,00
Anhídrido carbónico	ppm	2.00	2,00	4,00	4,00
Alcalinidad a la fenolftaleína	ppm	0.00	0,00	0,00	0,00
Alcalinidad Total (CaCO₃)	ppm	171,00	171,00	145,35	136,80
Dureza total (CaCO₃)	ppm	188,10	188,10	222,30	222,30
pH		7,50	7,50	8,00	8,00

Fuente: Bedriñaga (2011).

Anexo 2: Tabla de alimentación de la trucha Arco Iris de alimentos balanceados “Truchas La Molina”.

TIPO DE ALIMENTO	PESO UNITARIO	TALLA	PECES/Kg	TEMPERATURA DEL AGUA		
	(g)	(cm)		10 °C	12 °C	15 °C
				TASAS DE ALIMENTACION (% PESO CORPORAL)		
Alevinaje						
Inicio granulado I	1,5 - 2,5	4,0 - 5,3	540 - 130	5,38	6,6	8,51
Inicio granulado I	2,5 - 5,0	5,3 - 6,0	310 - 200	4,62	6,0	7,01
Inicio II (Pelets)	5,0 - 7,5	6,0 - 7,0	200 - 160	4,26	5,0	5,95
Inicio II (Pelets)	7,5 - 10,0	7,0 - 8,4	160 - 110	3,65	4,7	5,89
Inicio II (Pelets)	10,0 - 15,0	8,4 - 9,5	110 - 76	3,60	4,2	4,74
Inicio II (Pelets)	15,0 - 20,0	9,5 - 10,5	76 - 70	3,01	3,8	4,32
Juveniles						
Crecimiento I	20 - 30	10,5 - 13,0	70 - 50	2,88	3,6	4,13
Crecimiento I	30 - 40	13,0 - 14,2	50 - 30	2,27	3,0	3,71
Crecimiento I	40 - 50	14,2 - 15,2	30 - 26	2,16	2,8	3,36
Crecimiento II	50 - 60	15,2 - 16,1	26 - 20	2,05	2,6	2,88
Crecimiento II	60 - 80	16,1 - 18,0	20 - 15	2,00	2,4	2,82
Adultos						
Acabado Simple	80 - 100	18,0 - 20,0	15 - 13	1,98	2,3	2,62
Acabado Simple	100 - 125	20,0 - 21,5	13,0 - 10,0	1,92	2,2	2,59
Acabado Simple	125 - 150	21,5 - 22,1	10 - 8,0	1,79	2,0	2,53
Acabado Simple	150 - 175	22,1 - 23,5	8,0 - 7,0	1,70	1,9	2,40
Acabado pigmentado	175 - 200	23,5 - 25,0	7,0 - 5,0	1,63	1,8	2,34
Acabado pigmentado	200 - 250	25,0 - 26,0	5,0 - 4,0	1,57	1,7	2,27
Acabado pigmentado	250 - 280	26,0 - 28,0	4,0 - 3,0	1,50	1,6	2,17

Fuente: UNALM.

Anexo 3: Ganancia de peso de las truchas en estudio.

Trat.	Inicio de experimento: 05/11/09			Término de experimento: 15/12/09				
	Repet.	N° de Truchas recibidas	Peso \bar{X} : (Kg)	Muestra de peces (Unid.)	Peso de muestra (g)	Peso de 200 unid. (Kg)	▲ * peso 200 unid (Kg)	▲ * peso en (%)
T ₁	r1	200	32,28	25	5255,48	42,04	9,76	30,23
T ₁	r2	200	32,84	25	5624,22	44,99	12,15	36,99
T ₁	r3	200	33,11	25	5753,09	46,02	12,91	38,99
T ₂	r1	200	32,98	25	5420,52	43,36	10,38	31,47
T ₂	r2	200	32,15	25	5167,08	41,33	9,18	28,55
T ₂	r3	200	32,52	25	5292,58	42,34	9,82	30,19
T ₃	r1	200	32,54	25	5296,25	42,37	9,83	30,21
T ₃	r2	200	32,66	25	5916,48	47,33	14,67	44,92
T ₃	r3	200	33,02	25	6117,12	48,93	15,91	48,18
T ₄	r1	200	33,08	25	5918,72	47,35	14,27	43,14
T ₄	r2	200	32,54	25	5680,25	45,44	12,90	39,54
T ₄	r3	200	32,96	25	5723,91	45,79	12,83	38,92
T ₅	r1	200	32,98	25	5442,50	43,54	10,56	32,02
T ₅	r2	200	32,34	25	5626,23	45,00	12,66	39,14
T ₅	r3	200	32,87	25	5552,02	44,42	11,55	35,14
T ₆	r1	200	33,16	25	6086,50	48,69	15,53	46,83
T ₆	r2	200	32,94	25	5708,25	45,66	12,72	38,61
T ₆	r3	200	33,45	25	6208,25	49,66	16,21	48,46
T ₇	r1	200	32,99	25	6316,50	50,53	17,54	53,17
T ₇	r2	200	32,88	25	6175,50	49,40	16,52	50,24
T ₇	r3	200	33,02	25	6458,25	51,66	18,64	56,45

Anexo 4: Análisis de Varianza, prueba de Tukey y de Dunnett de la ganancia de peso.

The SAS System -The ANOVA Procedure

Dependent Variable: y

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	124,3634476	15,5454310	5,94	0,0032
Error	12	31,4276667	2,6189722		
Corrected Total	20	155,7911143			

R-Square 0,798270 Coeff Var 12,32137 Root MSE 1,618324 y Mean 13,13429

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	6	117,9336476	19,6556079	7,51	0,0016
rep	2	6,4298000	3,2149000	1,23	0,3273

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for y

Means with the same letter are not significantly different.

Grouping	Mean	N	trat
A	17,567	3	t7
B A	14,820	3	t6
B A C	13,470	3	t3
B A C	13,333	3	t4
B C	11,590	3	t5
B C	11,607	3	t1
C	9,793	3	t2

Dunnett's t Tests for y

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error for comparisons of all Treatments against a control.

Alpha	0,05
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	2,618972
Critical Value of Dunnett's t	2,97685
Minimum Significant Difference	3,9335

Comparisons significant at the 0,05 level are indicated by ***.

trat Comparison	Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits
t7 - t1	6,200	2,267 10,133 ***
t6 - t1	3,453	-0,480 7,387
t3 - t1	2,103	-1,830 6,037
t4 - t1	1,967	-1,967 5,900
t5 - t1	0,223	-3,710 4,157
t2 - t1	-1,573	-5,507 2,360

Anexo 5: Conversión alimenticia de las truchas en estudio.

Trat	Inicio de experimento: 05/11/09			Término de experimento: 15/12/09		
	Rep	N° de peces	Alimento ingerido por 200 truchas (Kg)	Biomasa de 200 unid (Kg)	Incremento de peso de 200 truchas (Kg)	C. A. (Kg alimento / Kg de músculo)
T ₁	r1	200	21,120	42,04	9,76	2,16 : 1
T ₁	r2	200	21,120	44,99	12,15	1,74 : 1
T ₁	r3	200	21,120	46,02	12,91	1,63 : 1
T ₂	r1	200	21,120	43,36	10,38	2,03 : 1
T ₂	r2	200	21,120	41,33	9,18	2,30 : 1
T ₂	r3	200	21,120	42,34	9,82	2,15 : 1
T ₃	r1	200	21,120	42,37	9,83	2,15 : 1
T ₃	r2	200	21,120	47,33	14,67	1,44 : 1
T ₃	r3	200	21,120	48,93	15,91	1,33 : 1
T ₄	r1	200	21,120	47,35	14,27	1,48 : 1
T ₄	r2	200	21,120	45,44	12,90	1,64 : 1
T ₄	r3	200	21,120	45,79	12,83	1,65 : 1
T ₅	r1	200	21,120	43,54	10,56	2,00 : 1
T ₅	r2	200	21,120	45,00	12,66	1,67 : 1
T ₅	r3	200	21,120	44,42	11,55	1,83 : 1
T ₆	r1	200	21,120	48,69	15,53	1,36 : 1
T ₆	r2	200	21,120	45,66	12,72	1,66 : 1
T ₆	r3	200	21,120	49,66	16,21	1,30 : 1
T ₇	r1	200	21,120	50,53	17,54	1,20 : 1
T ₇	r2	200	21,120	49,40	16,52	1,28 : 1
T ₇	r3	200	21,120	51,66	18,64	1,13 : 1

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 6: Análisis de Varianza, prueba de Tukey y de Dunnett de la conversión alimenticia.

The SAS System - The ANOVA Procedure
Dependent Variable: y

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	1,85642857	0,23205357	4,52	0,0098
Error	12	0,61540000	0,05128333		
Corrected Total	20	2,47182857			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	y Mean
0,751035	13,53721	0,226458	1,672857

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	6	1,72422857	0,28737143	5,60	0,0056
rep	2	0,13220000	0,06610000	1,29	0,3111

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for y

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	trat
A	2,1600	3	t2
B A	1,8433	3	t1
B A	1,8333	3	t5
B A	1,6400	3	t3
B A	1,5900	3	t4
B	1,4400	3	t6
B	1,2033	3	t7

Dunnett's t Tests for y

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error for comparisons of all Treatments against a control.

Alpha	0,05
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0,051283
Critical Value of Dunnett's t	2,97685
Minimum Significant Difference	0,5504

Comparisons significant at the 0,05 level are indicated by ***.

trat	Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits
Comparison t2 - t1	0,3167	-0,2338 0,8671
t5 - t1	-0,0100	-0,5604 0,5404
t3 - t1	-0,2033	-0,7538 0,3471
t4 - t1	-0,2533	-0,8038 0,2971
t6 - t1	-0,4033	-0,9538 0,1471
t7 - t1	-0,6400	-1,1904 -0,0896 ***

Anexo 7: PER y mortalidad de las truchas en estudio.

Trat	Inicio de experimento: 05/11/09			Término de experimento: 15/12/09			
	Rep	Nº de peces	Ganancia de peso de 200 truchas: (g)	Proteína Consumida por c/repet.* (g)	Muerte de peces: (unidades)	Mortalidad (%)	PER (Ganancia peso / Prot. consumida)
T ₁	r1	200	9760	8139,65	05		1,20
T ₁	r2	200	12150	8139,65	03		1,49
T ₁	r3	200	12910	8139,65	04 / 12	T ₁ = 0,29	1,58
T ₂	r1	200	10380	8139,65	06		1,27
T ₂	r2	200	9180	8139,65	02		1,13
T ₂	r3	200	9820	8139,65	05 / 13	T ₂ = 0,31	1,21
T ₃	r1	200	9830	8139,65	05		1,21
T ₃	r2	200	14670	8139,65	04		1,80
T ₃	r3	200	15910	8139,65	03 / 12	T ₃ = 0,29	1,95
T ₄	r1	200	14270	8139,65	04		1,75
T ₄	r2	200	12900	8139,65	04		1,58
T ₄	r3	200	12830	8139,65	05 / 13	T ₄ = 0,31	1,57
T ₅	r1	200	10560	8139,65	01		1,30
T ₅	r2	200	12660	8139,65	04		1,55
T ₅	r3	200	11550	8139,65	05 / 10	T ₅ = 0,24	1,42
T ₆	r1	200	15530	8139,65	04		1,91
T ₆	r2	200	12720	8139,65	05		1,56
T ₆	r3	200	16210	8139,65	02 / 11	T ₆ = 0,26	1,99
T ₇	r1	200	17540	8139,65	03		2,15
T ₇	r2	200	16520	8139,65	05		2,03
T ₇	r3	200	18640	8139,65	04 / 12	T ₇ = 0,29	2,29
			Mortalidad total :		83	1,98 %	

Fuente: Elaboración propia.

***Análisis realizado en LENA (Prot. 38,54 %): 21120 g x 38,54 g/100 g = 8139,65 g**

Anexo 8: Análisis de Varianza, prueba de Tukey y de Dunnett de la relación de eficiencia proteica (PER).

The SAS System - The ANOVA Procedure

Dependent Variable: y

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	1.85324762	0.23165595	5.89	0.0033
Error	12	0,47224762	0,03935397		
Corrected Total	20	2,32549524			

R-Square 0,796926 Coeff Var 12,27444 Root MSE 0,198378 y Mean 1,616190

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	6	1,74049524	0,29008254	7,37	0,0018
rep	2	0,11275238	0,05637619	1,43	0,2767

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for y

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	trat
A	2,1567	3	t7
B A	1,8200	3	t6
B A C	1,6533	3	t3
B A C	1,6333	3	t4
B C	1,4233	3	t1
B C	1,4233	3	t5
C	1,2033	3	t2

Dunnett's t Tests for y

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error for comparisons of all Treatments against a control.

Alpha 0,05
 Error Degrees of Freedom 12
 Error Mean Square 0,039354
 Critical Value of Dunnett's t 2,97685
 Minimum Significant Difference 0,4822

Comparisons significant at the 0,05 level are indicated by ***.

trat Comparison	Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits	
t7 - t1	0,7333	0,2512	1,2155 ***
t6 - t1	0,3967	-0,0855	0,8788
t3 - t1	0,2300	-0,2522	0,7122
t4 - t1	0,2100	-0,2722	0,6922
t5 - t1	0,0000	-0,4822	0,4822
t2 - t1	-0,2200	-0,7022	0,2622

Anexo 9: Análisis de Varianza, prueba de Tukey y de Dunnett de la mortalidad.

The SAS System - The ANOVA Procedure

Dependent Variable: y

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	2,38095238	0,29761905	0,12	0,9968
Error	12	28,57142857	2,38095238		
Corrected Total	20	30,95238095			

R-Square 0,076923 Coeff Var 39,04061 Root MSE 1,543033 y Mean 3,952381

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	6	2,28571429	0,38095238	0,16	0,9829
rep	2	0,09523810	0,04761905	0,02	0,9802

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for y

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II,

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	trat
A	4,333	3	t2
A	4,333	3	t4
A	4,000	3	t1
A	4,000	3	t3
A	4,000	3	t7
A	3,667	3	t6
A	3,333	3	t5

Dunnett's t Tests for y

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error for comparisons of all treatments against a control.

Alpha 0,05
 Error Degrees of Freedom 12
 Error Mean Square 2,380952
 Critical Value of Dunnett's t 2,97685
 Minimum Significant Difference 3,7505

Comparisons significant at the 0,05 level are indicated by ***.

trat	Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits
t2 - t1	0,333	-3,417 4,084
t4 - t1	0,333	-3,417 4,084
t3 - t1	0,000	-3,750 3,750
t7 - t1	0,000	-3,750 3,750
t6 - t1	-0,333	-4,084 3,417
t5 - t1	-0,667	-4,417 3,084

Anexo 10: Análisis de Varianza, prueba de Tukey y Dunnett de la vitamina E en el musculo de la trucha.

The SAS System - The ANOVA Procedure

Dependent Variable: y

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	1228903,048	153612,881	3,26	0,0323
Error	12	565786,190	47148,849		
Corrected Total	20	1794689,238			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	y Mean
	0,684744	15,48983	217,1379	1401,810

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	6	1211737,238	201956,206	4,28	0,0154
rep	2	17165,810	8582,905	0,18	0,8358

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for y

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	trat
A	1854,3	3	t5
B A	1519,3	3	t6
B A	1470,3	3	t4
B A	1442,7	3	t1
B A	1270,7	3	t2
B	1203,3	3	t7
B	1052,0	3	t3

Dunnett's t Tests for y

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error for comparisons of all treatments against a control.

Alpha	0,05
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	47269,83
Critical Value of Dunnett's t	2,97685
Minimum Significant Difference	528,45

Comparisons significant at the 0,05 level are indicated by ***.

Comparison	Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits
t5 - t1	411,7	-116,1 939,4
t6 - t1	76,7	-451,1 604,4
t4 - t1	27,7	-500,1 555,4
t2 - t1	-172,0	-699,8 355,8
t7 - t1	-239,3	-767,1 288,4
t3 - t1	-390,7	-918,4 137,1

ANEXO 11: Análisis de vitamina E en el músculo de la trucha Arco Iris (i1).



INFORME DE ENSAYO N° 3-00117/10

Pág. 1 / 1

Solicitante : ROBLES APARICIO DE RODRIGUEZ, ZENOBIA ELENA
 Domicilio Legal : Cal. Las Dalias Nro. 234 Urb. Los Jazmines – San Juan de Lurigancho
 Producto Declarado : TRUCHA ARCO IRIS
 Cantidad de muestra para ensayo : 15 muestras x 300 g. aprox. c/u
 Forma de Presentación : En bolsas de polietileno, cerradas y congeladas
 Identificación de la muestra : Según se Indica
 Fecha de Recepción : 2010 – 01 – 11
 Fecha de Inicio del ensayo : 2010 – 01 – 14
 Fecha de Término del ensayo : 2010 – 01 – 14
 Ensayo realizado en : Laboratorio de Físico Química
 Identificado con : H/S 090313273 (00274)
 Muestra proporcionada por el solicitante

Validez del documento : Este Documento tiene validez solo para la muestra descrita, por un periodo de 30 días a partir de la fecha de emisión del documento.

Muestras	Ensayo / Resultados
	Vitamina E (µg acetato alfa-tocoferol/100g)
M-2: 2A - 1	1126
M-2: 2B - 1	1462
M-3: 3A - 1	1011
M-3: 3B - 1	1060
M-4: 4A - 1	1592
M-4: 4C - 1	1575
M-5: 5A - 1	2253
M-5: 5C - 1	1503
M-6: 6A - 1	1582
M-6: 6C - 1	1332
M-7: 7B - 1	1031
M-7: 7C - 1	1451
M-1 – CONTROL: A	1404
M-1 – CONTROL: B	1519
M-1 – CONTROL: C	1405

Método:

Vitamina E: AACC Methos 86-06.10 th Edition 2000 (Including the 2002 supplement) Vitamin A and Vitamine E in Foods by HPLC

OBSERVACIONES

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de CERPER S.A.
 Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Callao, 16 de Enero del 2010
 DV


 ROSA ELISA PALOMINO LOO
 INGENIERA QUÍMICA
 Reg. CIP. N° 40302

CALLAO:
 Av. Santa Rosa 601 - La Perla
 Telf.: 319-9000
 Fax: 420-4129
 Apartado Postal 271 - Callao (4)
 E-mail: info@cerper.com
 Web http://www.cerper.com
 GL-IN-EN

OF. SAN ISIDRO:
 Av. Javier Prado Este
 397 Of. 52
 Telfs.: 422-6656 / 440-2349
 Telefax: 422-6336
 E-mail: cerperai@terra.com.pe

PAITA
 Plaza de Armas 220
 Telefax: 073-611438 / 073-611554
 073-611276
 E-mail: cerperp@terra.com.pe

ILO
 Mariano Lino Urquieta 741
 Telefax: 053-782181
 E-mail: cerperi@terra.com.pe

CHIMBOTE:
 Av. José Carlos Mariategui s/n
 Centro Cívico Urb. Buenos Aires
 Telf.: 043-311048
 Fax: 043-311774
 E-mail: cerperh@terra.com.pe

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ANEXO 12: Análisis de vitamina E en el músculo de la trucha Arco Iris (i2).



INFORME DE ENSAYO N° 3-09888/09

Pág. 2 / 2

Identificación de las muestras	Ensayo / Resultados
	Vitamina E (µg/100g)
M - 2: 2 D - 1	1224
M - 3: 3 D - 1	1085
M - 4: 4 D - 1	1244
M - 5: 5 D - 1	1805
M - 6: 6 D - 1	1644
M - 7: 7 D - 1	1128

Métodos:

Selenio: AOAC - 986.15, c9, 18 th Ed. 2005. Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, and Zinc in Human and Pet Foods. Multielement method.
Vitamina E: AACC Method 86-06.10 th Edition 2000 (Including the 2002 Supplement) Vitamin A and Vitamin E in foods by HPLC.

OBSERVACIONES

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de CERPER S.A.
Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Callao, 09 de Enero del 2010
GA


ROSA ELISA PALOMINO LOO
INGENIERA QUIMICA
Reg. CIP. N° 49302

CALLAO:
Av. Santa Rosa 601 - La Perla
Telf.: 319-9000
Fax: 420-4128
Apartado Postal 271 - Callao (4)
E-mail: info@cerper.com
Web http: //www.cerper.com
CI - IN - EN

OF. SAN ISIDRO:
Av. Javier Prado Este
897 Of. 52
Telfs.: 422-6856 / 440-2349
Telefax: 422-6336
E-mail: cerpersi@terra.com.pe

PAITA:
Plaza de Armas 220
Telefax: 073-611438 / 073-611554
073-611276
E-mail: cerperp@terra.com.pe

ILO:
Mariano Lino Urquieta 741
Telefax: 053-782181
E-mail: cerperi@terra.com.pe

CHIMBOTE:
Av. José Carlos Mariategui s/n
Centro Cívico Urb. Buenos Aire
Telf.: 043-311048
Fax: 043-311774
E-mail: cerperh@terra.com.pe

ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY POR LA AUTORIDAD COMPETENTE

Anexo 13: Análisis de Varianza, prueba de Tukey y Dunnett del selenio en el musculo de la trucha.

The SAS System - The ANOVA Procedure
Dependent Variable: y

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	0,03893333	0,00486667	2,30	0,0936
Error	12	0,02539048	0,00211587		
Corrected Total	20	0,06432381			

R-Square 0,605271 Coeff Var 26,75820 Root MSE 0,045999 y Mean 0,171905

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	6	0,03272381	0,00545397	2,58	0,0768
rep	2	0,00620952	0,00310476	1,47	0,2691

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for y

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II.

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	trat
A	0,23000	3	t7
A	0,22333	3	t4
A	0,16667	3	t3
A	0,16667	3	t6
A	0,15667	3	t5
A	0,15333	3	t2
A	0,10667	3	t1

Dunnett's t Tests for y

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error for comparisons of all treatments against a control.

Alpha 0,05
 Error Degrees of Freedom 12
 Error Mean Square 0,002116
 Critical Value of Dunnett's t 2,97685
 Minimum Significant Difference 0,1118

Comparisons significant at the 0,05 level are indicated by ***.

trat	Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits	
t7 - t1	0,12333	0,01153	0,23514 ***
t4 - t1	0,11667	0,00486	0,22847 ***
t3 - t1	0,06000	-0,05180	0,17180
t6 - t1	0,06000	-0,05180	0,17180
t5 - t1	0,05000	-0,06180	0,16180
t2 - t1	0,04667	-0,06514	0,15847

Anexo 14: Análisis del selenio en el músculo de la trucha Arco Iris (i1).



INFORME DE ENSAYO N° 3-09888/09

Pág. 1/2

Solicitante : ROBLES APARICIO DE RODRIGUEZ, ZENOBIA ELENA
 Domicilio Legal : Calle Las Dalias N° 234 – Urb. Los Jazmines – san Juan de Lurigancho
 Producto Declarado : TRUCHA ARCO IRIS
 Cantidad de muestra para ensayo : 25 muestras x 300 g. aprox. c/u
 Forma de Presentación : En bolsas de polietileno, cerradas y congeladas.
 Identificación de la muestra : Según se indica
 Fecha de Recepción : 2009 – 12 – 29
 Fecha de Inicio del ensayo : 2009 – 12 – 29
 Fecha de Término del ensayo : 2010 – 01 – 06
 Ensayo realizado en : Laboratorio de Físico Química
 Identificado con : H/S 090313273 (18161)
 Validez del documento : Este documento tiene validez para la muestra descrita, por un periodo de 03 meses a partir de la fecha de emisión del Documento

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

Identificación de las muestras	Ensayo / Resultados
	Selenio (mg/kg)
M - 1: CONTROL	0,13
M - 2: 2 A - 1	0,06
M - 2: 2 B - 1	0,21
M - 2: 2 C - 1	0,19
M - 3: 3 A - 1	0,20
M - 3: 3 B - 1	0,18
M - 3: 3 C - 1	0,12
M - 4: 4 A - 1	0,24
M - 4: 4 B - 1	0,25
M - 4: 4 C - 1	0,18
M - 5: 5 A - 1	0,10
M - 5: 5 B - 1	0,20
M - 5: 5 C - 1	0,17
M - 6: 6 A - 1	0,13
M - 6: 6 B - 1	0,22
M - 6: 6 C - 1	0,15
M - 7: 7 A - 1	0,23
M - 7: 7 B - 1	0,24
M - 7: 7 C - 1	0,22



CALLAO:
 Av. Santa Rosa 601 - La Perla
 Telf.: 319-9000
 Fax: 420-4128
 Apartado Postal 271 - Callao (4)
 E-mail: info@cerper.com
 Web http://www.cerper.com
GL-IN-EN

OF. SAN ISIDRO:
 Av. Javier Prado Este
 897 Of. 52
 Telfs.: 422-8656 / 440-2349
 Telefax: 422-8336
 E-mail: cerpersi@terra.com.pe

PAITA:
 Plaza de Armas 220
 Telefax: 073-611438 / 073-611554
 073-611276
 E-mail: cerperp@terra.com.pe

ILO:
 Mariano Lino Urquieta 741
 Telefax: 053-782181
 E-mail: cerperi@terra.com.pe

CHIMBOTE:
 Av. José Carlos Mariategui s/n
 Centro Cívico Urb. Buenos Aires
 Telf.: 043-311048
 Fax: 043-311774
 E-mail: cerperch@terra.com.pe

Anexo 15: Análisis del selenio en el músculo de la trucha Arco Iris (i2).



INFORME DE ENSAYO N° 3-00056/10

Pág. 1/1

Solicitante : ROBLES APARICIO DE RODRIGUEZ, ZENOBIA ELENA
 Domicilio Legal : Calle Las Dalias N° 234 – Urb. Los Jazmines – san Juan de Lurigancho
 Producto Declarado : TRUCHA ARCO IRIS
 Cantidad de muestra para ensayo : 02 muestras x 300 g. aprox. c/u
 Forma de Presentación : En bolsas de polietileno, cerradas y congeladas.
 Identificación de la muestra : Según se indica
 Fecha de Recepción : 2010 – 01 – 08
 Fecha de Inicio del ensayo : 2010 – 01 – 08
 Fecha de Término del ensayo : 2010 – 01 – 11
 Ensayo realizado en : Laboratorio de Físico Química
 Identificado con : H/S 090313273 (00185)
 Validez del documento : Este documento tiene validez para la muestra descrita, por un periodo de 03 meses a partir de la fecha de emisión del Documento

Identificación de las muestras	Ensayo / Resultados
	Selenio (mg/kg)
M – 1: CONTROL 2	0,07
M – 1: CONTROL 3	0,12


Método:

Selenio: AOAC – 986.15, c9, 18 th Ed. 2005. Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, and Zinc in Human and Pet Foods. Multi-element method.

OBSERVACIONES

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de CERPER S.A.
 Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Callao, 13 de Enero del 2010
 bgg


 ROSA ELISA PALOMINO LOO
 INGENIERA QUIMICA
 Reg. CIP. N° 40302

CALLAO:
 Av. Santa Rosa 601 - La Perla
 Telf.: 319-3000
 Fax: 420-4128
 Apartado Postal 271 - Callao (4)
 E-mail: info@cerper.com
 Web http://www.cerper.com
 GL-IN-EN

OF. SAN ISIDRO:
 Av. Javier Prado Este
 897 Of. 52
 Telfs.: 422-6656 / 440-2349
 Telefax: 422-6336
 E-mail: cerpers@terra.com.pe

PAITA
 Plaza de Armas 220
 Telefax: 073-611438 / 073-611554
 073-611276
 E-mail: cerperp@terra.com.pe

ILO
 Mariano Lino Urquieta 741
 Telefax: 053-782181
 E-mail: cerperi@terra.com.pe

CHIMBOTE:
 Av. José Carlos Mariátegui s/n
 Centro Cívico Urb. Buenos Aires
 Telf.: 043-311048
 Fax: 043-311774
 E-mail: cerperch@terra.com.pe

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUTE DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

Anexo 16: Análisis de Varianza, prueba de Tukey y de Dunnett del contenido de Malondialdehído.

The SAS System - The ANOVA Procedure

Dependent Variable: y

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	1,53799048	0,19224881	0,64	0,7351
Error	12	3,62939048	0,30244921		
Corrected Total	20	5,16738095			

R-Square 0,297634 Coeff Var 47,44877 Root MSE 0,549954 y Mean 1,159048

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	6	1,29478095	0,21579683	0,71	0,6460
rep	2	0,24320952	0,12160476	0,40	0,6776

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for y

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II.

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	trat
A	1,4933	3	t5
A	1,4367	3	t2
A	1,3233	3	t4
A	1,1600	3	t1
A	0,9633	3	t7
A	0,9333	3	t3
A	0,8033	3	t6

Dunnett's t Tests for y

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error for comparisons of all treatments against a control.

Alpha 0,05
 Error Degrees of Freedom 12
 Error Mean Square 0,302449
 Critical Value of Dunnett's t 2,97685
 Minimum Significant Difference 1,3367

Comparisons significant at the 0,05 level are indicated by ***.

trat	Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits
t5 - t1	0,3333	-1,0034 1,6700
t2 - t1	0,2767	-1,0600 1,6134
t4 - t1	0,1633	-1,1734 1,5000
t7 - t1	-0,1967	-1,5334 1,1400
t3 - t1	-0,2267	-1,5634 1,1100
t6 - t1	-0,3567	-1,6934 0,9800