

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

BEIJANE BOTELHO DE SOUZA

**PRODUÇÃO DE OVOS NUTRACÊUTICOS A PARTIR DA
SUPLEMENTAÇÃO DE CODORNAS JAPONESAS
COM α -TOCOFEROL E SELÊNIO ORGÂNICO**

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

2019

BEIJIANE BOTELHO DE SOUZA

**PRODUÇÃO DE OVOS NUTRACÊUTICOS A PARTIR DA
SUPLEMENTAÇÃO DE CODORNAS JAPONESAS
COM α -TOCOFEROL E SELÊNIO ORGÂNICO**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Sanidade Animal, na área de Concentração, Produção, Reprodução e Saúde Animal.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Siqueira Glória

Coorientador: Prof. Dr. Adolpho Marlon Antoniol de Moura

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

2019

BEIJANE BOTELHO DE SOUZA

**PRODUÇÃO DE OVOS NUTRACÊUTICOS A PARTIR DA
SUPLEMENTAÇÃO DE CODORNAS JAPONESAS
COM α -TOCOFEROL E SELÊNIO ORGÂNICO**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Sanidade Animal, na área de Concentração, Produção, Reprodução e Saúde Animal.

Aprovada em 01 de Agosto de 2019

Comissão Organizadora:

Prof. Dra. Renata Soares Tavares da Silva - UNIFESO

Prof. Dr. Jonas Henrique de Souza Motta - IFES

Prof. Dr. Adolpho Marlon Antoniol de Moura - UENF
(Coorientador)

Prof. Dr. Leonardo Siqueira Glória - UENF
(Orientador)

EPIGRAFE

“Eu não sei o que quero ser, mas sei muito bem o que não quero me tornar.”

Friedrich Nietzsche

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus que me capacitou e continua a capacitar cada dia para os momentos que sucedem neste caminhar;

A Carina, Dani, e Sandy, amigas que o Nupem (núcleo em Ecologia e Desenvolvimento Sócio-Ambiental de Macaé - UFRJ) me deu, na verdade são muito mais que amigas, uma extensão da família que construí no estado do Rio de Janeiro;

A Jovana, secretária do programa de pós-graduação em Ciência Animal, que desde nossa chegada a Campos dos Goytacazes - RJ sempre se preocupou e teve atenção, muito obrigada por tudo!

Ao professor Leonardo Glória, que aos 45:00 minutos do segundo tempo, me estendeu a mão e tornou possível a conclusão deste mestrado. Ao professor Adolpho de Moura que também acreditou na ideia e compartilhou sua pesquisa conosco. A Jacyara, Antônio, Gabriel, Kamila, Bruna, Flavia e Caio que juntos com o professor Leonardo me receberam e me fizeram sentir parte deste grupo, desta família, que briga,brinca e implica, mas se ama acima de tudo. Muito obrigada, vocês são incríveis!

A Adriann e Nathan, acredito que por estarmos juntos conseguimos manter nossa sanidade mental mesmo com tantos imprevistos!

A Camila Cordeiro e Bruna Rohem, meu muito obrigada de coração pelas incontáveis risadas que dei e continuo a dar!

Não falei de muitas outras pessoas que tive o prazer de conhecer nestes dois anos, mas que estarão para sempre guardadas em meu coração, meu muitíssimo obrigada!

Por último e extremamente importante, à minha família:

Tia Sandra e Tio Jackson muito obrigada, como sempre cuidando e me guardando por onde vou, amo vocês!

Mãe e Pai obrigada por sempre priorizarem minha educação e me permitirem sair de casa para viver o sonho da pós-graduação;

Mãe meu agradecimento é particular à senhora, pois foi a senhora que me formou como pessoa, como mulher, é meu exemplo e por

quem tento ser melhor a cada dia. Obrigada por insistir que eu fosse fazer aquela prova de vestibular, por acreditar quando resolvi sair do ninho e vir fazer mestrado tão longe de casa, por segurar as pontas quando as coisas ficaram difíceis por aqui e por continuar apoiando não apenas os meus sonhos, mas dos meus irmãos também!

A senhora é incrível, te amo hoje e sempre!

SUMÁRIO

RESUMO.....	2
ABSTRACT.....	3
CAPÍTULO I	4
1. INTRODUÇÃO.....	4
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	6
2.1 As Codornas.....	6
2.2 Qualidade do ovo.....	7
2.3 Enriquecimento do ovo com tocoferol.....	8
2.4 Vitamina E.....	8
2.5 Papel antioxidante da vitamina E.....	9
2.6 Selênio.....	9
2.7 Papel antioxidante do selênio.....	10
2.8 Selênio orgânico e inorgânico na alimentação de aves.....	11
2.9 Interação selênio/vitamina E.....	11
2.10 Importância para a saúde humana.....	13
3.OBJETIVO.....	15
3.1 Objetivo Geral.....	15
3.2 Objetivo Específico.....	15
4. REFERÊNCIAS.....	16
CAPÍTULO II.....	21
<i>Enrichment of japanese quail eggs with α-tocopherol and organic selenium.....</i>	21
<i>Abstract.....</i>	<i>22</i>
<i>Introduction.....</i>	<i>23</i>
<i>Material and Methods.....</i>	<i>25</i>
<i>Results and Discussion.....</i>	<i>29</i>
<i>Conclusion.....</i>	<i>31</i>
<i>Acknowledgments.....</i>	<i>31</i>
<i>References.....</i>	<i>32</i>

RESUMO

A avicultura brasileira se consolidou como um segmento estimulado por políticas públicas a partir da década de 70, quando se inicia a exportação da carne de frango. Inserida na avicultura a coturnicultura destaca-se por apresentar rápido desenvolvimento animal e desenvolvimento de tecnologias de produção deixando de ser vista como atividade de subsistência para se tornar atividade altamente tecnificada e lucrativa. O ovo é o segundo alimento mais completo e consumido na alimentação humana, e tem sido utilizado como um importante veículo de compostos nutracêuticos (bioativos), através da suplementação da ração da ave, como as vitaminas e minerais. Esses nutrientes apresentam funções específicas na prevenção e tratamento de patologias, como, arteriosclerose, inflamações, diabetes e câncer. A vitamina E (tocoferóis) e selênio, são dois antioxidantes metabólicos de importância vital com papel indispensável na inibição da peroxidação lipídica, uma via importante que leva à formação de radicais livres no meio celular. Com a estratégia de enriquecimento dos alimentos de origem animal, como carne, leite e ovos, a partir da suplementação alimentar de animais, pode-se aumentar o consumo dos micronutrientes presentes no produto final. Portanto, o presente estudo teve por objetivo avaliar os efeitos nutricionais do selênio orgânico e da vitamina E adicionados à ração animal, para duas proteções antioxidantes em codornas japonesas. Foram utilizadas codornas japonesas, com delineamento experimental em DIC contendo sete tratamentos, seis repetições com seis aves. Além disso, o tratamento consistiu na adição de 200 UI de vitamina E / kg de ração (acetato de DL- α -tocoferil 99%) e doses crescentes de selênio orgânico (Alltec's Selplex®) 0,1 a 0,4 ppm (mg / kg) de ração. Os resultados da presente investigação revelaram que suplemento de 200 mg de vitamina E e 0,30 ppm de selênio orgânico, não mostram nenhum efeito sobre o desempenho das aves, mas a qualidade da prateleira de ovos e o prazo de validade melhoram.

Palavras-chave: Antioxidante; Qualidade do ovo; Vitamina; Mineral.

ABSTRACT

Brazilian poultry industry consolidated as a segment stimulated by public policies from the 70's, when chicken meat exports began. In poultry industry, quail production stands out for presenting rapid animal development and development of production technologies, it is no longer just a subsistence activity, but also a highly technological and profitable activity. Egg is the second most complete and consumed food for humans, and it has been used as an important vehicle of nutraceutical compounds (bioactive), through supplementation of bird feed, such as vitamins and minerals. These nutrients have specific functions in the prevention and treatment of pathologies such as arteriosclerosis, inflammation, diabetes and cancer. Vitamin E (tocopherol) and selenium are two vital metabolic antioxidants indispensable in the inhibition of lipid peroxidation, an important pathway that leads to formation of free radicals in cellular environment. With the strategy of enriching food of animal origin, such as meat, milk and eggs, from food supplementation of animals, it is possible to increase human consumption of micronutrients present in the final product. Therefore, the present study aimed to evaluate the nutritional effects of organic selenium and vitamin E added to animal feed for two antioxidant protections in Japanese quail. These animals were allocated in a completely randomized design containing seven treatments, six replicates with six birds. Besides that, the treatment consisted in the addition of 200 IU vitamin E/kg of feed (DL- α -tocopheryl acetate 99%) and increasing doses of organic selenium (Alltec's Selplex®) 0.1 to 0.4 ppm (mg/kg) in the feed. The results of this investigation revealed the supplementation of 200 mg of vitamin E and 0.30 ppm of organic selenium shows no effect on birds performance, but it improves egg shelf quality and shelf life.

Keywords: Antioxidant; Egg quality; vitamin; Mineral.

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira é um setor altamente tecnificado e referência para o mundo no seguimento. Dentro do setor destaca-se a coturnicultura, que ao longo dos anos tem recebido investimentos por parte das grandes empresas avícolas. Além disso, é responsável pela geração de renda para milhares de famílias (BERTECHINI *et al.*, 2002). A codorna japonesa apresenta crescimento rápido, baixo consumo de ração (20 a 25 g/ave/dia), precocidade sexual (35 a 42 dias), grande longevidade (12 a 18 meses) com postura regular (média de 300 ovos/ ano) (VIEIRA, 1987 e LIMA, 1996). Esses fatores, associados ao baixo custo e pequenas dimensões de área para implantação fazem da coturnicultura uma excelente opção de produção animal em pequenas propriedades.

A produção de codornas por região brasileira registrada no ano de 2017 foi: Norte (152.533), Nordeste (2.005.322), Sudeste (9.675.364), Sul (2.727.834) e Centro-Oeste (912.928) (PPM, 2017). Depois do leite materno, o ovo é o alimento mais completo, composto de vitaminas, minerais, proteínas, lipídios, água e menor conteúdo calórico, se comparado com outras fontes proteicas (BERTECHINI, 2006).

O ovo tem sido utilizado como um importante veículo de compostos nutracêuticos, através da suplementação na ração da ave, como as vitaminas e minerais. Esses nutrientes apresentam funções específicas na prevenção e/ou tratamento de diversos tipos de patologias, tais como, arteriosclerose, inflamação, diabetes e câncer (SURAI, 2002).

É conhecida uma grande quantidade de compostos, tanto naturais quanto sintéticos, com propriedades antioxidantes, tais como, o α -tocoferol (vitamina E) e o selênio (SURAI, 2002). Os antioxidantes sintéticos ou naturais são utilizados comumente em vários alimentos, especialmente nos que contêm óleos e gorduras.

A importância da suplementação do α -tocoferol e selênio para codornas, não só contribuiria para a melhoria dos índices produtivos, como também seria uma fonte desses nutrientes funcionais para os humanos que consomem esse tipo de alimento (HAWKES *et al.*, 2003). Além disso, é uma alternativa de se agregar valor ao ovo, que por seu perfil nutricional enriquecido, passa a ser comercializado como um alimento funcional.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. AS CODORNAS

As codornas são originárias do Norte da África, Europa e Ásia, pertencendo à família dos fasianídeos (Fasianidae), à subfamília dos Perdicionidae, sendo, portanto, da mesma família das galinhas e perdizes (ave campestre de caça, com apelo econômico, exemplo: faisão). A *Coturnix coturnix coturnix*, ou codorna europeia, foi introduzida no Japão, no século XI, a partir da China, via Coreia. Os primeiros dados destas aves datam do século XII e registraram que eram criadas em função do seu canto. Os japoneses a partir de 1910, iniciaram estudos e cruzamentos com codornas provenientes da Europa e espécies selvagens, obtendo assim um tipo doméstico, *Coturnix coturnix japonica*, ou codorna doméstica. A partir de então se iniciou sua exploração, visando carne e ovos (REIS, 1980).

Dados preliminares do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), e Pesquisa Pecuária Mundial (PPM) de 2017, mostram que o efetivo nacional de codornas foi de 15.473.981 milhões de aves e 273,30 milhões de dúzias de ovos, com redução de 20,4% e 28,6%, respectivamente em relação ao ano de 2015. A produção por região registrada foi: Norte (152.533), Nordeste (2.005.322), Sudeste (9.675.364), Sul (2.727.834) e Centro-Oeste (912.928) (PPM, 2017).

Por ser excelente fonte de nutrientes, o ovo é extremamente suscetível à ação de microrganismos, por isso há grande preocupação com a qualidade externa e interna. Baptista (2002), relata que a qualidade interna e externa do ovo pode ser avaliada a partir do tamanho da câmara de ar, altura do albúmen, índice de gema, pH do albúmen e gema, unidade Haugh, espessura da casca, gravidade específica e peso do ovo. Segundo Souza (1995), as condições de armazenamento, temperatura e tempo, influenciam na qualidade interna dos ovos. Além dos cuidados com a qualidade física do ovo, outros autores tratam de uma abordagem nutricional, como Heinonen *et al.*, (1998), que sugerem a ação da vitamina E como

minimizadora de danos provocados pela ação dos radicais livres, devido à captura dos mesmos, impedindo ação danosa na célula. Além disso, estudos avaliando desempenho e função imunológica de aves que sofrem estresse por calor são significativamente melhorados com o aumento nos níveis de vitamina C, vitamina E e piridoxina. O selênio também faz parte do sistema antioxidante natural poupando a vitamina E, de modo que patos alimentados com dietas suplementadas com selênio apresentaram maiores concentrações de vitamina E no plasma (RIBEIRO, *et al.*, 2008).

2.2. QUALIDADE DO OVO

O ovo das aves é fonte importante de nutrientes, contendo todas as proteínas, lipídios, vitaminas, minerais e fatores de crescimento requeridos pelo embrião, fatores de defesa contra infecções bacterianas e virais. Além disso, os ovos contêm substâncias com funções e atividades imunes, proteica, enzimática e etc (HANSEN *et al.*, 1998; NOWACZEWSKI *et al.*, 2013).

Embora os ovos de galinha sejam consumidos com mais frequência pelos seres humanos, ovos de outras aves também são usados para consumo diário. Por exemplo, os ovos de codornas estão ganhando na Europa e na América, os ovos de avestruz na África do Sul (HORBANČZUK *et al.*, 2008) e ovos de pato em países do sudeste asiático. Vale ressaltar o interesse crescente em espécies de pássaros alternativos, incluindo a galinha da angola, avestruz, ema, codorna japonesa e faisão, uma vez que essas aves fornecem carne e ovos valiosos que são denominados produtos de nicho (HORBAŃCZUK *et al.*, 1998; SALES e HORBAŃCZUK 1998; POLAWSKA *et al.*, 2011).

2.3. ENRIQUECIMENTO DO OVO COM TOCOFEROL

A busca por alimentos saudáveis tem motivado pesquisas no campo nutricional, com base nisso, intervenções feitas na dieta de

aves alteram a composição lipídica do ovo através de vitaminas lipossolúveis e modificação do perfil dos ácidos graxos.

As principais vitaminas suplementadas para atuar como antioxidantes naturais, são a vitamina A e vitamina E, fornecidas principalmente na forma de β -caroteno e α -tocoferol, respectivamente. A vitamina E foi incluída na alimentação para melhorar o desempenho animal, potencializar o status do sistema imunológico, melhorar a qualidade, enriquecer os produtos de origem animal e aumentar o consumo dessa vitamina pelo ser humano (MCDOWELL 1989; SUNDER *et al.*, 1997; FLACHOWSKY, 2000). Aves não podem sintetizar vitamina E, portanto, devem ser fornecidas através da alimentação (CHAN e DECKER 1994).

2.4. VITAMINA E

As vitaminas são compostos orgânicos vitais que podem ser obtidos em grandes quantidades a partir de óleos vegetais, principalmente vegetais verde-escuros, além de alimentos de origem animal, como a gema do ovo e fígado. Ao todo são conhecidas treze vitaminas classificadas em ordem alfabética, indo de vitamina A a vitamina K. A vitamina E solúvel em gordura foi descoberta no início da década de 20 (EVANS e BISHOP, 1922).

A vitamina E é absorvida pela via linfática e transportada para a circulação sistêmica em associação com os quilomícrons, que são lipoproteínas de transporte dos lipídios, saindo do intestino para os demais tecidos, no qual será oxidado e chega ao tecido adiposo para armazenamento (RODWELL *et al.*, 2017).

Devido às propriedades lipossolúveis, é incorporada em organelas de armazenamento de lipídios e membrana plasmática, estando amplamente distribuída por todo o corpo. A vitamina E interage com vários outros componentes da dieta, incluindo selênio, ácidos graxos poli-insaturados, aminoácidos contendo enxofre, outras vitaminas, minerais e antioxidantes sintéticos.

2.5. PAPEL ANTIOXIDANTE DA VITAMINA E

A vitamina E desempenha funções críticas em animais como: antioxidante biológico (substância capaz de prevenir efeitos deletérios da oxidação, inibindo o início da peroxidação lipídica e sequestrando radicais livres), eficiente na proteção de células contra os efeitos adversos de espécies reativas de oxigênio ou iniciadores de radicais livres (BJORNEBOE, 1990); regulação do sistema nervoso, sistema esquelético, sistema circulatório, sistema muscular, sistema cardiovascular, sistema imunológico e sistema reprodutivo (RENGARAJ e HONG, 2015).

A quantidade relativa de antioxidantes e pró-oxidantes na dieta influencia a suscetibilidade de um indivíduo desenvolver o estresse oxidativo, que pode ser causado por fator nutricional, por exemplo, populações com dietas ricas em substâncias antioxidantes apresentam baixa incidência de arteriosclerose coronária, devido aos antioxidantes aumentarem a resistência do LDL-c a oxidação. O efeito antioxidante das vitaminas A, C e E pode ser mensurado por meio de observações da concentração de lipídios e pelo início das doenças cardiovasculares (KRITHARIDES *et al.*, 2002; RIQUE *et al.*, 2002).

2.6. SELÊNIO

O selênio pode ser consumido em sua forma orgânica, como selenometionina (SeMet) e selenocisteína, proveniente de alimentos vegetais e animais ou ainda em sua forma inorgânica, como selenato e selenito, através de suplementos. Considerando que a maioria das plantas e animais que alimentam e servem de alimento são fontes naturais de selênio orgânico, outras fontes têm sido encontradas, como as leveduras cultivadas em meios ricos em selênio, que produzem em abundância selenometionina ou um coquetel destes selênio-componentes (BIRD *et al.*, 1997 e IP, 1998).

O selênio desempenha papel importante na regulação dos processos metabólicos dentro do corpo integrando as

selenoproteínas (ZHOU *et al.*, 2013). Estudos sugerem que o selênio pode aumentar a imunidade, o crescimento, o desempenho e a capacidade de resistência a doença (HABIBIAN *et al.*, 2014; GHAZI *et al.*, 2012).

No estudo feito Bunk *et al.*, (1980), observaram que a deficiência de selênio provocou perda de apetite, reduziu eficiência alimentar e a consequência foi a diminuição no crescimento de aves. Supplee (1966), relatou que o desenvolvimento e estrutura das penas também foram afetados pela deficiência de selênio. Cantor *et al.*, (1994), relatam que a ingestão adequada de selênio para frangos é necessária para diminuir riscos de miopatia, imunodeficiência, distrofia pancreática, distrofia muscular e outras síndromes causadas pela falta de selênio. A importância da suplementação de selênio para animais de produção não só contribuiria para a melhoria dos índices produtivos como também seria uma fonte de selênio para humanos que consomem produtos como carne e ovos (HAWKES *et al.*, 2003).

2.7. PAPEL ANTIOXIDANTE DO SELÊNIO

O estresse oxidativo tem sido frequentemente relacionado às fases de iniciação e promoção do processo de carcinogênese. As enzimas antioxidantes, dependentes de selênio e zinco, que antagonizam esse processo estão em níveis baixos nas células tumorais (GRIGOLO *et al.*, 1998).

Há na literatura evidências de que a deficiência de selênio é um fator importante de predisposição no desenvolvimento de tumores. Estudos epidemiológicos mostram a relação inversa entre os níveis de selênio no plasma e a incidência de câncer (FIALA *et al.*, 1998).

Dados epidemiológicos também mostraram que o selênio pode interagir com as vitaminas A e E na prevenção do desenvolvimento de tumores e na terapia da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS) (DELMAS-BEAUUVIEUX *et al.*, 1996). Entretanto, outros resultados mostraram que a suplementação com esse mineral

“antioxidante” pode aumentar os processos de carcinogênese, recomendando cautela na administração de selênio para os seres humanos (BIRT, 1986).

2.8. SELÊNIO ORGÂNICO E INORGÂNICO NA ALIMENTAÇÃO DE AVES

As diferenças entre as fontes de selênio orgânico e inorgânico são de grande importância dentro da função fisiológica animal. Enquanto a forma predominante de suplementação do selênio é feita pelo selenito de sódio, a principal forma de ocorrência natural nos alimentos é a L-selenometionina, um análogo do aminoácido metionina (SCHRAUZER, 2000).

Os vegetais, as algas marinhas, bactérias e leveduras podem sintetizar ambos (metionina e selenometionina), porém os animais não. As principais fontes de selênio inorgânico são selenato de sódio (Na_2SeO_4) e o selenito de sódio (Na_2SeO_3), que fornecem 42% e 45% de Se, respectivamente.

A importância da suplementação de selênio para animais de produção não só contribuiria para a melhoria dos índices produtivos como também seria uma fonte de selênio para humanos que consomem produtos como carne e ovos (HAWKES, *et al.*, 2003).

2.9. INTERAÇÃO SELÊNIO/VITAMINA E

Aves com alta capacidade produtiva requerem dietas que atendam suas demandas nutricionais. Assim, antioxidantes naturais têm grande papel na manutenção da saúde, produtividade e nas características reprodutivas das aves, dentre os antioxidantes naturais tem o destaque da vitamina E. Para SURAI (2002), há três enzimas que estão na frente de combate aos agentes oxidantes: superóxido dismutase, (SOD), glutathiona peroxidase (GSH-Px) e catalase. Apesar da vitamina E ter recebido maior atenção em estudos recentes, SURAI (2002) ressalta a pouca atenção que tem sido dada à reação química que a vitamina E exerce sobre as

propriedades oxidantes. O selênio é constituinte direto da glutathione peroxidase, isto demonstra sua importância para o sistema antioxidante.

Para entender a interatividade entre a vitamina E e selênio (Se) dietético sobre o sistema de defesa antioxidante e sobre o desempenho de frangos de corte, COMBS (1988) testou cinco dietas: (1) Dieta basal deficiente em vitamina E e Selênio; (2) Dieta basal suplementada com 100 UI/kg de vitamina E; (3) Dieta basal deficiente de vitamina E; (4) Dieta basal suplementada com 0,1 ppm de Selênio na forma de selenito de sódio; (5) Dieta basal deficiente em Selênio.

Observando que a atividade glutathione peroxidase foi aumentada no fígado, rins, intestinos e cérebro com o consumo de selênio. Para a catalase, a deficiência de selênio aumentou sua atividade em 70% no fígado e 75% no cérebro. Porém, não demonstrou qualquer alteração de atividade com a suplementação de vitamina E. Observou-se também que aves alimentadas com dietas suplementadas com selênio e vitamina E, conjugadas ou não, apresentavam ganho de peso e conversão alimentar superior às aves que não recebiam estes nutrientes. Mas, as aves alimentadas na dieta suplementada com selênio tiveram ganho de peso maior (99 g/ave) que as aves alimentadas com dietas suplementadas só com vitamina E (91 g/ave) ou com vitamina E + Se (95 g/ave). Estes resultados mostram que os componentes do sistema de defesa antioxidante na célula respondem a mudanças no status de vitamina E e selênio.

Para AVANZO *et al.*, (2001), aves alimentadas com dietas deficientes em vitamina E e selênio inorgânico apresentaram maior vulnerabilidade à peroxidação dos lipídios do músculo de peito quando submetidos ao estresse oxidativo. Esses efeitos sobre a saúde, desempenho e qualidade de carcaça podem ser reduzidos quando há combinação de vitamina E e selênio orgânico.

As interações entre os sistemas biológicos são intensas, de modo que se tem relatado que o consumo de selênio contribui efetivamente para o aumento do hormônio do crescimento, aumento

da conversão de T4 em T3 e este último favorece a produção da timulina, um contribuinte do sistema imune. O que não pode ser observado com a suplementação de vitamina E isoladamente (CHANG *et al.*, 2005).

2.10. IMPORTÂNCIA PARA A SAÚDE HUMANA

Trabalhos com foco na ação do selênio sobre os processos metabólicos têm sido realizados devido o selênio fazer parte de seleno-enzimas que modulam e controlam os processos hormonais. Os sintomas de deficiência de selênio encontrados em humanos e animais são principalmente distúrbios relacionados ao músculo cardíaco e articulações. Deficiências moderadas deste micronutriente também podem ter um impacto negativo na saúde humana, por exemplo, aumento do risco de infertilidade em homens; câncer de próstata; nefropatia ou o risco de ocorrência de doenças neurológicas (KRYCZYK, 2013). Além disso, a deficiência de selênio causa uma cardiomiopatia dilatada (doença de Keshan, é uma cardiomiopatia juvenil que ocorre principalmente em mulheres com idade reprodutiva e crianças de 2-10 anos) (YAO, *et al.*, 2011; WŁODAREK, 2006); e osteoartropatia endêmica (doença de Kashin-Beck se manifesta pela artrite reumatoide, dedos da mão e dedos dos pés encurtados ou distúrbios do crescimento do organismo). O dano oxidativo da cartilagem leva à deformação da estrutura óssea, conhecida como degeneração da cartilagem hialina (YAO, *et al.*, 2011). Esta doença afeta principalmente crianças com idade entre 5-13 anos (NAVARRO-ALARCON, *et al.*, 2008; LYONS, *et al.*, 2003). A combinação de deficiência de selênio e iodo constitui um fator que favorece o desenvolvimento da doença de Kashin-Beck (RAYMAN, 2004). A deficiência de selênio pode levar à ocorrência de outras doenças, como asma, circulação prejudicada, arritmia cardíaca, acidente vascular cerebral ou síndrome da morte súbita infantil (PATELSKI, *et al.*, 2013).

HAWKES e KEIM (2003) observaram que o alto consumo de selênio favorecia a deposição de 38% de selênio no músculo e perda de 18% no baixo consumo. Esta deposição aumentada estaria prontamente disponível para qualquer necessidade, inclusive para potencializar a atividade do sistema imune. Estudos feitos por Ashton *et al.*, (2009), e Mistry *et al.*, (2012) têm mostrado que a suplementação de selênio aumentaria as concentrações no plasma, a atividade da glutathione peroxidase, a proliferação das células T e ainda uma redução na taxa de mutação do vírus da poliomielite, mas somente 0,1 mg/dia de selênio seria insuficiente para tal efeito.

Muitas são as dúvidas acerca da suplementação do selênio e sua atividade anticarcinogênica observadas nas últimas décadas. Segundo WATERS *et al.* (2004), isso pode ser devido às diferenças existentes nas metodologias adotadas, sexo, idade e região de estudo, já que homens e mulheres respondem de forma diferente aos efeitos anticarcinogênicos do selênio. Essa complexidade torna esta área ao mesmo tempo promissora e desafiadora.

3. OBJETIVO

3.1. OBJETIVO GERAL

Verificar efeitos zootécnicos e nutricionais da suplementação do selênio e α -tocoferol na ração de codornas japonesas (*Coturnix coturni*).

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Verificar o efeito da suplementação na ração com selênio e α -tocoferol sobre o desempenho de codornas japonesas;

Verificar o efeito da suplementação de selênio e α -tocoferol no perfil desses nutrientes no ovo de codornas japonesas;

Verificar o efeito da suplementação de selênio e α -tocoferol sobre a peroxidação lipídica do ovo estocado em diferentes condições;

Verificar o efeito da suplementação de selênio e α -tocoferol sobre o perfil bioquímico do sangue, soro e do ovo de codornas japonesas.

4. REFERÊNCIAS

ASTON, K.; HOOPER, L.; HARVEY, L.J.; HURST, R.; CASGRAIN, A.; FAIRWEATHER-TAIT, S.J., Methods of assessment of selenium status in humans: a systematic review. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89; 2025-2039p. 2009.

BAPTISTA, R. F., Avaliação da qualidade interna de ovos de codorna (*Coturnix coturnix japônica*) em função da variação da temperatura de armazenamento. Niterói-RJ, 2002.

BARRETO, S.T.L; PEREIRA, C.A; UMIGI, R.T; ROCHA, T.C; ARAUJO, M.S; SILVA, C.S; FILHO, R.A.T., Determinação da exigência nutricional de cálcio de codornas japonesa na fase inicial do ciclo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36; 68-78p. 2007.

BERTECHINI, A.G; KATO, R.K; FASSANI, E.J. Simpósio Internacional de Coturnicultura - Novos Conceitos Aplicados à Produção de Codornas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE COTURNICULTURA,1, Lavras, MG. Anais... Lavras: UFLA, NECTA, 2002. p.218, 2002

BIRD, S.M.; UDEM, P.C.; TYSON, J.F.; BLOCK, E.; DENOVOYER, E. Speciation of selenoamino acids and organoselenium compounds in selenium-enriched yeast using high performance liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 12; 785-788p. 1997.

BJORNEBOE, A.; BJORNEBOE, G.E.; DREVON, C.A. Absorption, transport and distribution of vitamin E. *Journal of Nutrition*. 120, 233-242p. 1990.

CANTOR, A.H.; MOORHEAD, P.D.; MUSSER, M.A. Comparative effects of sodium selenite and selenomethionine upon nutritional muscular dystrophy, selenium dependent glutathione peroxidase, and tissue

selenium concentration of turkey poults. *Poult Sci.* 61. 478-484p. 1994.

ENKVETCHKUL, B.; ANTHONY, N.B.; BOTTJE, W.G.; Liver and blood glutathione in male broiler chickens, turkeys, and quail. *Poult Sci.* 74. 885-889p. 1995.

EVANS, H.M.; BISHOP, K.S. On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science*, 56, 650-651p. 1922.

GHAZI, S.; HABIBIAN, M.; MOEINI, M.M.; ABDOLMOHAMMADI, A. Effects of dietary selenium, vitamin E and their combination on growth, serum metabolites and antioxidant defense system in skeletal muscle of broilers under heat stress. *Biological Trace Element Research*. 148. 322-330p. 2012.

HABIBIAN, M.; GHAZI, S.; MOEINI, M.M.; ABDOLHAMMADI, A. Effects of dietary selenium and vitamin e on immune response and biological blood parameters of broilers reared under thermoneutral or heat stress conditions. *International Journal Biometeorol.* 58, 741-752. 2014.

HAWKES, W.C.; KEIM, N.L. Dietary selenium intake modulates thyroid hormone and energy metabolism in men. *Journal of Nutrition*. 133, 3443-3448. 2003.

HORBAŃCZUK, J.; SALES, J.; CELEDA, T.; KONECKA, A.; ZIEBA, G.; KAWKA, P. Cholesterol Content and Fatty Acid Composition of Ostrich Meat as Influence by Subspecies. *Meat Science* 50, 385-388p. 1998.

HORBAŃCZUK, J.O.; TOMASIK, C.; COOPER, R.G. Ostrich farming in Poland - its history and current situation after accession to the European Union. *Avian and Poultry Biology Reviews* 2. 65-71p. 2008.

IP, C. Lessons from basic research in selenium and cancer prevention. *Journal of Nutrition*. 128. 184-184p. 1998.

KRITHARIDES, L.; STOCKER, R. The use of antioxidant supplements in coronary heartdisease. *Atherosclerosis*. 164:211p. 2002.

KRYCZYK, J.; ZAGRODZI, P. Selen e chorobie gravesa-basedowa. *Postery Higieny i medycyny Doswiadczalnej*. 67, 491-498p. 2013.

LIMA, M.E.P. Criação de Codornas (Manual Técnico). CPT: Viçosa, MG, Brasil. 44p, 1996.

LYONS, G.; STANGOULIS, J.; GRAHAM, R. High-selenium in wheat: biofortification for better health. *Nutrition Research Revisws*. 16, 45-60. 2003.

MISTRY, H.D.; KURLAK, L.O.; YOUNG, S,D.; BRILEY, A.L.; PIPKING, F.B.; POSTON, L. Maternal selenium, copper and zinc concentration in pregnancy associated with small-for-gestational age infants. *Willey Online Libary*. 10. 2012.

NAVARRO-ALARCON, M.; CABRERA-VIQUE, C. Selenium in food and the human body: science of the environment. 400, 115-141p. 2008.

PATELSKI, P.; DZIEKOŃSKA, U. Wpływ selenianu (IV) sodu na wzrost i aktywność fermentacyjną drożdży piekarskich. *Zywnosc-Nauka Technologia Jakos*. 3, 132-142. 2013.

POLAWSKA, E.; MARCHEWKA, J.; COOPER, R.G.; SARTOWSKA, K.; POMIANOWKI, J.; JÓŻWIK, A.; STRZALKOWSKA, N.; HORBANCZUK. The ostrick meat - an updated review. *Animal Science Papers and Reports*. 29, 89-97p. 2011.

PPM, Pesquisa da Pecuária Mundial. 2017. Acessado em 14 de maio de 2019. <https://www.ibge.gov.br/estatistica/economicas/agriculturaepecuaria/9107produçãodapecuariamundial.html>

NRC. 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9th ed. National Academy Press, Washington, DC.

OLIVEIRA, A.M.; FURLAN, A.C.; MURAKAMI., A.E. et al. Exigência nutricional de lisina para codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) em postura. Revista Brasileira de Zootecnia, v.28, 1050-1053p., 1999.

RAYMAN, M.P. The use of high-selenium yeast to raise selenium status: How does it measure up? British Journal of Nutrition. 92, 557-573p. 2004.

REIS, L.F.S.D. Codornizes, criação e exploração. Lisboa: Agros, 10, 222p. 1980.

RENGARAJ, D.; HONG, Y.H. Effects of dietary vitamin E on fertility functions in poultry species. International Journal of Molecular Sciences. 16, 9910-9921p. 2015.

RIQUE, A.B.; SOARES, E.A; MEIRELLES, C.M. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. Revista Brasileira de Medicina e Esporte. 244p. 2002.

RODWELL, V.W.; BENDER, D.A.; BOTHAM, K.M.; KENNELLY, P.J.; WEIL, P.A. Bioquímica Ilustrada de Harper. 30a. 300p. 2017.

SAS INSTITUTE. SAS/STAT:Guide for Personal Computer; Version 9.1. Cary. 235p. 2003.

SALES, J.; HORBANCZUK, J. Ratite Meat. World's Poultry Science Journal 54, 59-67p. 1998.

SHAHRYAR, H.A.; SALAMATDOUST, R.; CHEKANE-AZAR, S.; AHADI, F.; VAHDATPOOR, T. Lipid oxidation in fresh and stored eggs enriched with dietary ω 3 and ω 6 polyunsaturated fatty acids and vitamin E and A dosages. African journal Biotechnol. 9. 1827-1832p. 2010,

SOUZA, H. B. A. de, SOUZA, P. A. Efeito da temperatura de estocagem sobre a qualidade interna de ovos de codorna armazenados durante 21 dias. *Alimentos e Nutrição Araraquara.*, 6, 7-13p. São Paulo, 1995.

VIEIRA, M.I. *Codorna Doméstica: muito ovo, ótima carne, bastante lucro.* São Paulo:Prata. 110p, 1987.

VIEIRA, R.A.; CAMPOS, P.R.S.S.; SILVA, J.F.C.; TEDESCHI, L.O.; TAMY, W.P. Heterogeneity of the digestible in soluble fiber of selected forages in situ. *Animal Feed Science Technology.* 171. 1154-166p. 2012.

ZHOU, J.; HUANG, K.; LEI, X.G. Selenium and diabetes evidence from animal studies. *Free Radical Biology Medicine*, 65. 1548-1556p. 2013.

WLODAREK, D. Znaczenie selenu dla zdrowia człowieka. *Zywiezie Czlowieka i Metabolizm* 33, 236-241p. 2006.

YAO, Y.; PEI, F.; KANG, P. Selenium, iodine, and the relation with Kashin-Beck disease. *Nutrition* 27, 1095-1100p. 2011.

CAPÍTULO II

Enrichment of japanese quail eggs with α -tocoferol and organic selenium

A. M .A. Moura ^{a*}, T. V. Melo^b, L. S. Glória^c

^a *Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Biomanguinhos), Fundação
Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil*

^b *Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do
Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Unaí, Brazil*

^c *Laboratório de Zootecnia, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias
(CCTA), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF),
Campos dos Goytacazes, Brazil*

Abstract

Vitamin E (Tocopherols) and selenium, the two vitally important metabolic antioxidants play an indispensable role in the inhibition of lipid peroxidation, a major pathway leading to the formation of two free radicals in the cellular environment. With a strategy of enriching the foods of animal origin, such as meat, leathers and eggs, from dietary supplementation of animals, one can increase the consumption of these micronutrients. Therefore, the present study aims to evaluate the nutritional effects of organic supplement and vitamin E on or off, for two antioxidant protection in Japanese quails. For this purpose, Japanese quails, with an experimental design in DIC with seven treatments, six repetitions with six birds, were utilized. Further, the treatment consists of 200 IU of vitamin E/kg of ration (DL- α -tocopheryl acetate 99%) and crescents of organic selenium (Alltec's Selplex®) 0.1 to 0.4 ppm (mg/kg) of feed. Moreover, the results in the present investigation unveiled that a supplement of 200 mg of Vitamin E and 0.30 ppm of organic selenium, shows no effect on performance of birds. Thus, the egg shelf quality and shelf life get improved.

Keywords: antioxidant, mineral, nutraceutical, egg quality, vitamin.

Introduction

Tocopherols and selenium, the two vitally important metabolic antioxidants, effectively inhibit the lipid peroxidation, a major pathway for the generation of free radicals, that causes damage to the cells which can be further intensified in the form of severe ailments such as oncologies and heart disease (Vannucchi et al. 1997).

Selenium, a crucial trace element, is an important constituent of several selenoproteins. It regulates the synthesis of key enzymes that prevent organisms against oxidative stress, called glutathione. Among all, glutathione peroxidase (GSH-Px), is one of the most widely studied enzymes, whose main biological role is to detoxify peroxides and hyperperoxides, efficiently. Further, sodium selenite and selenomethionine, act as a principal supplementary source of selenium, where selenomethionine is the organic form that can be biologically metabolized by the animals (Surai, 2000). On the other hand, vitamin E, a fat-soluble nutrient, includes various compounds with vitamin activity called tocopherols. It presents several classifications and chemical arrangements. Of all, α -tocopherols being the most active in organic antioxidant protection, mainly prevents peroxidation of long chain fatty acids in the cell membrane (Payne and Southern, 2005).

According to several studies, in birds, selenium and vitamin E interact synergistically to fight against oxidative stress. Thus, increased intake of these nutrients reduces the concentration of oxygen-reactive substances (ROS), total free radicals in blood, liver, and eggs (Surai, 2002). Alternatively, in animals including humans, these elements are not synthesized, which in turn necessitates the intake of selenium and vitamin E via feeding. Primarily, it can be achieved by enriching the diet with animal

foods such as meat, milk, and eggs from the dietary supplementation of animals.

Generally, in tissues and foods, the antioxidant protection efficiency and the degree of oxidative stress are correlated, by ascertaining the concentration of malondialdehyde (MDA), a reactive organic compound used as a lipid peroxidation biomarker (Nair et al., 2008; Shahryar et al., 2010).

In this direction, Akil and Piliang (2012) observed that upon supplementing Japanese quails with different concentrations of organic selenium and vitamin E, the increase in the deposition of tocopherols and selenium in the yolk, was directly proportional to the supplementary dietary level. Additionally, they also discovered a reduction in the concentration of malondialdehyde in the yolk, during supplementation of selenium in combination with vitamin E, thereby causing an increase in the hatchability. Further, Marques et al. (2011) validated these observations by supplementing Japanese quails with a rising level of fat-soluble vitamins and witnessed that the deposition rate of these nutrients in the yolk and the consumption rate is directly proportional to each other. Nevertheless, a remarkable effect on the performance of the birds was not observed by them. Similarly, in a study carried out with laying hens, the increase in the dietary levels of vitamin E, was associated with an increase (280-600 %) in the deposition of vitamin E, in the egg (Mori et al., 2003; Pita et al., 2004). This, in turn, implies the ability of birds to transfer nutrients, supplemented through a balanced diet, to the egg increases.

Further, in view of increasing the concentration of bioactive nutrients in food, several studies have been conducted, where this food

enrichment with bioactive compounds, is termed as "functional or nutraceuticals" (Kwak and Jukes, 2001). Therefore, by practicing coturniculture, which is allied up with immeasurable and well-known advantages, enriched quail egg can be obtained, which in turn will become an important functional food for the populations with the lowest economic participation. Thus, the present investigation aims to evaluate the nutraceutical effects of organic selenium and vitamin E supplementation on performance, egg quality, and antioxidant protection in Japanese quail.

Material and Methods

The experiment was carried out at the Experimental Poultry Site, located in the State of Rio de Janeiro - Brazil. A total of 252 Japanese quail females of the Fujikura line, 90 days old, and with an average weight of 188.32 ± 4 grams and a mean stance of 90 %, were utilized. The standardization of the lots was subsequently followed by the random distribution of the birds, in 36 quail cages in posture, having dimensions of 33 x 25 x 20 cm each. The experimental design was in DIC, with seven treatments, six replicates with six birds. The treatments consisted of the addition of 200 IU of vitamin E/kg of feed (DL- α -tocopheryl acetate 99%) along with an increased level of organic selenium (Alltec's Selplex®) 0.1 to 0.4 ppm (mg/kg of feed).

[Table 1 should be near here]

The experimental rations were obtained from a control diet, in which increasing levels of organic selenium (0.10, 0.20, 0.30, and 0.40 mg of selenomethionine per kilogram of feed) and 200 mg of acetate of DL-alpha-tocopheryl per kg of diet, as a source of vitamin E, were

configured in the following way: (1) Control diet (CD); (2) CD + 200 mg of vitamin E (VE); (3) CD + 0.20 ppm organic selenium (SEO); (4) CD + 0.10 ppm organic selenium + 200 mg vitamin E (EVS1); (5) CD + 0.20 ppm organic selenium + 200 mg vitamin E (EVS2); (6) CD + 0.30 ppm of organic selenium + 200 mg of vitamin E (EVS3); (7) CD + 0.40 ppm organic selenium + 200 mg vitamin E (EVS4).

According to the nutritional requirements of Japanese quails, being described by the National Research Council (NRC 1994), the Super Crac 5.0 TD package was employed, for calculating the diets, except for crude protein and calcium, which were based on the recommendations of Oliveira et al. (1999) and Barreto et al. (2007), respectively. Further, depending on the determinations obtained by Moura et al. (2010), the values of apparent metabolizable energy of corn, soybean meal, and soybean oil were adjusted. Moreover, vitamin and mineral supplementation was produced free of selenium and tocopherols, and their composition together with those of the experimental diets, are described in Table 1. On the other hand, the performance variables were obtained from the mean data of egg production (%/quail/day), feed consumption (g/quail/day), egg weight (g), egg mass (quail/day), and feed conversion per egg mass (g of feed/g per egg mass). For evaluating the egg quality, the weight data of (a) yolk (g); (b) albumen weight (g); (c) shell weight (g); (d) percentage of yolk; (e) percentage of the shell; and (f) percentage of albumen, were utilized.

Further, 42 days after supplementation, the nutraceutical effects of tocopherol and selenium were evaluated by analytically determining the concentrations of these nutrients and their metabolic indicator, malondialdehyde (MDA) in birds' egg and blood, according to the

methodologies described by Shahryar et al, 2010, Enkvetchakul et al. 1995, which follows as: (a) concentration of total tocopherols in yolk ($\mu\text{g/g}$ egg); (b) concentration of selenium in egg, bark ($\mu\text{g/g}$), and blood ($\mu\text{g/l}$); (c) concentration of malondialdehyde (MDA) in blood (mmol/l) and egg yolks (mmol/g); (d) GSH-Px (EC 1.11.1) in the blood (unit/l).

With the aim of further evaluating the effect of the supplementation of selenium and vitamin E on antioxidant protection in the eggs, thereby correlating it with their shelf life, 36 samples per replicate were stored up to 24 days at a controlled temperature of 22°C , and the concentrations of MDA in the yolk, were analyzed after every 8th day (1, 8, 16 and 24 days). As an adaption, the quails were fed with reference ration continuously for seven days. Subsequently, were offered the respective experimental rations in ad libitum system. Further, they were subjected to a lightning program, in which they were exposed to light, having a photoperiod of 17 hours, with the light being controlled by a timer, followed by recording temperature and relative humidity inside the shed. Moreover, feed intake and egg production, weight and egg mass data, were measured weekly. Furthermore, the weight of the yolk, albumen, and bark, was determined by collecting three eggs daily from each replicate. As a reference, on the experimental "zero" day 80 eggs were randomly collected and evaluated under the same protocol. In the last four days of the experiment, twelve eggs of each replicate were collected, and sent to the laboratory for the analytical determination of selenium and vitamin E. Further, to analyze the micronutrients, high-performance liquid chromatography (HPLC) was employed, according to the methodologies described in Marques et al. (2011). At the end of the experiment, three quail blood samples were collected per repetition through the puncture, done via the brachial vein.

Subsequently, the blood samples collected were subjected, to the analysis of plasma concentrations of free selenium, malondialdehyde (MDA), and glutathione peroxidase (GSH-px), with the protocols being approved by the Committee on Ethics in the Use of Animals (CEUA) according to the license nº 0059/2013. Further, for evaluating this variable, the following variance and covariance structures were tested: (a) components of variance, (b) composite symmetry with a constant correlation between measures repeated over time; (c) self-regressive correlations between measures repeated over time; and (d) the unrestricted structure of variances and covariates. Moreover, the model adjustment was carried out using the PROC MIXED procedure of the Statistical Analysis System (SAS System, Inc., Cary, NC, USA), followed by the investigation of the quality of fit of the different variance and covariance models, according to Vieira et al. (2012). The performance variables were evaluated using mixed models, following the PROC MIXED procedure of the Statistical Analysis System (SAS System, Inc., Cary, NC, USA) software, with the application of the Tukey test, in the case of significant difference. For the egg quality variables, the analysis was performed using the generalized linear model's theory, such as the Binary, Lognormal, and Binary distributions, and the GLIMMIX procedure of (SAS System, Inc., Cary, NC, USA), where the Tukey test was applied, in the case of significant difference. Further, for the estimation of the variables of the vitamin E and selenium, the generalized linear models using the lognormal distribution and the GLIMMIX procedure of the Statistical Analysis System (SAS System, Inc., Cary, NC, USA) software were used, with the application of the Tukey test, in the case of significant difference.

Results and Discussion

According to the results tabulated in Table 2, the variables, egg production, mean feed intake, and egg mass, showed significant differences ($p < 0.05$), statistically. Alternatively, no significant statistical differences were detected, for all other variables. Further, the diet with supplementation of 0.40 ppm of organic selenium + 200 mg of vitamin E, was found detrimental in egg production and egg mass, probably due to low feed intake.

[Table 2 should be near here]

The response, in turn, indicates a possible toxic action of selenium on quail folliculogenesis since it did not act as a limiting agent regarding consumption or other deleterious effects, which resulted in an increase in the production of unviable eggs. However, egg quality dressings did not undergo any alteration with vitamin E and selenium supplementation (see Table 3). On the contrary to Gravena et al. (2011), found differences in the results concerning the relationship of selenium supplementation with the egg performance and egg quality. These results reinforce and corroborate that scientific results on nutritional requirements and the interactions of micronutrients with laying quails are in their early stages. Nevertheless, a statistically significant ($p < 0.05$) effect of vitamin E supplementation on α -Tocopherol deposition in the egg yolk, in addition to, the activity of the enzyme glutathione peroxidase (GSH-px) and oxidative bioindicator malondialdehyde (MDA), were observed (see Table 4, and Figures 1 and 2).

The above results were in agreement with the findings of Mori et al. (2003), who verified the linear relationship between the concentration of

tocopheryl acetate supplemented in chicken ration and the α -tocopherol content incorporated in egg yolk.

[Table 3 should be near here]

[Table 4 should be near here]

However, in the present investigation, selenium supplementation did not affect α -tocopherol concentration in the egg, but analysis of its interaction with vitamin E showed a positive effect with significant differences in the concentrations of GSH-px and MDA. Similarly, the concentration of malondialdehyde in the yolk as a function of the storage time also exhibited a statistically significant difference ($p < 0.05$). On the other hand, upon increasing the inclusion of vitamin E and selenium, the shelf life of quail eggs was extended (see Table 5 and Figure 3).

[Figure 1 should be here]

[Figure 2 should be here]

[Table 5 should be here]

Further, the supplementation of the birds with vitamin E and selenium promoted a lower concentration of MDA in the egg yolks over time, as compared to the birds not supplemented. However, the associated supplementation of alpha-tocopherol with organic selenium exhibited higher efficiency in inhibiting lipid peroxidation, evidencing the synergistic effect of micronutrients only when supplied alone. These results were in corroboration with the observation of Surai (2002) and Akil and Piliang (2012), who reported a potential added advantage of tocopherols and

selenium protection against oxidative stress and prevention of peroxidation of long chain fatty acids.

Conclusion

In the current investigation, the results revealed that supplementation of 200 mg of Vitamin E and 0.30 ppm of organic selenium (EVS3 treatment) did not affect the performance of egg, but improved vitamin E enrichment parameters in the egg besides increasing its useful life. Thus, there is an urgent need to conduct new research for validating the effect of these levels on egg performance and egg quality in Japanese quail because results of interactions between vitamin E and organic selenium nutrients are in their early stages of development.

Acknowledgments

The authors thank CNPq for the financial support granted to this project and the Oswaldo Cruz Foundation - FIOCRUZ.

References

- Akil, S., Piliang, W. G. 2012. Enrichment of Organic-Inorganic Se and Vitamin E in Quail Products and Its Effect on the Performances and Source of Antioxidant in Quails' Eggs. *J Agric Sci. Technol.* 2:345-349.
- Barreto, S. L. T., Pereira, C. A., Umigi, R. T., Rocha, T. C., Araujo, M. S., Silva, C. S., Torres Filho, R. A. 2007. Determinação da exigência nutricional de cálcio de codornas japonesas na fase inicial do ciclo de produção [Determination of calcium nutritional requirement of Japanese quail in initial stage of production cycle]. *Rev Bras Zootec.* 36(1):68-78. Portuguese.
- Enkvetchakul, B., Anthony, N. B., Bottje, W. G. 1995. Liver and blood glutathione in male broiler chickens, turkeys, and quail. *Poult Sci.* 74(5):885-889.
- Gravena, R. A., Marques, R. H., Picarelli, J., Silva, J. D. T., Roccon, J., Hada, F. H., Queiroz, S. A., Moraes, V. M. B. 2011. Suplementação da dieta de codornas com minerais nas formas orgânicas sobre o desempenho e a qualidade dos ovos [Supplementation in quail diet with organic minerals on performance and egg quality] *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 63(6):1453-1460. Portuguese
- Grigolo, B., Lisignoli, G., Toneguzzi, S., et al. 1998. Copper/zinc superoxide dismutase expression by different human osteosarcoma cell lines. *Anticancer Res.* 18(2A):1175-1180.
- Kwak, N., Jukes, D. J. 2001. Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept. *Food Control.* 12:99-107.
- Marques, R. H., Gravena, R. A., Silva, J. D. T, Roccon, J., Picarelli, J., Hada, F. H., Queiroz, S. A., Moraes, V. M. B. 2011. Effect of supplementation of

- diets for quails with vitamins A, D and E on performance of the birds and quality and enrichment of eggs. R. Bras. Zootec. 40(6):1222-1232.
- Mori, A. V., Mendonça Júnior, C. X., Almeida, C. R. M., et al. 2003. Supplementing hen diets with Vitamins A and E affects egg yolk retinol and α -tocopherol levels. J Appl Poult Res. 12:106-114.
- Moura, A. M. A., Fonseca, J. B., Takata, F. N., Rabello, C. B. V., Lombardi, C. T. 2010. Energia metabolizável aparente de alimentos determinados em codornas japonesas (*Coturnix japonica*) [Apparent metabolizable energy of different feed in Japanese quails (*Coturnix japonica*)]. Arq Bras Med Vet e Zootec. 62(1):178-183. Portuguese.
- Nair, V., O'neil, C. L., Wang, P. G. 2008. "Malondialdehyde". Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons. New York (NY).
- NRC. Nutrient requirements of poultry. 1994. 9th rev ed. Washington, DC: The National Academies Press.
- Pita, M. C. G., Piber Neto, E., Nakaoka, L. M. et al. 2004. Efeito da adição de ácidos graxos insaturados e de vitamina E à dieta de galinhas e seu reflexo na composição lipídica e incorporação de α -tocoferol na gema do ovo [Effect of unsaturated fatty acids addition and vitamin E to laying hens diet and its influence on lipid composition and incorporation of the α -tocopherol in egg yolk]. Braz J Vet Res Anim Sci.41(1):25-31. Portuguese.
- Oliveira, A. M., Furlan, A. C., Murakami, A. E., et al. 1999. Exigência nutricional de lisina para codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) em postura [Lysine nutritional requirement to laying Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*)]. Rev Bras Zootec. 28(5):1050-1053.
- Payne, R. L., Southern, L. L. 2005. Comparison of inorganic and organic selenium sources for broilers. Poult Sci. 84:898-902.

Phosphate dicalcium	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34
Refined soybean oil	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Mineral and vitamin supplement ¹	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Salt (NaCl)	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33
L-Lysine.HCl 99%	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
L-Threonine 98.5%	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
DL-Methionine 99%	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Vitamina E, mg/kg	-	200	-	200	200	200	200
Selenium, mg/kg	-	-	0,20	0,10	0,20	0,30	0,40
Bromatological Composition							
ME, kcal per kg* ²	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
	0	0	0	0	0	0	0
Crude protein,% ²	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0
Calcium,% ²	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Phosphorus,% ³	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
Lysine,% ⁴	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10
Met + Cys,% ⁴	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70
Sodium,% ⁴	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Selenium (mg/kg) ³	0.07	0,09	0,28	0,16	0,29	0,34	0,45
Vitamin E (mg/kg) ³	9,78	217	11,5	221	227	219	222

¹Supplement mineral and vitamin - Composition per kilogram of product: Vit. B12-10000 mcg; Folic acid - 400 mg; Pantothenic acid - 3000 mg; Biotin - 10 mg; Choline 126,000 mg; Niacin - 7000 mg; Pyridoxine - 800 mg; Thiamine - 800 mg; Riboflavin 1200 mg; Menadione - 500 mg; Retinol palmitate (vit A) 2000000 IU; Colecalciferol (vit. D3) - 50000 IU; Copper - 2000 mg; Iron - 16000 mg; Iodine - 200 mg; Manganese - 18000 mg; Zinc - 14000 mg. *²Metabolizable energy. ²Analyzed in Animal Nutrition Laboratory - LZO/CCTA/UENF. ³Analyzed in Laboratory Bioagri Alimentos Ltda. ⁴Calculated values.

Table 2. Mean values of the performance variables of Japanese quail.

Experimental					
Diet	EP	MFI	EG	AEW	FC
Control diet	91,59a	29,13a	7,56a	12,13	3,87
VE diet	93,74a	28,33ab	7,52a	12,49	3,78
SEO diet	95,58a	27,96ab	7,61a	12,57	3,69
SVE1 diet	90,13a	26,05bc	7,32a	12,33	3,57
SVE2 diet	93,03a	26,30bc	7,34a	12,72	3,61
SVE3 diet	89,46a	24,20cd	7,36a	12,18	3,31
SVE4 diet	77,84b	23,68d	6,18b	12,61	3,86

EP- Eggs Production/ AFC- Mean Feed Intake / EG-Egg mass/ AEW- Average Egg Weight/FC- Food Conversion.

Table 3. Mean values of the Japanese quail egg quality parameters.

Experimental Diet	Weight (g)			Percentage (%)		
	Yolk	Shell	Albumen	Yolk	Shell	Albumen
Control diet	3,86	1,03	7,24	31,83	8,49	59,68
VE diet	4,15	1,09	7,25	33,23	8,73	58,04
SEO diet	4,00	1,08	7,49	31,81	8,65	59,54
SVE1 diet	3,96	1,08	7,29	32,18	8,75	59,08
SVE2 diet	4,10	1,13	7,49	32,22	8,88	58,91
SVE3 diet	3,91	1,08	7,24	31,98	8,82	59,20
SVE4 diet	3,99	1,10	7,41	32,01	8,86	59,13

Table 4. Concentration of alpha-tocopherols, selenium, malondialdehyde and glutathione activity in egg and blood of Japanese quails.

Diets	α Tocopherol	Selenium content	Malondialdehyde	Glutathione
			de	e

	Yolk ($\mu\text{g/g}$)	Egg ($\mu\text{g/g}$)	Shell ($\mu\text{g/g}$)	Blood ($\mu\text{g/l}$)	Blood (mmol/l)	
Control diet	38,2d	0,30	0,10	2,76	1,18a	0,64a
VE	588,2a	0,48	0,10	2,84	0,65c	0,68b
SEO	37,3d	0,50	0,15	3,83	0,81b	0,80d
SVE1	591,9a	0,48	0,15	3,38	0,51d	0,70c
SVE2	564,1ab	0,62	0,15	3,78	0,43e	0,96e
SVE3	512,5bc	0,75	0,25	4,08	0,38f	1,13f
SVE4	486,1c	0,73	0,33	4,67	0,33g	1,19g
<i>p</i> - value	0,00014	0,842 7	0,9551	0,0875	0,0008	0,00259

GSH-px: reduced glutathione peroxidase. Diets: CD + 200 mg of vitamin E (VE); 3 - CD + 0.20 ppm organic selenium (SEO) 4 - CD + 0.10 ppm organic selenium + 200 mg vitamin E (EVS1); 5 - CD + 0.20 ppm organic selenium + 200 mg vitamin E (EVS2); 6 - CD + 0.30 ppm of organic selenium + 200 mg of vitamin E (EVS3); 7 - CD + 0.40 ppm organic selenium + 200 mg vitamin E (EVS4).

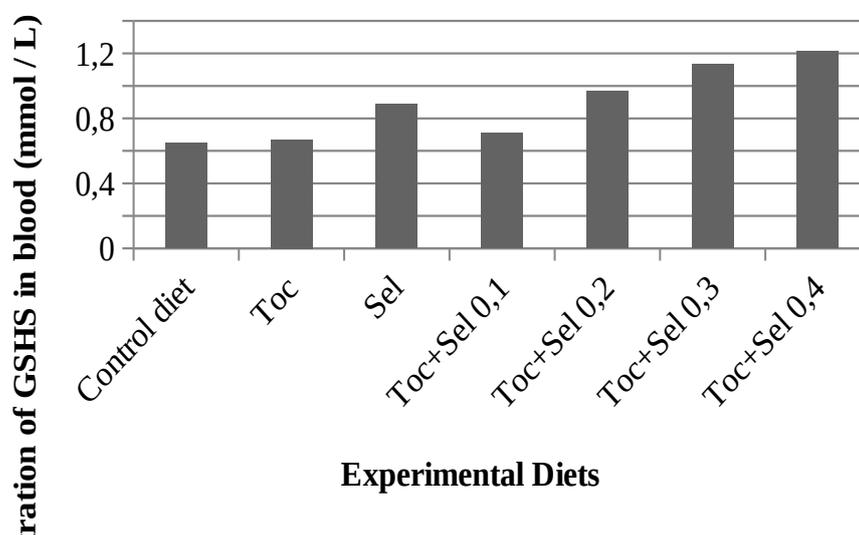


Figure 1. Concentration of malondialdehyde in quail blood as a function of vitamin E and selenium supplementation.

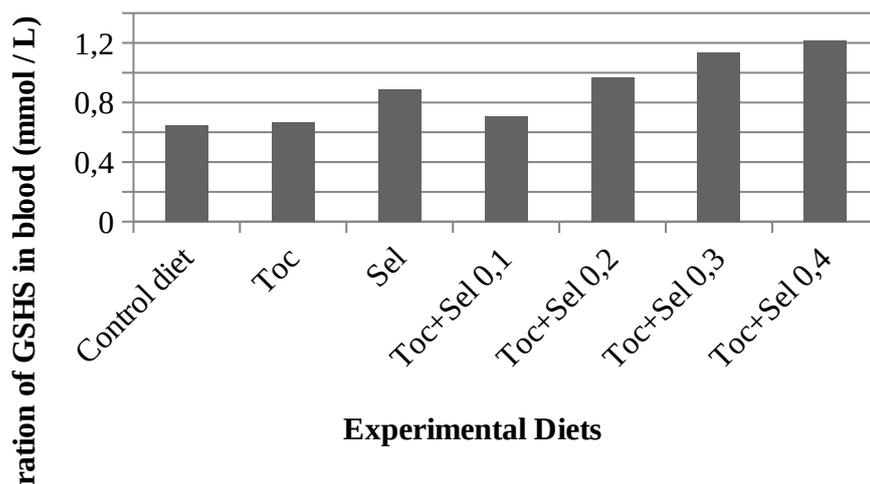


Figure 2. Concentration of reduced glutathione peroxidase (GSHPx) in quail blood as a function of vitamin E and selenium supplementation.

Table 5. Concentration of malondialdehyde (MDA) in egg yolks of Japanese quails according to the storage time.

Experimental diet	Concentration of MDA / Storage time (days)			
	1	8	16	24
Control diet (CD)	53,3± 0,04	79,9± 0,04	118,7± 0,04	232,4± 0,04
VE diet	18,9± 0,04	39,1± 0,04	54,9± 0,04	69,9± 0,04
SEO diet	33,0± 0,04	70,1± 0,04	92,0± 0,04	116,8± 0,04
SVE1 diet	19,3± 0,04	34,0± 0,04	54,8± 0,04	84,5± 0,04
SVE2 diet	20,0± 0,04	35,0± 0,04	51,8± 0,04	58,8± 0,04
SVE3 diet	19,2± 0,04	32,7± 0,04	47,7± 0,04	55,7± 0,04
SVE4 diet	19,5± 0,04	29,8± 0,04	40,8± 0,04	47,4± 0,04
<i>p</i> - value	0,00518	0,0000	0,0000	0,0033

Significant at the 0.01 level of probability by F test Effect; Means followed by different letters in the column differ at the 0.05 level of probability by Tukey test.