



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN
Y DE LA SALUD ANIMAL
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**DETERMINACIÓN DEL BIENESTAR EN POLLOS MEDIANTE
BIOMARCADORES FISIOLÓGICOS, CARACTERIZACIÓN DE LA CARNE Y
UN MODULADOR ALOSTÁTICO COMO ALTERNATIVA EN LA REDUCCIÓN
DEL ESTRÉS ANTEMORTEM**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA

María Elena Rubio García

TUTOR:

PhD. María del Pilar Castañeda Serrano - Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

COMITÉ TUTORAL:

PhD. María Salud Rubio Lozano - Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Dra. Edith Ponce Alquicira - Programa de Doctorado en Ciencias de la Producción y de la
Salud Animal

México, D.F. Junio 2015.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

A Dios por darme la maravillosa oportunidad de existir.

A mi esposo Antonio, porque desde que estamos juntos todo ha sido posible.

A Gaby y Sony por perdonarme las innumerables ocasiones del refrigerador vacío, las comidas rápidas y los trabajos forzosos aun en navidades y cumpleaños; por su gran apoyo incondicional. Gracias por ser mis hijos.

A toda mi gran familia, los presentes y los ausentes, quienes desde cualquier lugar que se encuentren siempre me apoyan.

Al Dr. Félix Joel Ibarra Arias por permitirme trabajar en lo que tanto me gusta, contagiándome su pasión por la investigación; por su confianza y apoyo, todo mi agradecimiento.

AGRADECIMIENTOS

A mis tutoras, por el tiempo dedicado a guiarme y por compartir sus conocimientos siempre con buen ánimo.

A mi maestro y amigo Carlos López Coello, por todos los consejos que siempre me has brindado.

A la empresa Alta Tecnología Industrial para la Salud Animal S.A. de C.V. por todo el apoyo para la consecución de este trabajo.

Al Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola, FMVZ-UNAM, por la facilidades para la realización de este proyecto; particularmente a Almita Vázquez, Jorge Iriarte, Lázaro Herrera, Elizabeth Posadas, Rebeca Vázquez, Monsserrat Martínez, Irma Huerta y a todo el personal del Centro por su ayuda ilimitada.

Al Centro de Enseñanza, Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal, FMVZ-UNAM - Laboratorio de Ciencia de la Carne, en especial a Ruth Tejeda.

Al Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves, FMVZ-UNAM, particularmente a Cecy Rosario Cortés y a Lety Cruz.

Al Departamento de Reproducción, FMVZ-UNAM, de manera muy especial a Susy Rojas.

Al Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, Laboratorio S-132. Especialmente a Isabel Hernández, quién además de tu tiempo para realizar este trabajo me regalaste tu amistad. Mil gracias.

A los miembros de mi jurado, por su tiempo en la revisión minuciosa de este trabajo.

El presente trabajo fue realizado con apoyo del Convenio UNAM-ATISA, Número 17549-1590-15-XI-05.

RESUMEN

Experimento 1

Uno de los manejos más importantes y de mayor impacto en la engorda del pollo al final de su ciclo productivo, es el proceso de carga y transporte estos manejos *antemortem*, generan estrés, reducen su bienestar y afectan la calidad de las canales. El objetivo del estudio fue determinar el efecto de un modulador alostático (MA) en la reducción de la carga alostática causada por manejo *antemortem* mediante la evaluación de la apariencia y la calidad microbiológica de la canal. Como MA se administró una combinación de 50 mg de ácido ascórbico, 62.5 mg de ácido acetilsalicílico y 251 μEq de Na^+ , K^+ y Cl^- por L de agua, 2 días antes del envío a rastro. El experimento se realizó bajo un arreglo factorial $2 \times 2 \times 2$ (estirpes comerciales L1 y L2; programas de ayuno 10 h y 16 h; con y sin la adición del MA); un total de 600 pollos de un día de edad y criados hasta el día 49, fueron asignados aleatoriamente a cada uno de los 8 tratamientos con 3 réplicas de 25 pollos cada uno. La apariencia de la canal se determinó por la presencia de lesiones causadas por manejo *antemortem* y la calidad microbiológica de éstas, mediante conteo de UFC/mL para coliformes y mesófilos totales. Los resultados mostraron asociación entre la frecuencia de lesiones y el MA ($P = 0.015$) con una disminución de lesiones por el uso del MA. Juntos, 16 h de ayuno y MA redujeron conteo de coliformes ($0.5 \log_{10}$ UFC/mL; $P = 0.003$) y mesófilos totales ($0.25 \log_{10}$ UFC/mL; $P = 0.004$) en canales sin lavar. En el presente trabajo se demostró que el uso del MA es un medio efectivo para reducir el estrés *antemortem* en los pollos de engorda, así como para mejorar su bienestar y la calidad de las canales permitiendo ofrecer al consumidor un producto mejor en apariencia y calidad.

Experimento 2

El objetivo de este estudio fue seleccionar biomarcadores fisiológicos del estrés en pollos de engorda para evaluar el efecto de la carga alostática por manejo *antemortem* suplementando un modulador alostático (MA), así como determinar si la adición del MA modifica las características funcionales de la carne de pollo. Seiscientos pollitos de un día de edad fueron alojados en 4 tratamientos con 6 réplicas de 25 aves cada uno, bajo un arreglo factorial 2 x 2 (estirpes comerciales L1 y L2; con y sin la adición del MA). Antes de su envío a procesamiento a los 49 días de edad, fueron sometidos a 10 horas de ayuno. El MA (combinación de 50 mg de ácido ascórbico, 62.5 mg de ácido acetilsalicílico y 251 µEq de Na⁺, K⁺ y Cl⁻ por L de agua) fue adicionado 2 días antes de ser transportados. El uso del MA redujo significativamente ($P = 0.001$) la pérdida por goteo en pechugas hasta por 72 horas de refrigeración, mostrando mayor efecto a las 24h en ambas estirpes; condición que repercutió al final del período de evaluación en el porcentaje total de pérdida por goteo ($P = 0.001$). En lo referente a los biomarcadores fisiológicos, solo la relación Heterófilos:Linfocitos ($P = 0.04$) y Corticosterona ($P = 0.051$) en plasma mostraron cambios importantes asociados al consumo del MA, su efecto sobre estos dos biomarcadores indicaron su acción como una nueva alternativa para reducir la carga alostática por estrés *antemortem* favoreciendo el bienestar de las aves.

Experimento 3

En este estudio se utilizaron 400 pollitos divididos en 4 tratamientos con 4 réplicas de 25 aves cada uno, bajo un arreglo factorial 2 x 2 (estirpes comerciales L1 y L2; con y sin la adición del MA). El MA [combinación de 50 mg de ácido ascórbico, 62.5 mg de ácido

acetilsalicílico y 251 μEq de Na^+ , K^+ y Cl^- por L de solución]) fue adicionado 2 días antes del envío a rastro a los 49 días de edad. A partir de muestras de pechuga y pierna se determinó la actividad oxidativa y su vida de anaquel. La estabilidad lipídica se evaluó mediante la determinación de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y la capacidad antioxidante endógena por el método químico ABTS^+ [ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)], para evaluar la vida de anaquel se realizaron conteos de la población de coliformes y mesófilos totales. Las muestras se almacenaron en refrigeración durante 15 días, empacadas en charolas de unicel y cubiertas con película permeable al oxígeno. La estabilidad lipídica y la actividad antioxidante en las muestras de pechuga y pierna no reportaron diferencia ($P \geq 0.05$) entre tratamientos pero sí por días de almacenamiento ($P = 0.001$). La mayor concentración de malonaldehído/kg de carne y la mayor actividad antioxidante se observó al día 5 en pechuga y al día 1 en pierna. Los resultados del conteo de coliformes en pechuga mostraron reducción ($P = 0.001$) por el uso del MA, no así en pierna. Mientras que en los mesófilos totales se observó un efecto de interacción $\text{MA} * \text{L} * \text{DA}$ ($P = 0.003$) en pechuga y reducción de mesófilos en pierna por el MA ($P = 0.001$) solo hasta el día 1. El MA no modificó la oxidación lipídica, ni la capacidad antioxidante, mostrando solo un efecto significativo en la carga microbiana de ambas muestras; sin embargo, ésta no debe ser la única alternativa para el control microbiológico de la carne de pollo.

Palabras clave: Bienestar, transporte, calidad de canal, pollo de engorda, estrés, alostásis, modulador alostático, calidad de carne.

ABSTRACT

Experiment 1

One of the most important management with greater impact on broilers at the end of its production cycle, is the process of loading and transporting, these antemortem management, generate stress, reduced welfare and affect the quality of the carcasses. The aim of the study was to determine the effect of an allostatic modulator (AM) on the allostatic load caused by *antemortem* management stress in broilers. For that purpose, we evaluated the appearance and microbiological quality of the carcass. A combination of 50 mg of ascorbic acid, 62.5 mg of acetylsalicylic acid and 251 μEq of Na^+ , K^+ and Cl^- was administered to the chicks per L of water, 2 days before sending them to the processing plant. Six hundred chicks were housed and divided in 8 treatments with 3 replicates of 25 broilers each, under a factorial arrangement $2 \times 2 \times 2$ (commercial lines L1 and L2; feed withdrawal programs of 10 h and 16 h; with and without the addition of AM). The carcasses appearance was determined by the presence of bruises and the microbiological quality by counting CFU/mL for total coliforms and mesophilic counts. The results showed association between the frequency of bruises and AM ($P = 0.015$) with a reduction of bruises in AM groups. Together, 16 h of feed withdrawal and AM reduced coliform counts ($0.5 \log_{10}$ CFU/mL; $P = 0.003$) and total mesophilic ($0.25 \log_{10}$ CFU/mL; $P = 0.004$) in unwashed carcasses. The *antemortem* broiler management increases the possibility of damage, reducing their welfare and carcass quality; however, in the present study was demonstrated that the use of AM improves these aspects and offers to consumers a better product in appearance and quality.

Experiment 2

The aim of this study was to select physiological stress biomarkers in broilers to evaluate the effect of *antemortem* management allostatic load using an allostatic modulator (AM), and to determine if the AM modifies the functional characteristics of broiler meat. Six hundred chicks were housed in 4 treatments with 6 replicates of 25 birds each, under a 2 x 2 factorial arrangement (commercial lines L1 and L2; with and without the addition of AM). Before sending them to processing plant, broilers were subjected to 10 hours of feed withdrawal, adding the AM (combination of 50 mg of ascorbic acid, 62.5 mg of acetylsalicylic acid, and 251 μEq of Na^+ , K^+ and Cl^- per L of water) for the last 2 days. The use of AM reduced ($P = 0.001$) drip loss in breasts stored in refrigeration up to 72 h, showing the greatest effect at 24h in both strains; the total percentage of drip loss was reduced by AM ($P = 0.001$) at the end of the evaluation. Regarding physiological biomarkers only the Heterophil:Lymphocyte ratios ($P = 0.04$) and Corticosterone ($P = 0.051$) plasma levels showed significant changes associated to the AM consumption. Results showed the AM to be a new alternative for reducing *antemortem* management allostatic load and favored the broiler welfare.

Experiment 3

This study was developed with 400 one day old broilers, divided into 4 treatments with 4 replicates of 25 birds each, under a 2 x 2 factorial arrangement (commercial lines L1 and L2; with and without the addition of AM [a combination 50 mg of ascorbic acid, 62.5 mg of acetylsalicylic acid, and 251 μEq of Na^+ , K^+ and Cl^- per L]). The AM was administered 2 days before sending chicks to the processing plant at 49 days old, to evaluate oxidative

activity and shelf life in breast and leg samples. Lipid stability was determined by measuring the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and endogenous antioxidant capacity by the chemical method ABTS⁺ [acid 2,2-azinobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)]; as well as the total coliforms and mesophilic counts. The samples were stored under refrigeration for 15 days, packed in trays and covered with oxygen-permeable film. Lipid stability and antioxidant activity in samples of breast and leg showed not differences ($P \geq 0.05$) between treatments, only for storage days ($P = 0.001$). The highest concentration of malonaldehyde/kg of meat and the highest antioxidant activity were observed in breast and legs at day 5 and day1 respectively. The coliform population showed a reduction only in breast samples ($P = 0.001$) treated with the AM. While, total mesophilic counts showed interaction with DA*AM*L ($P = 0.003$) in breast, and a reduction effect in leg with the use of the AM ($P = 0.001$) until day 1. AM did not modified neither lipid oxidation nor antioxidant capacity, but showed a reduction effect on the CFU/mL in both samples; however, this should not be the only alternative for microbiological control of broiler chicken meat.

Key words: Welfare, live haul, carcass quality, broilers, stress, allostasis, allostatic modulator, meat quality.

ÍNDICE	Página
Dedicatoria.....	I
Agradecimientos.....	II
Resumen.....	III
Experimento 1.....	III
Experimento 2.....	III
Experimento 3.....	IV
Abstract.....	VI
Experiment 1.....	VI
Experiment 2.....	VI
Experiment 3.....	VII
Índice.....	IX
Lista de Cuadros.....	XII
Lista de Figuras.....	XIII
1. Antecedentes.....	1
1.1 Alternativas para el control del estrés.....	9
2. Hipótesis.....	14
3. Objetivo general.....	14
Experimento 1.....	15
1.1 Introducción.....	15
3.1 Objetivos particulares.....	17
4.1 Material y Métodos.....	18
4.1.1 Diseño Experimental.....	18
4.1.2 Transporte y sacrificio de los animales.....	18
4.1.3 Evaluaciones <i>antemortem</i>	19
4.1.4 Mediciones de pH en buche.....	19
4.1.5 Evaluación de calidad microbiológicas de las canales.....	20
4.1.6 Evaluación de lesiones en las canales.....	20
4.1.7 Análisis Estadístico.....	21
5.1 Resultados y Discusión.....	21
5.1.1 Mediciones de pH en buche.....	21
5.1.2 Calidad Microbiológica de las canales.....	23
5.1.3 Evaluación de lesiones en las canales.....	24
5.1.4 Evaluaciones <i>antemortem</i>	25

Experimento 2.	29
1.2 Introducción.	29
3.2 Objetivos particulares.	32
4.2 Material y Métodos.	32
4.2.1 Diseño Experimental.	32
4.2.2 Transporte y sacrificio de los animales.	33
4.2.3 Índices bioquímicos y niveles de Corticosterona en plasma.	33
4.2.4 Índices hematológicos.	35
4.2.5 Evaluaciones de calidad de carne.	35
4.2.5.1 Mediciones de temperatura y pH de la carne. . .	35
4.2.5.2 Presencia de carne pálida.	36
4.2.5.3 Pérdida por goteo en músculo pectoral mayor. .	36
4.2.5.4 Determinación de merma por cocción y suavidad de la carne.	37
4.2.6 Análisis Estadístico.	38
5.2 Resultados y Discusión.	38
5.2.1 Transporte y sacrificio de los animales.	38
5.2.2 Índices bioquímicos y niveles de Corticosterona en plasma.	39
5.2.3 Índices hematológicos.	44
5.2.4 Evaluaciones de calidad de carne.	45
5.2.4.1 Mediciones de temperatura y pH de la carne. . .	45
5.2.4.2 Presencia de carne pálida.	47
5.2.4.3 Pérdida por goteo en músculo pectoral mayor. .	49
5.2.4.4 Determinación de merma por cocción y fuerza de corte.	51
Experimento 3.	53
1.3 Introducción.	53
3.3 Objetivos particulares.	55
4.3 Material y Métodos.	55
4.3.1 Diseño Experimental.	55
4.3.2 Transporte y sacrificio de los animales.	56
4.3.3 Actividad oxidativa en plasma por determinación de la	

	enzima catalasa.	57
4.3.4	Estabilidad oxidativa de la carne de pollo.	57
4.3.5	Determinación de la estabilidad lipídica de la carne de pollo.	59
4.3.6	Vida de anaquel.	59
4.3.7	Análisis Estadístico.	60
5.3	Resultados y Discusión.	61
5.3.1	Actividad oxidativa en plasma por determinación de la enzima catalasa.	61
5.3.2	Estabilidad oxidativa y determinación de la estabilidad lipídica de la carne de pollo.	62
5.3.3	Vida de anaquel.	67
	Conclusiones.	72
	Referencias.	74
	Abreviaturas y Siglas Usadas.	94

LISTA DE CUADROS		página
Cuadro 1.1	Promedios \pm EE obtenidos del pH del buche y conteos microbianos de canales procedentes de pollos sacrificados a los 49 días de edad, pertenecientes a dos estirpes comerciales, tratados con el modulador alostático y sometidos a dos programas de ayuno.	39
Cuadro 1.2	Frecuencia de movimientos para evaluar bienestar en pollos de engorda a los 49 días de edad, pertenecientes a dos estirpes comerciales y tratados con el modulador alostático 48 h antes de su envío a procesamiento.	40
Cuadro 2.1	Valores promedio \pm EE obtenidos de los índices bioquímicos y corticosterona al momento de la captura en granja y de la descarga en planta procesadora a partir de pollos tratados con el modulador alostático.	54
Cuadro 2.2	Valores promedio \pm EE obtenidos en el análisis de biometría hemática al momento de la captura en granja y de la descarga en procesadora de pollos tratados con el modulador alostático.	55
Cuadro 2.3	Valores de pH, temperatura ($^{\circ}$ C) y color en filetes de pechuga con y sin la adición de un modulador alostático previo al manejo <i>antemortem</i>	61
Cuadro 2.4	Pérdida diaria por goteo, fuerza de corte y merma por cocción en pechugas de pollo almacenadas a 4 $^{\circ}$ C y procedentes de pollos de engorda que recibieron un modulador alostático previo al manejo <i>antemortem</i>	64

LISTA DE FIGURAS		Página
Figura 1	Estructura del ácido ascórbico	21
Figura 2	Estructura del ácido acetilsalicílico	23
Figura 1.1	Asociación de tratamientos en el agua de bebida con la presencia de lesiones en las canales.	38
Figura 2.1	Porcentaje de jadeo y mortalidad en los tratamientos al arribo de la planta procesadora en las aves que consumieron el modulador alostático 48 horas antes de su envío a la planta procesadora.	51
Figura 3.1	Promedios \pm EE de actividad de catalasa en plasma de pollos de engorda que consumieron un modulador alostático vía agua de bebida antes del manejo <i>antemortem</i>	74
Figura 3.2	Efecto del modulador alostático (MA) en los niveles de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en pechugas de pollo (Músculo <i>Pectoralis major</i>) almacenadas en refrigeración (4 °C) durante 15 días.	77
Figura 3.3	Efecto del modulador alostático (MA) en los valores promedios de ABTS \pm Error Estándar para evaluar la capacidad antioxidante de pechugas de pollo (Músculo <i>Pectoralis major</i>) almacenadas en refrigeración (4 °C) durante 15 días.	78
Figura 3.4	Efecto del modulador alostático (MA) en los niveles de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en piernas de pollo (Músculo <i>Biceps femoris</i>) almacenadas en refrigeración (4 °C) durante 15 días.	78
Figura 3.5	Efecto del modulador alostático (MA) en los valores promedios de ABTS ⁺ \pm Error Estándar, para evaluar la capacidad antioxidante de piernas de pollo (Músculo <i>Biceps femoris</i>) almacenadas en refrigeración (4 °C) durante 15 días.	79

- Figura 3.6** Promedios del conteo microbiano en pechugas de pollos (Músculo *Pectoralis major*), sacrificados a los 49 días de edad, pertenecientes a dos estirpes comerciales, tratados con el modulador alostático (MA) y almacenadas en refrigeración (4 °C) durante 15 días. **82**
- Figura 3.7** Promedios del conteo microbiano de piernas de pollos (Músculo *Biceps femoris*), sacrificados a los 49 días de edad, pertenecientes a dos estirpes comerciales, tratados con el modulador alostático (MA) y almacenadas en refrigeración (4 °C) durante 15 días. **83**

DETERMINACIÓN DEL BIENESTAR EN POLLOS MEDIANTE BIOMARCADORES FISIOLÓGICOS, CARACTERIZACIÓN DE LA CARNE Y UN MODULADOR ALOSTÁTICO COMO ALTERNATIVA EN LA REDUCCIÓN DEL ESTRÉS ANTEMORTEM

1. ANTECEDENTES

El incremento de la población mundial ha traído consigo la necesidad de producir más alimentos, de tal forma que los actuales sistemas de producción avícola, se han enfocado en hacerlo en el menor tiempo posible; para lograr ésto, paulatinamente el hombre ha modificado el medio ambiente de las aves. El incremento de la densidad de población y la reducción de los ciclos productivos son claros ejemplos de estas modificaciones; sin embargo, aun cuando los avicultores se esfuerzan en proporcionar bienestar a los animales, ésto no siempre sucede y en ocasiones las aves son expuestas a diversas situaciones que las alteran durante su manejo de rutina (Estevez, 2007; Škrbić et al., 2005; Jayalakshmi et al., 2009).

Actualmente el bienestar animal tiene una gran importancia para los consumidores en Europa y Norte América, y particularmente se enfoca en el transporte de los animales vivos; de acuerdo con Broom (1986) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (**OIE**, 2007) el bienestar animal se define como el estado en que el animal tiene satisfechas sus necesidades fisiológicas, de salud y de comportamiento frente a cambios en su ambiente, generalmente impuestos por el ser humano; en ocasiones esto se puede lograr con poco esfuerzo y gasto de energía. Cuando ésto no se cumple se considera que el animal se

somete a estrés. Por muchos años, el estrés ha sido reconocido como la respuesta inespecífica frente a cualquier estímulo que tiende a alterar la relación huésped-agente-medio ambiente mejor conocida como homeostasis; y ésta se define como un conjunto de fenómenos fisiológicos que intentan mantener el equilibrio interno y ayudan al organismo a restaurar su estado normal cuando éste ha sido alterado (Seyle and Fortier, 1950).

No obstante, cuando el desgaste en un individuo sometido a estrés es constante, prolongado o cuando implica un sobre esfuerzo se le denomina Alostasis (McEwen, 2000); este concepto es definido como un proceso de adaptación para mantener activamente el equilibrio a través de múltiples cambios en los mecanismos fisiológicos; los cuales al ser constantes generan un cúmulo de efectos fisiológicos, condición que se conoce como carga alostática y su respuesta involucra tanto a la predisposición genética, como a la conducta y el medio ambiente que rodea al individuo (Korte et al., 2005; Stewart, 2006; Herring and Gawlik, 2007; Romero et al., 2009). La evaluación de la carga alostática puede llevarse a cabo mediante múltiples biomarcadores fisiológicos relacionados con la actividad metabólica, cardiovascular, inflamatoria, actividad del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (**HPA**) y sistema nervioso simpático (**SNS**) (Minton, 1994; McEwen, 2008; Korte et al., 2005)

Condiciones medioambientales y de manejo rutinario realizadas en las aves como son: sistemas de alojamiento (Kun et al., 2009), cambios de temperatura (Borges et al., 2003, 2004), aumento en la densidad de población (Estevez, 2007; Jayalakshmi et al., 2009), programas de ayuno (Savenije et al., 2002), captura y enjaulado (Aksit et al., 2006),

transportación (Kannan et al., 1997; Vecerek et al., 2006.), despunte del pico (Struwe et al., 1992), aplicación de vacunas (Amakyme-Anim et al., 2000), etc., tienen un amplio potencial para desencadenar estrés, alterar el bienestar animal y en consecuencia activar los ejes HPA y medular-simpático-adrenal. Ambos sistemas juegan un papel preponderante en aumentar la carga alostática y mejorar el control de la homeostasis (Grandin, 1997; Romero et al., 2009; Rostango, 2009).

Las condiciones estresantes se han relacionado con un grado de actividad secretoria por parte de la glándula adrenal, por lo general en la médula adrenal se activa la liberación de catecolaminas (epinefrina y norepinefrina) con el objetivo de incrementar la frecuencia cardíaca, la vasoconstricción, la broncodilatación y el metabolismo, y así movilizar las reservas de energía (glucógeno) útiles en una respuesta rápida o de huida; sin embargo, si esta situación se prolonga, el hipotálamo secretará el factor liberador de la corticotrofina (**CRH**), que activa en la hipófisis o pituitaria la secreción de la hormona adrenocorticotrófica (**ACTH**) que actuará sobre la corteza adrenal y producirá glucocorticoides, [corticosterona (**CORT**) y cortisol] con el fin de movilizar las reservas corporales (grasas, proteínas) y producir glucosa vía gluconeogénesis, provocando en los pollos pérdida de peso así como inmunosupresión. La liberación de corticosteroides no es un proceso autorregulado, por lo que si un agente estresante no deja de ejercer su efecto, la carga alostática se irá acumulando hasta desarrollar patologías e inclusive la muerte del animal por fatiga (Minton et al., 1994; McFarlane et al., 1989a; Romero et al., 2009; Rostango, 2009). Generalmente el incremento en la concentración plasmática de CORT/cortisol, epinefrina y norepinefrina se considera indicativo de una situación

estresante, dicho incremento está íntimamente relacionado con un decremento en la funcionalidad de las células del sistema inmune, lo cual es muy perjudicial para el desarrollo de los animales (McFarlane et al., 1989b; Minton, 1994; Puvadolpirod and Thaxton, 2000a,b,c,d; Ozaslan et al., 2004; McEwen, 2008)

Simultáneamente durante los periodos de estrés, la digestión y absorción de los nutrientes del alimento no se realiza de una manera adecuada y debido a ésto el animal depende en gran medida de sus reservas corporales (Puvadolpirod and Thaxton, 2000d). Ante una alta necesidad de energía, el glucógeno muscular y hepático son enviados a la circulación como glucosa; cuando estas reservas se agotan, las proteínas se desdoblan en aminoácidos glucogénicos y cetogénicos principalmente, los cuales después de una desaminación también forman parte de la fuente de energía para la supervivencia del animal (Hazelwood, 1986; McFarlane et al., 1989; Khassaf et al., 2003; Nijdam et al., 2005; Romero et al., 2009). Ante una condición de estrés la energía corporal se enfoca en mantener las funciones vitales de órganos como el cerebro, hígado, corazón, pulmón y riñón para no poner en riesgo la supervivencia del animal; lo anterior deja en segundo término funciones menos importantes para la vida como son el desarrollo muscular y la reproducción (Herring and Gawlik, 2007), afectando así la productividad de las parvadas.

Estudios realizados para determinar la cantidad de estrés presente en una granja durante la rutina de manejo han presentado resultados diversos y dificultad en su interpretación desde el punto de vista del bienestar animal (Moura et al., 2006). Minton (1994) menciona que los animales en cautiverio pueden estresarse por estrés psicológico (acorrallamiento, manejo o

novedad) o bien por estrés físico (hambre, sed, fatiga, daño o cambios extremos de temperatura). La respuesta a estos factores es el miedo y la intensidad de la respuesta depende en gran medida de la forma en cómo el animal percibe esa experiencia (Moura et al., 2006; Romero et al., 2009). El miedo se describe como una emoción universal en el reino animal y todos los vertebrados pueden estar condicionados a él; sin embargo, la pérdida de este condicionamiento es muy difícil debido en gran medida a que se requiere que el animal suprima de su memoria al miedo por la vía de un proceso activo de aprendizaje (Romero et al., 2009). Un simple evento adverso puede provocar una fuerte condición de la respuesta al miedo. Si el miedo se asocia a factores genéticos como el temperamento, ambos interactúan de manera compleja en su respuesta a las experiencias vividas y los animales aprenderán a determinar cómo reaccionar durante un manejo o experiencia en particular (Minton, 1994; Romero et al., 2009).

El desarrollo de grandes complejos productivos en la avicultura trae consigo la necesidad de transportar a las aves para ubicarlas en las plantas de procesamiento y/o zonas de venta; mismas que en ocasiones se encuentran a gran distancia de las áreas de producción. Bajo estas condiciones en particular las aves son expuestas a una gran variedad de factores que les generan estrés durante el transporte, entre las cuales se encuentran las demandas térmicas, generadas por el microclima cambiante a lo largo de las diferentes zonas geográficas durante el traslado (temperatura-humedad-ventilación), movimientos (por aceleración y vibración del vehículo), así como golpes o ruidos. Todo esto, aunado a los manejos que se llevan a cabo en las granjas previo al transporte como son: agrupación, captura, enjaulado, programas de restricción alimenticia y retiro de agua en muchas

ocasiones por periodos prolongados; en conjunto, generan una alta carga alostática afectando a las aves (Kannan et al., 1997; Mitchel and Kettlewell, 1998; Zulkifli et al 2000; Savenije et al., 2002; Vecereck et al., 2006; Whiting et al., 2007). Diversos estudios han comprobado que las condiciones actuales del transporte de animales vivos comprometen su bienestar, provoca mortalidad, daños en las canales y afecta la calidad de la carne disminuyendo con ésto la rentabilidad de las empresas (Kannan et al., 1997; Northcutt, 2001; Savenije et al., 2002; Akşit et al., 2006; Vecerek et al., 2006; Vierira et al., 2011); lo anterior ha llevado a los países de la Unión Europea a legislar bajo qué condiciones se debe realizar el transporte, con el principal objetivo de no comprometer el bienestar de los animales (The European Committee on Animal Health and Animal Welfare, 2000).

Existen manejos donde se involucran cambios repentinos e intensos que desencadenan temor. El término temor, ha sido descrito como un tipo de estrés de corta duración donde no se reportan cambios en los niveles de CORT, tamaño de órganos linfoides, etc. (Nassem et al., 2005; Romero et al., 2009). Sin embargo, sí se encuentran alteraciones como taquicardia y parálisis transitoria (conocida como inmovilidad tónica), estas situaciones se observan más a menudo al momento de la captura y enjaule, y pueden ser minimizadas mediante un manejo correcto de los animales y con ello reducir su estado de tensión (Duncan et al., 1986). Duncan (1986) comparó el procedimiento de captura manual con el sistema mecánico, y observó que ambos procedimientos ocasionan temor y taquicardia; no obstante, en el caso de las aves manipuladas mecánicamente observó que éstas retornan a la normalidad más rápidamente y presentan menor tiempo de inmovilidad tónica.

Cotidianamente los animales son expuestos a diversos factores estresantes y cada uno de ellos produce un determinado efecto sobre la productividad; lo anterior depende en gran medida de la intensidad del mismo, así como del número de factores que se presenten durante un período (McFarlane et al., 1989ab; Romero et al., 2009). Estudios realizados por McFarlane et al. (1989a) reportaron que cuando los pollos de engorda son sometidos a diversos factores estresantes (amoníaco, despunte del pico, coccidiosis, descarga eléctrica, calor y ruido) éstos repercuten negativamente sobre los parámetros productivos, reduciendo ganancia de peso, consumo de alimento y eficiencia alimenticia; siendo el factor ruido el que reportó menor efecto sobre estos parámetros. En este estudio la conducta de los pollos también fue evaluada, mediante el registro del tiempo que las aves dedicaron a actividades como comer, beber y mantenerse en pie. Estos cambios en la conducta se reflejan directamente en la productividad; ya que cuando las aves son expuestas a estrés, éstas reducen el tiempo que se mantienen de pie y por lo tanto el tiempo que destinan para acercarse al comedero y al bebedero con el fin de comer y tomar agua; afectando directamente el desarrollo y la productividad de la parvada. En otro estudio hecho por Johnson et al. (1991) se evaluó la exposición a diversos factores estresantes a una edad temprana de los pollos y su efecto sobre los parámetros productivos al exponerlos posteriormente al mismo y a un diferente estrés. Los factores utilizados fueron dos niveles de amoníaco (0 y 125 ppm) con exposición a 30 y 36 °C de temperatura durante su desarrollo; los resultados mostraron que los efectos combinados de estos dos factores son mayores que la suma de los efectos individuales que cada uno provoca por separado, indicando un efecto aditivo. Los resultados de este estudio también sugirieron que la

respuesta de los pollos al estrés no necesariamente es inhibida por una exposición previa al factor estresante.

Comúnmente las empresas avícolas llevan a cabo el cuidado del pollo de manera meticulosa hasta lograr su peso de venta; no obstante, sólo algunas empresas integradas han puesto mayor atención en el manejo de aves vivas a la venta y al sacrificio, considerando que todo manejo con ellas incrementa la posibilidad de dañarlas. Diversos estudios han demostrado que el control sobre estos manejos previo al sacrificio tiene como principal objetivo reducir al mínimo las mermas desde la salida de los pollos de la granja hasta el procesamiento, así como ofrecer al consumidor un producto de alta calidad y mejorar el bienestar animal durante este manejo generador de alta carga alostática (Barbut, 1997; Kannan et al., 1998; Fletcher et al., 2000; Van Laack et al., 2000; Savenije et al., 2002; Northcutt et al., 2003; Alvarado and Sams, 2004).

Lo anterior ha provocado la necesidad de desarrollar y aplicar alternativas que ayuden al pollo a tener una respuesta favorable, buscando tratamientos que mantengan el bienestar animal, reduzcan la pérdida de peso y que a la vez favorezcan la calidad de la canal, reduciendo el crecimiento bacteriano y el daño muscular. Dentro de las opciones más estudiadas para el control o disminución de los efectos del estrés se encuentran el ácido ascórbico (AA), el cual ha mostrado una amplia evidencia que bajo condiciones estresantes, mejora la productividad, la respuesta inmune, la resistencia a enfermedades y la sobrevivencia (McKee and Harrison, 1995; Amakyme-Anim et al., 2000; Puthpongsiriporn

et al., 2001; Khassaf et al., 2003; Tyler and Cummins, 2003; Nassam et al., 2005 ; Yonka et al., 2009; Pohanka et al., 2012).

1.1 Alternativas para el control del estrés

Ácido ascórbico

El AA es una vitamina hidrosoluble conocida también como vitamina C (**Figura 1**), a la cual se le han atribuido múltiples efectos y aplicaciones; el AA es una lactona de un azúcar-ácido derivado del ácido gulónico que se sintetiza a partir de la glucosa. Es esencial en diversas funciones del organismo como son el desarrollo y mantenimiento del tejido conectivo y formación de hueso. Es necesario en diversas funciones metabólicas como la activación de vitaminas B y ácido fólico, así como en la conversión del colesterol en ácidos biliares, y en la conversión de aminoácidos; además es un importante antioxidante que protege al cuerpo de la acción de los radicales libres (Chihuailaf et al., 2002; Iqbal et al., 2004). El AA es ampliamente utilizado como agente terapéutico en diversas enfermedades, debido a que protege al sistema inmune y ayuda en la lucha del organismo contra diversas infecciones. Gross (1988), reportó una disminución en la presencia de lesiones macroscópicas severas producidas por infecciones de *E. coli* en aves sometidas a estrés ambiental al adicionarles AA.

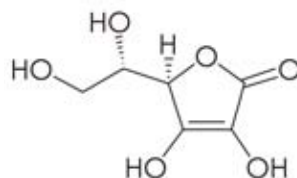


Figura 1
Estructura del ácido ascórbico o vitamina C

Aun cuando las aves tienen la capacidad de sintetizar AA en el riñón, esto no es suficiente bajo condiciones de estrés, debido a que éste se requiere para inhibir la producción de CORT. El AA actúa inhibiendo las enzimas 21-hidroxilasa y 11 β hidroxilasa necesarias para la producción de CORT (Harvey et al., 1986). Estudios realizados indican que el confinamiento, infecciones y/o transporte de animales incrementa los niveles plasmáticos de CORT, reduciendo los niveles de ascorbato en 1 ó 2 días aproximadamente, lo que conlleva a la necesidad de brindar un suplemento de AA ante una condición estresante (Tyler and Cummins, 2003). Se ha reportado que la adición de AA a 150 ppm en aves expuestas a diversos estresantes como el despunte del pico, coccidiosis y calor, indujo mayor ganancia de peso, mejor eficiencia alimenticia y reducción en la relación heterófilos:linfocitos (**H:L**) (McKee and Harrison, 1995; Khassaf et al., 2003) y ayudó a mantener las reservas corporales de energía durante los períodos de ayuno (McKee and Harrison, 1997). El AA no es el único elemento que se debe adicionar para evitar el estrés; investigaciones han demostrado que todas las vitaminas deben incrementarse en la dieta si los animales están bajo estas circunstancias. En general, las vitaminas amplían su mecanismo de acción durante la tensión al proteger al tejido inmune, disminuir el daño oxidativo e incrementar la producción y diferenciación celular (Qureshi, 1998; Puthongsiriporn et al., 2001), mejorando así el bienestar del animal.

Ácido Acetilsalicílico

El ácido acetilsalicílico (**ASA**) pertenece al grupo de los fármacos analgésicos, antiinflamatorios no esteroideos (**AINEs**) también con propiedades antipiréticas. El poder de penetración de los AINEs en los tejidos depende de su disociación, y esto se facilita en

pH ácidos, como el de los líquidos sinoviales de las articulaciones, donde los AINEs penetran y se depositan con facilidad, siendo allí más larga su vida media en comparación con la sanguínea. Su principal mecanismo de acción es mediante la reducción en la producción de la enzima ciclooxygenasa (**COX-2**) también conocida como prostaglandina sintetasa, necesaria para la síntesis de prostaglandinas (**PGE**) (Vane and Botting, 2003; Candelario-Jalil et al., 2006). Por acción de la fosfolipasa, los fosfolípidos se transforman en ácido araquidónico, el cual mediante la actividad de la COX-2 producirá PGE. Éstas además de ser las responsables del dolor (efecto analgésico), también actúan en el centro termo-regulador del hipotálamo (efecto antipirético) (Balog et al., 2000; Nassem et al., 2005; Rohleder, 2008; Roussan et al., 2008). El ASA ha demostrado ser de gran ayuda en situaciones de estrés, particularmente en estrés calórico (Nassem et al., 2005; Roussan et al., 2008).

El ASA (**Figura 2**) en combinación con el AA aumenta su efecto inhibitor sobre la síntesis de PGE, sugiriendo que esta combinación hace más notable la inhibición de COX-2 permitiendo una terapia con dosis bajas de ASA. (Candelario-Jalil et al., 2006).

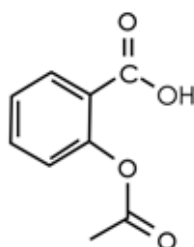


Figura 2
Estructura del ácido acetil salicílico

Electrolitos

Los electrolitos, considerados otro punto importante de ayuda en el tratamiento del estrés, son minerales necesarios para el correcto desarrollo de diversas funciones de las células. Los electrolitos se ingieren principalmente con los alimentos y los líquidos de la dieta; y se eliminan, en su mayor parte, a través de los riñones, sistema digestivo y piel. Electrolitos como el cloro, el sodio y el potasio junto con las vitaminas y los minerales traza son componentes importantes de enzimas y hormonas que ayudan a controlar los procesos fisiológicos vitales del cuerpo animal. El balance o equilibrio hídrico (aportes-eliminación de líquidos orgánicos), en general, es más importante en animales con altos rendimientos productivos o enfermos (Borges et al., 2003). Todos los líquidos corporales están determinados por el balance de electrolitos; éste y el agua corporal, deben ser vistos de manera conjunta debido a que la concentración de electrolitos se afecta cuando se pierde agua, como en el caso de deshidratación y sangrado, así como por un acelerado ritmo respiratorio en caso de estrés calórico (Borges et al., 2003; Borges et al., 2004; Ahmad and Sarwar, 2006).

Por lo anterior, la adición de un modulador alostático (**MA**), conteniendo una combinación de 50 mg de AA, 62.5 mg de ASA y 251 micro equivalentes (**μEq**) de Na⁺, K⁺ y Cl⁻ por litro (**L**) de agua de bebida, puede ser de gran ayuda para minimizar la carga alostática y brindar bienestar a las aves evitando que enfermen y mueran. Los componentes del modulador alostático en su conjunto pueden ayudar a controlar la liberación de mediadores como la CORT manteniéndola en niveles donde se logre la homeostasis, además de controlar la pérdida de peso por el calor generado durante el transporte, minimizando la

deshidratación y el gasto de energía corporal. La reducción en la carga alostática favorecerá el bienestar animal reduciendo al mínimo la muerte de animales durante el transporte, además de evitar la reducción en la calidad del producto final destinado a consumo humano. La vía ideal de administración del MA es a través del agua de bebida, ya que por lo general cuando se presenta un periodo de estrés y se desencadena la liberación de CORT, el consumo de alimento se disminuye, no así el consumo de agua, el cual se mantiene o bien se incrementa (Puvadolpirov and Taxon, 2000d).

Actualmente la industria avícola mexicana se encuentra ante un gran reto de integración industrial y comercial. De acuerdo a la Unión Nacional de Avicultores de México (2014), la producción de pollo de engorda en nuestro país es de 2'905,489 toneladas al año, ocupando el séptimo lugar en producción a nivel mundial, con una tasa de crecimiento anual de 1.8% y un consumo per cápita de 28 kg (de los cuales el 88.6% son de producción nacional). La carne de pollo representa el 50% del consumo total de carnes en el país, lo que genera gran interés para producir canales de calidad. La venta de pollo en canal es la principal forma de comercialización de acuerdo al siguiente tipo de clasificación: 26% rosticero, 19% mercados públicos, 12% supermercados, 6% en piezas y 4% en productos con valor agregado y solo el 33% de los pollos se comercializan vivos (Unión Nacional de Avicultores México, 2014). México necesita ser más competitivo no sólo por los tratados que ha suscrito con diferentes países y regiones del mundo, sino también en el ámbito de un mercado nacional cada vez más global que exige un producto de más calidad a menor precio; por lo que la cuantificación y reducción de mermas por pérdida de peso, mortalidad y decomisos ayudará en gran medida en el aspecto de la competitividad brindando

productos de alta calidad sin dejar de lado el bienestar de los pollos de engorda, particularmente en esta etapa crítica de su manejo. Alternativas que modulen la carga alostática en los pollos de engorda permitirán mejorar la calidad de la carne, el bienestar de las aves y la productividad de la industria avícola.

2. HIPÓTESIS

El modulador alostático favorecerá el bienestar animal mediante la reducción de la carga alostática por manejo previo al envío a la planta de procesamiento, mejorando la calidad de la canal del pollo de engorda y con reducción de mermas.

3. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de un modulador alostático suministrado a los pollos de engorda durante los manejos previos al envío a la planta de procesamiento sobre la calidad de la canal y reducción de mermas.

Para cumplir con el objetivo anterior se desarrollaron 3 experimentos en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (**CEIEPAv**) perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (**FMVZ**) de la Universidad Nacional Autónoma de México (**UNAM**). Este centro está localizado en la Ciudad de México, Delegación Tláhuac a una altura de 2,250 msnm, 19 ° 17 'de latitud Norte y en el meridiano 99° 02' 30" Oeste. Cuenta con clima templado húmedo, temperatura promedio anual de 16 °C. Siendo enero el mes más frío y mayo el más caluroso. Todos los experimentos se desarrollaron previa aprobación del protocolo por el Subcomité Institucional para el

Cuidado y Uso de Animales Experimentales del Posgrado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal de la FMVZ-UNAM.

EXPERIMENTO 1.

APARIENCIA Y CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA CANAL DE POLLO CON ADICIÓN DE UN MODULADOR ALOSTÁTICO PREVIO A SU MANEJO ANTEMORTEM

1. 1 INTRODUCCIÓN

Uno de los manejos más importantes y de mayor impacto en la engorda del pollo al final de su ciclo productivo, es el proceso de carga y transporte del mismo cuando ya está listo para su venta al mercado. Dicho manejo inicia con la aplicación de un programa de ayuno; el cual consiste en retirar el alimento antes de iniciar la captura y el enjaulado de los pollos, y puede ser modificado, según la duración del viaje y el tiempo de espera de las aves en la planta de procesamiento antes del sacrificio. Sin embargo, el ayuno debe tener un máximo de 8 a 12 horas (**h**). Este manejo desencadena una condición de estrés asociada principalmente a la falta de alimento antes de la captura y enjaulado de los pollos; no obstante, se utiliza para reducir la probabilidad de contaminación de la canal durante el procesamiento mediante un adecuado vaciado del tracto gastrointestinal (**TGI**), favoreciendo la calidad microbiológica de ésta y prolongando su vida de anaquel (Northcutt, 2001; Castañeda y Rubio, 2012). Sin embargo, el periodo de ayuno así como una estancia prolongada en el camión, ya sea en tránsito o en espera de ser descargados

puede causar grandes pérdidas de peso, especialmente en tiempos de calor (Kannan et al., 1997; Khassaf et al., 2003).

Por otra parte, los periodos de ayuno prolongados (>14 h) se han asociado a mayor incidencia de contaminación durante el sacrificio, particularmente por el derramamiento del contenido de buche o del TGI hacia la canal. Demostrando que durante la evisceración el contenido derramado por el buche puede ser la fuente de contaminación por enteropatógenos más significativa, siendo incluso mayor que la producida por el contenido intestinal (Gross, 1988; Biligili, 2002; Sams, 2002; Northcutt et al., 2007). Pollos de engorda sometidos a ayuno, presentan una disminución en la producción de lactato y ácidos grasos de cadena corta en el buche; esta condición permite un incremento de pH en este órgano favoreciendo la supervivencia y colonización de patógenos microbianos (Hinton Jr. et al., 2000a,b; Northcutt, 2001; Avila et al., 2003; Rostango, 2009). La prevención de la contaminación en la canal es considerado un punto crítico dentro de los planes de control de calidad en la planta de procesamiento (Northcutt, 2001). Por lo anterior, es importante diseñar estrategias para evitar que el ayuno incremente el pH del buche y se favorezca la colonización con patógenos.

De igual forma el procedimiento de la carga tan rápido como sea posible, obliga a los trabajadores a enjaular a los pollos muchas veces sin el debido cuidado, sufriendo éstos un fuerte estrés al momento de la captura, carga y transporte, desencadenando así mayor aleteo; el cual favorece un incremento de fracturas o dislocaciones, lesiones en la piel, hemorragias y hematomas en algunas zonas de la canal, condiciones que se ponen de

manifiesto frecuentemente después del procesamiento y ocasionan decomisos que pueden ser parciales o totales, incrementado las mermas (Bilgili, 1992; Kannan et al., 1997; Jayalakshmi et al., 2009; Kun et al. 2009). El presente estudio fue realizado para evaluar la utilidad de un MA para reducir los efectos negativos causados por el estrés *antemortem* en pollos de engorda en la apariencia y calidad microbiológica de la canal sin afectar el bienestar de los animales.

3.1 OBJETIVOS PARTICULARES

3.1.1. Cuantificar el grado de bienestar en pollos de engorda con el uso del modulador alostático durante su envío a planta de procesamiento.

3.1.2. Valorar la adición del modulador alostático en la cantidad de aves muertas al arribo a la planta de procesamiento.

3.1.3. Cuantificar la presencia y tipo de lesiones en canales de pollos de engorda con y sin la adición del modulador alostático antes del manejo a la carga.

3.1.4. Determinar el efecto del modulador alostático en el pH del buche y calidad microbiológica de la canal.

4.1 MATERIAL y MÉTODOS

4.1.1 Diseño experimental

Un total de 600 pollos de engorda mixtos de un día de edad, fueron alojados en una caseta convencional abierta, equipada con cama de viruta de madera nueva y limpia, criadoras cónicas infrarrojas, comederos manuales y bebederos de campana. Los pollos fueron alojados hasta el día 49 de edad recibiendo agua y alimento a libre acceso. La mortalidad durante este periodo fue de 5% (30 pollos en total). Los pollos de engorda pertenecientes a dos estirpes comerciales manejadas en México: Cobb 500 y Ross 308 de aquí en adelante denominadas como L1 y L2, fueron sometidos a dos programas de ayuno: ayuno normal de 10 h y ayuno prolongado de 16 h, recibiendo 2 tratamientos en el agua de bebida: una adicionada con el MA (MA) y un testigo sin MA (TE); todo esto bajo un arreglo factorial 2 x 2 x 2, utilizando 8 tratamientos con 3 réplicas de 25 pollos cada una. La formulación del MA consistió en una combinación de 50 mg de AA, 62.5 mg de ASA, y 251 μEq de Na^+ , K^+ y Cl^- por L de agua de bebida. El MA se administró a libre acceso 48 h previo al envío de los pollos de engorda a la planta de procesamiento comercial, la cual se localiza a 10 Km del CEIEPAv.

4.1.2 Transporte y sacrificio de los animales

Los pollos fueron capturados, enjaulados y enviados a la planta de procesamiento comercial. Para evitar sesgos durante el transporte y el procesamiento de los animales, 10 pollos de cada tratamiento fueron tomados aleatoriamente de las tres réplicas experimentales, y colocados en jaulas de transporte debidamente identificadas para cada tratamiento; las jaulas fueron colocadas de manera equitativa para todos los tratamientos en

las diferentes secciones del camión (extremos y parte media). La parvada fue enviada a la planta de procesamiento a las 6:30 a.m. con una temperatura local de 8 °C y 68 % de humedad relativa. Previo al sacrificio, las aves fueron aturdidas eléctricamente utilizando 25 Volts, 0.02 amperes y 400 Hertz, causando un estado de inconsciencia previo a su muerte por degüello.

4.1.3 Evaluaciones antemortem

Al arribo a la planta de procesamiento, se registraron los tiempos de carga, transporte y de espera en andén; así como la cantidad de pollos jadeando y muertos al arribo. Durante los procesos de aturrido y degüello se contabilizaron las aves que presentaron aleteo y movimiento de cabeza, como indicadores de bienestar, de acuerdo a las recomendaciones para pollos destinados a la producción de carne (The European Committee on Animal Health and Animal Welfare, 2000).

4.1.4 Mediciones de pH en buche

Posterior al desplumado, aleatoriamente se tomaron 30 canales por tratamiento para medir el pH del buche. Brevemente el pH fue medido introduciendo un pH-metro portátil a través de una incisión vertical (~1 cm) realizada en la porción proximal del buche. Antes de las mediciones el pH-metro fue calibrado utilizando una solución buffer a pH 7.0 de acuerdo a las recomendaciones del fabricante (Digital Pocket pH meter, Model 501, Mannix Testing & Measurement, Taiwan).

4.1.5 Evaluación de la calidad microbiológica de las canales

Para simular la ruptura y la consecuente contaminación microbiana, las canales con la incisión en el buche fueron evisceradas manualmente (n=30 por tratamiento). Posteriormente, 10 de estas canales evisceradas por tratamiento, fueron seleccionadas aleatoriamente para la evaluación de la calidad microbiológica. Las canales se colocaron en una bolsa de plástico estéril conteniendo 100 mL de una solución buffer de fosfatos (**PBS**), dando un breve masaje a la canal con esta solución de enjuague durante un minuto; posteriormente, la canal se sacó de la bolsa y la solución de enjuague fue almacenada a 4 °C (Northcutt et al., 2007; Demirok et al., 2013) hasta su envío al Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves, FMVZ-UNAM. A su arribo al laboratorio, se hicieron diluciones decuples seriadas. A partir de las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} se tomó 1 mL, para sembrarlo en medios de cultivo para el conteo de mesófilos aerobios (RIDA[®] COUNT Total) y coliformes (RIDA[®] COUNT Coliform) de acuerdo a las instrucciones del fabricante (R-Biofarm AG, Darmstadt, Germany). Las placas fueron incubadas por 48 h a 37 °C. Después de la incubación, las unidades formadoras de colonia (**UFC**) fueron contabilizadas para determinar la carga bacteriana de las canales.

4.1.6 Evaluación de lesiones en las canales

Todas las canales (n=57-73) fueron revisadas sistemáticamente para clasificar y cuantificar visualmente las lesiones presentes de acuerdo a los parámetros establecidos en el Manual de Clasificación de Pollos de Engorda (USDA, 1998). La presencia y ausencia de lesiones en cada canal fue registrada para estimar su frecuencia.

4.1.7 Análisis estadístico

Los resultados de las mediciones del pH del buche y los conteos bacterianos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) utilizando un arreglo factorial 2 x 2 x 2. Los resultados de interacción sólo se mostraron cuando fueron significativos ($P \leq 0.05$). La diferencia entre medias se determinó mediante la prueba de Tukey utilizando el programa STATISTIX 9.0, Analytical Software (Tallahassee, FL, USA). Los conteos de las UFC fueron transformadas logarítmicamente previo a su análisis para lograr la homogeneidad de varianza y se expresaron como \log_{10} UFC/mL. Los resultados de las evaluaciones *antemortem* y las frecuencias de lesiones en canal fueron sometidas a un Análisis Factorial de Correspondencia utilizando el programa estadístico XLSTAT 2012 v. 2.01 (Addinsoft SARL, New York, USA).

5.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1.1 Mediciones de pH en buche

El pH del buche ha sido considerado uno de los factores más importantes que modifican la población bacteriana de este órgano (Hinton et al., 2000a,b). Cuando los pollos se encuentran bajo programas de ayuno, se reduce la producción de lactato y ácidos grasos de cadena corta en los buches; esta situación incrementa de 0.5 a 1.0 unidad el pH en este órgano, favoreciendo así la colonización y supervivencia de patógenos microbianos (Hinton et al., 2000a,b; Northcutt, 2001; Avila et al., 2003; Rostango, 2009). Por lo anterior, es importante diseñar estrategias para reducir el pH del buche y evitar su colonización con bacterias patógenas como método de control de calidad microbiológica de la canal. En el presente estudio, los pollos de engorda tratados con el MA mostraron una reducción ($P =$

0.0001) del pH del buche cuando se compararon con el grupo TE. En conjunto, los pollos del grupo TE presentaron valores de pH entre 5.09 y 4.88, mientras que las aves bajo un tratamiento con el MA mostraron valores de entre 4.52 y 4.12 (**Cuadro 1.1**). Interesantemente, bajo las presentes condiciones experimentales, no hubo diferencia ($P = 0.7960$) en el pH del buche entre los programas de ayuno de 10 h y 16 h, sugiriendo que el pH del buche no sufre modificaciones por la aplicación de un programa de ayuno prolongado. Efectos similares fueron observados en el pH ($P = 0.9528$) del buche de las dos estirpes comerciales evaluadas (L1 y L2). Estos resultados indicaron que la adición del MA en el agua de bebida redujo el pH del buche independientemente del programa de ayuno y de la línea genética de las aves (**Cuadro 1.1**). Cabe destacar que de acuerdo con lo mejor de nuestro conocimiento, ninguno de los ingredientes (AA, ASA, Na^+ , K^+ y Cl^-) del MA, solo o en combinación, han sido previamente asociados con la capacidad para reducir el pH del buche.

Este efecto puede ser atribuido a la capacidad del MA para reducir el pH del agua de bebida. Para verificar esta idea, se midió el pH del agua de la llave adicionada con el MA y se obtuvo una reducción de 2.0 unidades de pH comparada con el agua de la llave sin adicionar (pH de 5.7 y 7.7 respectivamente). Todo esto indica que el tratamiento con el MA puede ser una herramienta importante en la reducción del pH del buche durante los programas de ayuno y por lo tanto como posible medida de prevención en la colonización de patógenos en este órgano. Estudios posteriores podrían ser realizados con el fin de valorar el efecto del MA en la reducción de bacterias enteropatógenas de importancia en salud pública.

5.1.2 Calidad microbiológica de las canales

Los programas de ayuno son utilizados en la industria avícola previo al procesamiento de los pollos de engorda con el objetivo de vaciar el TGI y prevenir la contaminación de la canal con contenidos intestinales y/o heces (Hinton et al., 2000b; Northcutt, 2001; Rostango, 2009). Se ha reportado que programas de ayuno mayores de 12 h, incrementan la carga alostática y el pH del buche con un subsecuente incremento de los conteos bacterianos en la superficie de la canal (Hinton et al., 2000a,b; Northcutt, 2001; Avila et al., 2003). Por lo tanto, se espera que la reducción del pH de los buches provenientes de pollos de engorda tratados con el MA, genere una reducción en la carga bacteriana de las canales. De acuerdo con lo anterior, el recuento de coliformes en canales provenientes de los tratamientos con el MA fueron menores ($P = 0.014$) cuando se compararon con los grupos TE (**Cuadro 1.1**). De igual forma, se observó que el conteo total de mesófilos en las canales se redujo ($P = 0.0001$) en los tratados con el MA comparados con TE (**Cuadro 1.1**). Resultados similares con relación a la contaminación de la canal han sido reportados por Byrd (2001) y Ávila (2003) adicionando un acidificante al agua de bebida. Interesantemente, también en los resultados de esta investigación, se observó que el tratamiento con el MA, en animales bajo programa de ayuno convencional (10 h) y prolongado (16 h), ocasionó una disminución en el conteo de coliformes y mesófilos ($P = 0.003$ y $P = 0.0004$; respectivamente) en las canales, ésto independientemente de la estirpe comercial utilizada ($P > 0.86$; **Cuadro 1.1**). Por lo anterior, el uso de una combinación compuesta por AA, ASA, Na^+ , K^+ y Cl^- , y administrada en el agua de bebida, reduce la carga bacteriana de las canales de pollo de engorda. Todos los resultados en su conjunto

indican que el tratamiento con el MA puede ser una herramienta útil para mejorar la calidad microbiológica de las canales.

5.1.3 Evaluación de lesiones en las canales

Para determinar la relación entre el efecto del tratamiento y la cantidad de lesiones presentes en las canales, se realizó un análisis factorial de correspondencia. Para este análisis la matriz de datos fue construida utilizando como factores los tratamientos (MA y TE), así como las lesiones observadas en las canales tanto de manera unilateral como bilateral; dentro de las cuales se encuentran principalmente lesiones en piernas, lomo, pigostilo, pechuga, cuello y alas, así como rasguños, fracturas y decomiso total de la canal. El análisis reveló una fuerte asociación (Inercia = 0.738) entre tratamientos y la presencia de lesiones ($P = 0.015$; **Figura 1.1**). El análisis factorial de correspondencia explicó el 57.66% de la varianza en los dos ejes, mostrando que la frecuencia de cada lesión en las canales puede estar directamente asociada con el uso del MA y el programa de ayuno utilizado. Específicamente en esta figura, la distancia entre los tratamientos y las lesiones reflejaron el nivel estadístico de asociación; en consecuencia, también se denotó una débil asociación de los tratamientos ubicados en cuadrantes diferentes. Además, se observó que la presencia de lesiones en ala, ala con fractura unilateral, así como lesiones en lomo están fuertemente asociados con los tratamientos TE con ayunos de 10 h. Por otra parte, lesiones bilaterales en las alas están fuertemente asociados con 16 h ayuno en el grupo TE (**Figura 1.1**). Estos resultados indican que el tratamiento con el MA mostró una asociación estadística menor, con la presencia de lesiones en las canales; indicando que la

suplementación del MA en el agua de bebida es útil para reducir la presentación de lesiones en las canales.

5.1.4 Evaluaciones antemortem

En México, los tiempos de transporte a las plantas procesadoras pueden ser mayores a 4 horas, lo cual es considerado como un viaje largo (Castañeda y Rubio, 2012). En este estudio, el tiempo registrado fue menor a 2 h (4 min de carga, 32 min para el transporte y 68 min de espera en andén) lo que permitió la ausencia de jadeo en andén, descarga y colgado en ganchos. El porcentaje de muerte al arribo fue de 0.17% (un pollo del tratamiento L1-16 TE). La baja mortalidad durante la carga y transporte son considerados indicadores importantes de bienestar y pueden afectarse por condiciones como clima y época del año (Kannan et al., 1997; Ask et al., 2006; Vecerek et al., 2006; Whiting et al., 2007; Vieira et al., 2011); este estudio se desarrolló durante el invierno con 9.5 °C y 69 % de humedad relativa, estos factores y el corto tiempo de transporte a planta procesadora favorecieron la ausencia de jadeo y muerte al arribo indicando bienestar durante la realización de estos manejos *antemortem*. Durante el procesamiento también se contabilizó el número de aves aleteando y levantando la cabeza tanto al aturdido como al degüello. Los tratamientos aplicados no tuvieron efecto en los parámetros de bienestar medidos ($P = 0.944$, Inercia 0.086) en ambas estirpes comerciales (**Cuadro 1.2**); probablemente debido a que las aves fueron manejadas con cuidado, tratando de generar el menor estrés posible. Sin embargo, resultados obtenidos en trabajos de campo realizados en una granja y rastro comercial, demostraron que la adición del MA disminuyó 1.5% el aleteo en el área de colgado en ganchos (Rubio et al., datos no publicados).

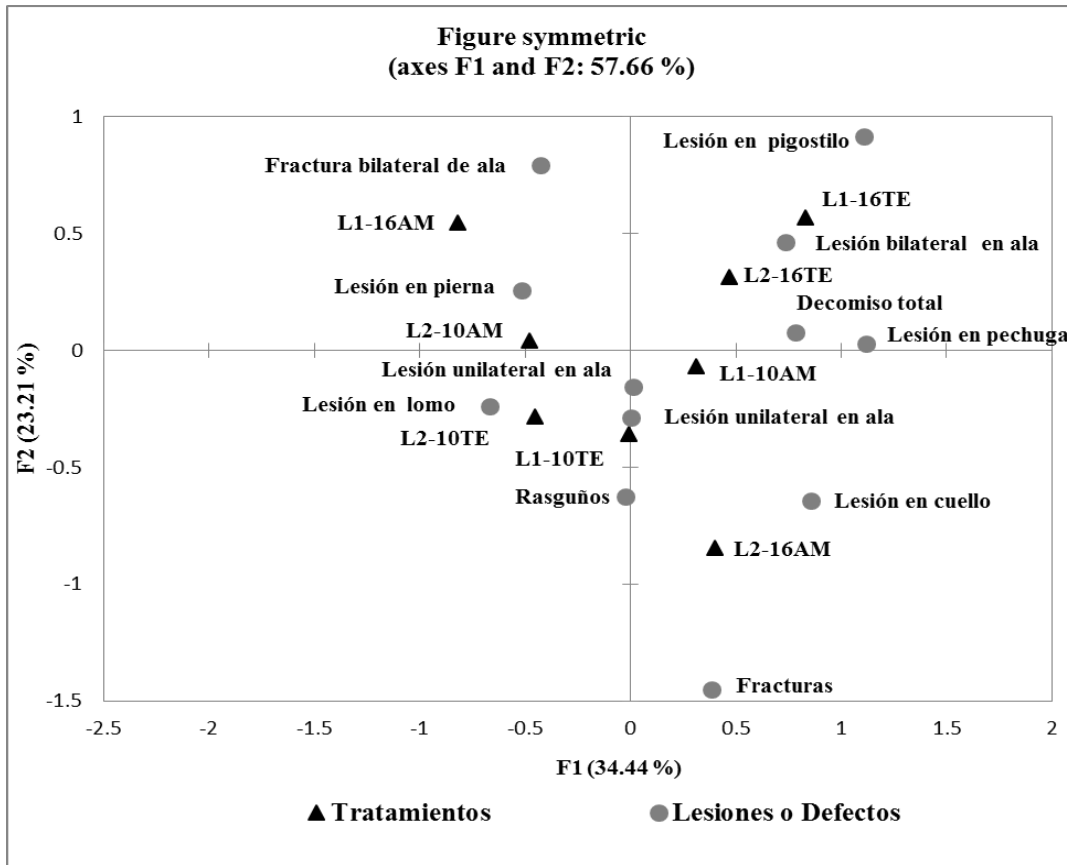


Figura 1.1

Asociación de tratamientos adicionados el agua de bebida con la presencia de lesiones en las canales.

Cuadro 1.1.

Promedios \pm EE obtenidos del pH del buche y conteos microbianos de canales procedentes de pollos sacrificados a los 49 días de edad, pertenecientes a dos estirpes comerciales, tratados con el modulador alostático¹ y sometidos a dos programas de ayuno

Tratamientos	Estirpes	Ayuno	MA	pH buche \pm EE	UFC/mL Log ₁₀ \pm EE	
					Coliformes	Mesófilos Totales
L1-10 TE	L1	10	TE	5.09 \pm 0.09 ^a	6.66 \pm 0.08 ^a	7.05 \pm 0.04 ^{ab}
L1-10 AM	L1	10	MA	4.52 \pm 0.10 ^{bc}	6.19 \pm 0.06 ^b	6.62 \pm 0.05 ^c
L1-16 TE	L1	16	TE	4.94 \pm 0.15 ^{ab}	6.20 \pm 0.10 ^b	6.77 \pm 0.08 ^b
L1-16 AM	L1	16	MA	4.12 \pm 0.08 ^c	5.28 \pm 0.60 ^c	6.56 \pm 0.16 ^c
L2-10 TE	L2	10	TE	5.08 \pm 0.09 ^a	6.32 \pm 0.08 ^a	7.11 \pm 0.13 ^a
L2-10 AM	L2	10	MA	4.34 \pm 0.09 ^c	6.21 \pm 0.03 ^b	6.72 \pm 0.06 ^b
L2-16 TE	L2	16	TE	4.88 \pm 0.11 ^{ab}	6.03 \pm 0.16 ^c	6.66 \pm 0.09 ^b
L2-16 AM	L2	16	MA	4.35 \pm 0.12 ^c	5.87 \pm 0.11 ^c	6.50 \pm 0.09 ^c
		MA		0.0001	0.014	0.0001
		Ayuno		0.796	0.003	0.0004
		Estirpe		0.952	0.868	0.990
		n		30	10	10

¹Al día 47, los pollos recibieron agua de bebida adicionada con el modulador alostático (MA conteniendo 50 mg de ácido ascórbico, 62.5 mg de ácido acetilsalicílico y 251 μ Eq de Na⁺, K⁺ y Cl⁻ por L de agua); 10 h = programa de ayuno convencional; 16 h = programa de ayuno prolongado; MA = agua adicionada con el MA; TE = Testigo sin MA; L1 y L2= estirpes comerciales y EE = error estándar. Diferentes literales entre filas denotan significancia estadística (P < 0.05).

Cuadro 1.2

Frecuencia de movimientos de cabeza y alas como indicadores de bienestar en pollos de engorda a los 49 días de edad, pertenecientes a dos estirpes comerciales y tratados con el modulador alostático 48 h antes de su envío a procesamiento.

Tratamientos	Aturdido		Degüello		Número de pollos
	Aleteo	Movimiento de Cabeza	Aleteo	Movimiento de Cabeza	
L1-10 TE	4	4	7	8	65
L1-10 MA	3	3	6	3	61
L1-16 TE	3	2	10	5	68
L1-16 MA	2	2	5	2	65
L2-10 TE	3	4	5	2	57
L2-10 MA	2	2	9	4	69
L2-16 TE	1	7	8	7	71
L2-16 MA	1	4	5	5	73
Total de observaciones					529

MA= Modulador Alostático (50 mg de ácido ascórbico, 62.5 mg de ácido acetilsalicílico y 251 μ Eq de Na^+ , K^+ and Cl^- por L de agua); 10 h = programa de ayuno convencional; 16 h = programa de ayuno prolongado; MA = agua adicionada con el MA; TE = Testigo sin MA, L1 y L2= estirpes comerciales.

EXPERIMENTO 2.

EFFECTOS DE UN MODULADOR ALOSTÁTICO ADMINISTRADO EN EL AGUA DE BEBIDA PREVIO A LOS MANEJOS ANTEMORTEM EN LOS BIOMARCADORES FISIOLÓGICOS DE ESTRÉS Y CALIDAD DE LA CARNE DE POLLO.

1.2 INTRODUCCIÓN

Al final del ciclo productivo, los pollos de engorda inevitablemente son expuestos a estrés crónico (conocido como alostasis) cuando son dietados, capturados, enjaulados y transportados a la planta de procesamiento. Este manejo *antemortem* causa una carga alostática que puede afectar la calidad de la canal (Akşit et al., 2006; Škrbić et al., 2009); principalmente relacionado con las limitadas reservas de energía (glucógeno hepático y muscular) en el pollo. En hígado el glucógeno se reduce al mínimo con solo 6 horas de ayuno y la reserva energética en el músculo continuará disminuyendo conforme el ayuno avanza (Northcutt, 2001), lo cual afectará el color, la textura y la funcionalidad de los músculos. La base de estos cambios se debe al metabolismo *postmortem* y al desarrollo del rigor mortis después del procesamiento. Los cambios en el metabolismo muscular producidos por estrés antes del sacrificio, predisponen a la pérdida por goteo, a la presentación de carne pálida, suave y exudativa (**PSE**) caracterizada por presentar color pálido, reducida capacidad de retención de agua y suave consistencia. Este daño también produce pérdidas importantes, debido al rechazo de los consumidores causado por la gran cantidad de líquido presente en el empaque y por la pobre funcionalidad de las proteínas

cuando la canal se destina a la manufactura de productos procesados. En aves la carne pálida se evalúa utilizando una medida de color expresada en términos de los valores CIE- $L^*a^*b^*$ para luminosidad, rojos y amarillos (Kannan et al., 1998; Le Bihan-Duval et al., 1999; Cavitt et al., 2004). Además del color, el estrés *antemortem* también puede afectar la textura, provocar cambios en los tiempos de cocción y suavidad de la carne (Sams, 1999; Barbut, 1997; Kannan et al., 1998; Fletcher et al., 2000; Van Laack et al., 2000; Alvarado and Sams, 2004).

La importancia del bienestar animal puede ser vista desde diferentes enfoques como son el ético, legal, cultural, salud, educacional o religioso; no obstante, el impacto económico tiene un papel preponderante cuando se habla de bienestar en los sistemas de producción (Anderson and Koelkebeck, 2007; Molina, 2010). Teniendo en cuenta que todo aquello que es medible es más fácil de mejorar, para los sistemas de producción contar con mecanismos que permitan determinar el impacto del estrés en la producción serán de gran utilidad; de ahí que tanto biomarcadores fisiológicos como conductuales, puedan ser determinados para utilizarlos con este fin. Dentro de las valoraciones más comúnmente utilizadas como indicadores fisiológicos del bienestar animal se encuentran: temperatura corporal, frecuencia cardíaca, recuento de células sanguíneas, ácido úrico (**AU**), proteínas totales (**PT**), glucosa (**GLU**), **CORT**, enzimas como la creatinquinasa (**CK**) y la aspartato aminotransferasa (**AST**), lactato, así como valoraciones de interleucinas (**IL1** e **IL6**) en suero, se han considerado indicativas de la presencia de infecciones secundarias por una carga alostática severa (Mitchell and Kettlwell, 1998, Puvadolpirov and Taxon, 2000a,b,c). Diversos estudios en aves comerciales se han realizado para determinar la concentración

plasmática de CORT y han demostrado que los niveles de ésta y la relación H:L de la sangre se incrementa en las aves después de ser expuestas a una condición de estrés (Zulkifli et al., 2000; Post et al., 2003).

Durante el transporte de las aves se estimula la liberación de glucagón, se incrementa la lipólisis, las concentraciones plasmáticas de ácidos grasos no esterificados y los niveles de CK en el suero, como resultado del daño tisular (músculo) que se genera en este manejo (Mitchell and Kettlwell, 1998). No obstante, el principal factor que induce estrés fisiológico durante el transporte es la temperatura. La combinación de movimiento de aire y temperaturas desencadena estrés por frío o calor durante el transporte; sin embargo, el estrés térmico por calor ha sido reconocido hasta ahora como el agente principal que incrementa la mortalidad, reduce la productividad, afecta la calidad de la canal, así como el bienestar de los animales (Dunnington et al., 1987; Kannan et al., 1997; Mitchell and Kettlwell, 1998). Estudios realizados por Mitchell (1990) mostraron que un incremento de humedad relativa del 20 al 80% con una temperatura de 28 °C en el vehículo de transporte, puede generar un aumento en la carga de calor corporal para los pollos equivalente a 0.42 °C/hora de tránsito, desencadenando así una mayor necesidad de ventilación. Dunnington (1987) por otra parte reportó que pollos bien emplumados pueden presentar mayor confort térmico sobre un amplio rango de temperaturas ambientales, e indicó que el estrés por calor en pollos bien emplumados se puede minimizar con un adecuado control del movimiento del aire, aun cuando el vehículo que los transporta se encuentre en movimiento o en reposo. El presente estudio fue realizado para evaluar la utilidad de un MA en la reducción de los

efectos negativos causados por el estrés *antemortem* en pollos de engorda mediante biomarcadores fisiológicos de estrés y por su efecto en la calidad de la carne de pollo.

3.2 OBJETIVOS PARTICULARES

3.2.1. Seleccionar biomarcadores fisiológicos para medir estrés en pollos de engorda previo a su envío a planta de procesamiento con y sin el uso de un modulador alostático.

3.2.2. Determinar si la suplementación de un modulador alostático modifica las características funcionales de la carne de pollo.

4.2 MATERIAL y MÉTODOS

4.2.1 Diseño experimental

Seiscientos pollos de engorda mixtos y de un día de edad fueron alojados en una caseta abierta convencional, equipada con cama de viruta nueva y desinfectada, así como con criadoras, comederos manuales de tolva y bebederos de campana. Los pollos fueron divididos aleatoriamente en 4 tratamientos con 6 réplicas de 25 pollitos cada uno, recibiendo alimento y agua a libre acceso. Las aves pertenecientes a las estirpes comerciales Cobb 500 y Ross 308 (denominados L1 y L2 respectivamente) fueron criadas hasta el día 49 de edad, divididas en 2 tratamientos; uno adicionando el agua de bebida con el MA (**MA**) y un testigo sin MA (**TE**), bajo un diseño factorial 2 x 2. Una combinación con 50 mg de AA, 62.5 mg de ASA y 251 μEq de Cl^- , Na^+ y K^+ por L de agua fue utilizada

como MA y fue administrada en el agua de bebida con uso continuo y a libre acceso 48 horas antes del manejo *antemortem*.

4.2.2 Transporte y sacrificio de los animales

Antes de la captura, todos los pollos fueron sometidos a un programa de ayuno de 10 h y fueron cargados manualmente al camión de transporte. Las cajas de transporte fueron identificadas colocando en cada caja 10 pollos por réplica de cada tratamiento. Las jaulas se distribuyeron en el camión de manera equitativa para todos los tratamientos (parte media y extremos del camión). Para simular el transporte en movimiento, el camión se mantuvo circulando durante 1 hora en los alrededores del CEIEPAv antes de iniciar el sacrificio. La parvada se procesó en el rastro del centro experimental a las 8:00 a.m. con una temperatura local de 21 °C y 68.5 % de humedad relativa. Previo al sacrificio, las aves fueron aturdidas eléctricamente utilizando 25 Volts, 0.02 amperes y 400 Hertz, causando un estado de inconsciencia previo a su muerte por degüello.

4.2.3 Índices bioquímicos y niveles de corticosterona en plasma

Los pollos fueron sangrados en dos ocasiones, una antes de iniciar la captura en granja y otra al momento de descargar las aves en la planta de procesamiento, un total de 30 muestras de sangre por cada tratamiento fueron colectadas de 5 pollos por réplica. Las aves se sujetaron con ambas manos para minimizar el estrés por este manejo, colocándolas gentilmente en posición supina, las muestras fueron tomadas por punción de la vena braquial utilizando viales estériles (1.2 mL Heparin Monovette (66x8.5) Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Germany) y conservándolas a 4 °C hasta su procesamiento en el

Departamento de Patología Clínica, FMVZ-UNAM. Antes del análisis, las muestras fueron centrifugadas a 1,000 g durante 10 min en una centrifuga refrigerada (4 °C); una vez obtenidas las muestras de plasma éstas fueron congeladas a -20 °C en tubos de polipropileno (tubos de ensayo Eppendorf) hasta realizar el análisis de: AST, CK, GLU, AU, PT, albúmina, lactato y CORT. Las mediciones fueron desarrolladas utilizando los siguientes Kits comerciales [AST/GOT, CK-NAC, Glucose/GOD-PAP, Albumin, L-Lactate, Total Protein, y Uric Acid (Randox Laboratories Ltd., Co, Antrim, UK)], la absorbancia fue medida en un espectrofotómetro (Spectrophotometer, Model Junior Serie 6-9151, Vital Scientific, Dieren, Netherlans) con el filtro adecuado para cada prueba y de acuerdo a las recomendaciones del kit comercial.

Las concentraciones de CORT fueron evaluadas en un total de 18 muestras de plasma por cada tratamiento (3 pollos por réplica) el análisis fue realizado en el Departamento de Reproducción, FMVZ-UNAM, utilizando el kit comercial Corticosterone EIA-Kit (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA), la sensibilidad del ensayo fue de 0.04 ng/mL, con un coeficiente de variación (CV) intra-ensayo de 7.30 % para la dosis baja (0.075 ng/mL) y 2.61 % para la dosis alta (1.30 ng/mL) de la muestra control. Las reacciones cruzadas del anticuerpo fueron: 0.06 % con aldosterona, 0.18 % con cortisol y 7 % con 11-desoxicorticosterona. Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro con un filtro de 410 nm (Microplate Reader, Model MRX, Dynatech Laboratories, Denkendorf, Germany); todos los análisis se realizaron al mismo tiempo.

4.2.4 Índices hematológicos

Adicionalmente, se tomaron otras 12 muestras de sangre (2 pollos por réplica) de cada tratamiento antes de iniciar la captura en granja y al momento de descargar las aves en la planta de procesamiento. Las muestras se obtuvieron de la vena braquial y la sangre completa fue colectada en viales estériles comerciales conteniendo EDTA como anticoagulante (1.2 mL EDTA Monovette (66x8.5) Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Germany). Éstos fueron transportados inmediatamente a 4 °C al Departamento de Patología Clínica, FMVZ-UNAM donde se realizó el perfil hematológico de acuerdo a la técnica descrita por Charles (2003). El análisis incluyó: Hematocrito, eritrocitos, leucocitos, linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos, trombocitos y relación heterófilos:linfocitos (H:L).

4.2.5 Evaluaciones de calidad de la carne

4.2.5.1 Mediciones de temperatura y pH de la carne

Se evaluó la temperatura y el pH en 48 muestras por tratamiento (8 por réplica) del músculo pectoral mayor derecho. Las mediciones fueron hechas utilizando un pH-metro adaptado con una punta especial de acero inoxidable con sensor de temperatura. El pH-metro fue calibrado con 2 buffers -pH 7 y pH 4 ± 0.02- antes de realizar las mediciones (Portable pH and Temperature-Meter, Model HI99163 501, Hanna Instruments, Nusfalau, Salaj, Romania). El pH de los músculos fue medido antes del tanque de enfriamiento (pH_i), después del tanque de enfriamiento (pH_m) y 24 h *postmortem* (pH_u). La punta del electrodo del pH-metro se insertó en el centro del músculo, aproximadamente 1 cm por debajo de la

superficie en la porción craneal. La temperatura del músculo pectoral mayor fue medida de la misma forma y al mismo tiempo que el pH.

4.2.5.2 Presencia de carne pálida.

Aproximadamente 1 h post-mortem, 48 pechugas fueron deshuesadas; los lados derechos de éstas fueron utilizados para medir el color en la superficie interna del músculo pectoral mayor, las lecturas se tomaron en la parte media de la sección craneal del músculo. Las mediciones fueron realizadas con un Colorímetro de reflectancia (Modelo CR-400, Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japan) previamente calibrado con una placa blanca y utilizando el iluminante C, observador de 2 grados y un área de medición de 8 mm. El color fue expresado en términos de la escala CIE-LAB para luminosidad (L^*), rojos (a^*) y amarillos (b^*).

4.2.5.3 Pérdida por goteo en músculo pectoral mayor

La pérdida por goteo fue determinada con la sección izquierda del músculo pectoral mayor procedente de las pechugas deshuesadas. Cuarenta y ocho muestras de cada tratamiento (8 por réplica) fueron identificadas y colgadas individualmente en una bolsa estéril de plástico, manteniéndolas en una cámara frigorífica a 4 ± 1 °C. Las muestras fueron pesadas a las 0, 24, 48 y 72 horas de refrigeración para calcular la pérdida por goteo durante este tiempo de almacenamiento. Antes de cada pesaje se retiró el exceso de los fluidos superficiales. Finalmente la pérdida por goteo fue expresada en gramos y como porcentaje total de peso perdido con relación al peso inicial de cada muestra.

4.2.5.4 Determinaciones de merma por cocción y suavidad de la carne

Para determinar suavidad de la carne, se utilizó el método de Warner Bratzler (**W-B**), de acuerdo a la guía de la American Meat Science Association (AMSA, 1995). La evaluación se realizó en 18 pechugas deshuesadas por tratamiento (3 por réplica), las cuales se mantuvieron a 4 °C durante 24 horas, con la finalidad de permitir el desarrollo de los procesos bioquímicos asociados al rigor mortis y lograr mejor terneza. Las muestras fueron enviadas al Laboratorio de Ciencia de la Carne del Centro de Enseñanza, Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (**CEPIPSA**) de la FMVZ-UNAM donde se realizó el estudio. Antes de cocinar las pechugas en una parrilla eléctrica, se dejaron a temperatura ambiente hasta alcanzar una temperatura interna de 14 °C. Para su cocimiento se colocaron en la parrilla eléctrica hasta lograr 35 °C de temperatura y posteriormente se voltearon para finalizar su cocción a los 70 °C. A continuación, las muestras se dejaron en reposo hasta llegar a una temperatura de 24 °C a 25 °C. El seguimiento de las temperaturas de cocción se realizó con un termómetro digital (Check Temp, Model HI-151, Hanna Instruments, Nusfalau, Salaj, Romania). Finalmente, a partir de la sección craneal de cada pechuga y con un sacabocado eléctrico se obtuvieron de 6 a 8 cilindros de 1.27 cm de diámetro, con orientación paralela a la dirección de las fibras musculares; éstos fueron cortados en una máquina W-B con una velocidad de 20 cm/min, 50 N de fuerza y se obtuvo una media por muestra. La pérdida por cocción fue determinada evaluando la diferencia entre el peso inicial y peso final de la cocción, expresada en porcentaje.

4.2.6. Análisis estadístico

Los resultados de corticosterona, índices bioquímicos y hematológicos, temperatura y pH de la carne, pérdida por goteo del músculo pectoral mayor, color de la carne así como fuerza de corte y porcentaje de pérdida por cocción de la carne fueron sometidos a un ANOVA utilizando un arreglo factorial 2 x 2. Los resultados de interacción solo se mostraron cuando fueron significativos ($P \leq 0.05$). Previo a su análisis y para lograr la homogeneidad de varianza los valores de CORT y porcentaje de pérdida por cocción fueron sometidos a una transformación logarítmica y por raíz cuadrada respectivamente. La diferencia entre medias se determinó mediante la prueba de Tukey utilizando el programa STATISTIX 9.0, Analytical Software (Tallahassee, FL, USA).

5.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.2.1 Transporte y sacrificio de los animales

El tiempo utilizado durante la carga, el transporte activo (circulando el camión) y la espera en planta de procesamiento fue de 41, 60 y 120 minutos respectivamente, dando un total de 3:41 horas. La temperatura del transporte fue de 22 °C en el centro del camión y 19 °C en el exterior. A su llegada a planta de procesamiento se midió porcentaje de mortalidad y de pollos jadeando; éste último fue menor en los grupos tratados con el MA en las dos líneas comerciales utilizadas al compararlas con TE. Solo se presentó un ave muerta en el tratamiento L2-TE el cual no presentó lesiones macroscópicas aparentes (**Figura 2.1**).

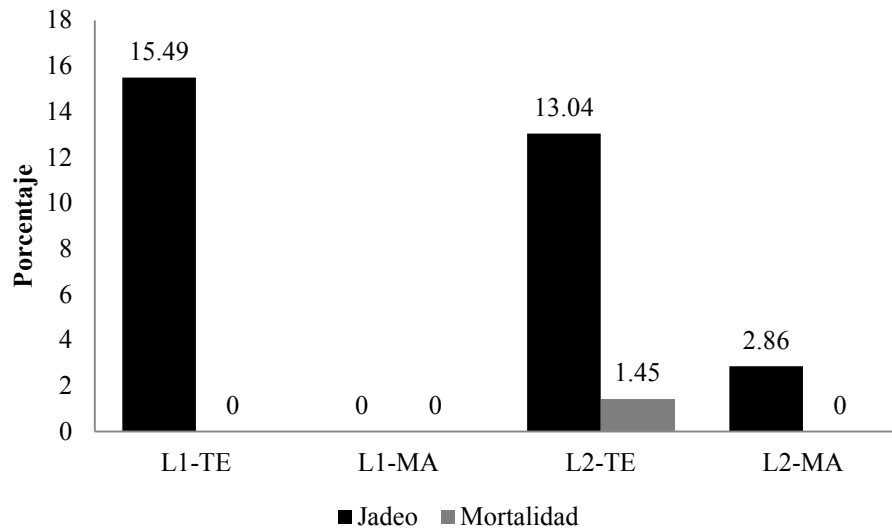


Figura 2.1

Porcentaje de jadeo y mortalidad en los tratamientos al arribo de la planta procesadora.

La mortalidad durante la carga y el transporte son considerados indicadores importantes de bienestar durante estos manejos y generalmente se afectan por condiciones climáticas, tiempo de transporte y espera en andén (Akşit et al., 2006; Vecerek et al., 2006); en este estudio el corto tiempo utilizado durante estos manejos, así como las condiciones climáticas favorecieron la baja mortalidad; mientras que el jadeo se redujo de manera importante por el uso del MA.

5.2.2 Índices bioquímicos y niveles de corticosterona en plasma

Los índices bioquímicos plasmáticos (**Cuadro 2.1**) evaluados en granja incluyeron un manejo *antemortem* por programa de ayuno y el inicio de la captura, los resultados mostraron diferencia por uso del MA sólo en los niveles de GLU y lactato. Los niveles de

lactato fueron menores en L1-TE ($P = 0.001$), L2 no presentó esta diferencia por uso del MA, indicando únicamente un efecto por línea comercial ($P = 0.002$). Los niveles de lactato en plasma fueron numéricamente más altos en granja probablemente debido al ayuno y manejo previo al transporte (Vošmerová et al., 2010). En lo referente a los niveles de GLU en granja, éstos fueron menores por uso del MA en L1 ($P = 0.001$), mostrando un efecto de interacción por MA*L ($P = 0.002$); no obstante, en planta procesadora los niveles de GLU fueron aún más bajos que los de granja en todos los tratamientos, L2 reportó los menores niveles de GLU ($P = 0.001$) sin modificarse por el uso del MA. En este estudio todos los niveles de GLU fueron menores al promedio normal reportado para pollos de engorda de entre 24.97 a 30.57 mmol/L (Charles, 2003), debido al estrés *antemortem*. La reducción en los niveles de GLU se ha reportado como un balance energético negativo después de los manejos *antemortem* provocado principalmente por un incremento en las demandas de energía durante el transporte y espera en andén, donde la fuente inicial de energía es la oxidación de la GLU, condición que puede agravarse por el incremento de la temperatura corporal durante estos manejos (Nijdam et al., 2005). La reducción en los niveles de GLU después de una condición de estrés ha sido reportada por diversos autores; sin embargo, no todos reportan esta diferencia (Puvadolpirov and Taxon, 2000a; Sandoval et al., 2000; Nijdam et al., 2005; Romero et al., 2009).

Los principales indicadores de daño muscular son AST y CK (Brunelli, 2004; Tao et al., 2011). Los niveles de estas dos enzimas no reportaron diferencia entre tratamientos ($P > 0.05$); sin embargo, se observó un incremento en los niveles de ambos índices en las muestras obtenidas en planta procesadora, lo cual puede vincularse a estrés más severo

(ayuno, enjaulado, carga, transporte y descarga). Lo anterior se relaciona con el incremento en los niveles de CORT en este periodo de evaluación, siendo mayores para L2 comparados con L1 ($P = 0.049$); sin embargo, ambas líneas comerciales disminuyeron niveles de CORT en plasma cuando recibieron el MA ($P = 0.051$; **Cuadro 2.1**). La CORT aumenta el catabolismo proteico, acelera la degradación de tejidos linfoides y conjuntivo, a nivel hepático aumenta el metabolismo del glucógeno y la gluconeogénesis a partir de aminoácidos al incrementar la actividad de desaminasas y aminotransferasas, también se ha relacionado con una disminución en la cantidad de AA de las adrenales (Harvey et al., 1986; Sandoval et al., 2000; Nijdam et al., 2005). Por lo anterior, el uso del MA puede ser de gran ayuda para reducir los niveles de CORT ante una condición de estrés *antemortem* y así no afectar el metabolismo energético de animal, evitando con ello dañar al tejido muscular y mejorar la calidad de la canal.

El ácido úrico no presentó diferencias entre tratamientos ($P > 0.05$). Los valores de proteínas totales muestran un efecto por línea comercial en las muestras de planta procesadora, presentado L2 niveles más altos que L1 ($P = 0.001$); no obstante, todos los resultados se encuentran dentro de los valores normales de 30 a 60 g/L. Los valores de albúmina estuvieron por arriba de 14 g/L, considerados como normales en todas las evaluaciones; además se presentó un efecto de interacción por MA*L ($P = 0.040$; **Cuadro 2.1**). Lo anterior está posiblemente relacionado con un estado de deshidratación por la falta de acceso de agua durante la carga y transporte (Charles, 2003).

Cuadro 2.1.

Valores promedio \pm EE obtenidos de los índices bioquímicos y corticosterona al momento de la captura en granja y de la descarga en planta procesadora a partir de pollos tratados con el modulador alostático

Tratamientos	Glucosa	AST	Creatinquinasa	Ac. Úrico	Prot. Total	Albúmina	Lactato	Corticosterona	
Estirpe	MA	mmol/L	U/L	U/L	μ mol/L	g/L	mmol/L	ng/mL	
Granja									
L1	TE	15.8 \pm 0.1 ^a	247.4 \pm 6	11,687 \pm 944	325.3 \pm 15	37.6 \pm 0.6	19.2 \pm 0.4	6.2 \pm 0.3 ^b	0.13 \pm 0.01
L1	MA	14.3 \pm 0.2 ^c	241.6 \pm 1	10,606 \pm 1,416	334.1 \pm 13	45.2 \pm 11	17.8 \pm 0.7	7.9 \pm 0.3 ^a	0.21 \pm 0.05
L2	TE	15.3 \pm 0.2 ^a	238.7 \pm 9	7,781 \pm 1,000	343.3 \pm 16	41.0 \pm 1.04	18.5 \pm 0.5	7.8 \pm 0.2 ^a	0.26 \pm 0.30
L2	MA	15.0 \pm 0.2 ^{ab}	241.7 \pm 8	10,248 \pm 1,585	353.3 \pm 18	39.1 \pm 1.2	19.1 \pm 0.4	8.0 \pm 0.3 ^a	0.20 \pm 0.03
	MA	0.001	0.92	0.59	0.55	0.57	0.48	0.001	0.814
<i>P</i> =	L	0.63	0.46	0.10	0.24	0.79	0.64	0.002	0.291
	MA*L	0.002	0.81	0.17	0.97	0.35	0.06	0.014	0.223
Planta Procesamiento									
L1	TE	14.2 \pm 0.2 ^a	286.1 \pm 10	12,297 \pm 1,567	275.0 \pm 11	36.0 \pm 0.8 ^b	17.6 \pm 0.3 ^b	6.4 \pm 0.3	0.69 \pm 0.3 ^b
L1	MA	14.0 \pm 0.2 ^a	301.2 \pm 11	15,168 \pm 2,011	246.3 \pm 14	35.3 \pm 0.8 ^b	17.2 \pm 0.4 ^b	6.8 \pm 0.3	0.21 \pm 0.1 ^c
L2	TE	13.2 \pm 0.3 ^b	265.1 \pm 9	11,512 \pm 1,990	296.3 \pm 17	39.3 \pm 0.7 ^a	20.5 \pm 0.7 ^a	6.8 \pm 0.3	1.21 \pm 0.2 ^a
L2	MA	13.2 \pm 0.3 ^b	282.6 \pm 13	10,398 \pm 1,355	296.2 \pm 17	39.3 \pm 0.9 ^a	18.2 \pm 0.4 ^b	7.1 \pm 0.3	0.76 \pm 0.3 ^b
	MA	0.59	0.14	0.62	0.34	0.63	0.005	0.20	0.051
<i>P</i> =	L	0.001	0.07	0.11	0.02	0.001	0.001	0.26	0.049
	MA*L	0.84	0.91	0.26	0.35	0.64	0.040	0.93	0.967

Los pollos fueron tratados con el modulador alostático (50 mg de ácido ascórbico, 62.5 mg de ácido acetilsalicílico y 251 μ Eq de Na⁺, K⁺ y Cl⁻ por L de agua) 48 h antes de su envío a planta de procesamiento MA = Modulador Alostatico; TE = Sin modulador alostatico; L = Estirpe comercial; EE = Error Estándar; AST = Aspartato aminotransferasa; Índices bioquímicos n = 30; Corticosterona n = 18, Diferentes literales entre filas denotan significancia estadística (P < 0.05) ANOVA Arreglo Factorial – Prueba de Tukey

Cuadro 2.2.

Valores promedio \pm EE obtenidos en el análisis de biometría hemática al momento de la captura en granja y de la descarga en procesadora de pollos tratados con el modulador alostático

Tratamientos		Hematocrito	Eritrocitos	Leucocitos	Heterofilos	Linfocitos	Monocitos	Eosinofilos	Basofilos	Trombocitos	Relación
L	MA	L/L	10 ¹² /L	10 ⁹ /L	10 ⁹ /L	10 ⁹ /L	10 ⁹ /L	10 ⁹ /L	10 ⁹ /L	10 ⁹ /L	H:L
Granja											
L1	TE	0.29 \pm 0.004	2.63 \pm 0.17	11.01 ^b \pm 0.27	4.02 ^a \pm 0.72	4.65 ^b \pm 0.58	1.71 \pm 0.66	0.35 \pm 0.04	0.35 \pm 0.09	8.33 \pm 0.75	1.16 \pm 0.38
L1	MA	0.31 \pm 0.007	2.57 \pm 0.07	8.73 ^b \pm 0.76	2.85 ^b \pm 0.40	4.44 ^b \pm 0.35	0.51 \pm 0.09	0.29 \pm 0.07	0.65 \pm 0.13	10.5 \pm 0.52	0.65 \pm 0.07
L2	TE	0.30 \pm 0.009	2.71 \pm 0.14	12.44 ^a \pm 0.16	4.42 ^a \pm 0.38	7.20 ^a \pm 0.44	0.81 \pm 0.13	0.35 \pm 0.08	0.67 \pm 0.11	9.12 ^b \pm 0.61	0.63 \pm 0.06
L2	MA	0.30 \pm 0.008	2.70 \pm 0.12	12.03 ^a \pm 0.66	3.67 ^b \pm 0.18	6.07 ^{ab} \pm 0.45	0.59 \pm 0.08	0.36 \pm 0.11	0.74 \pm 0.10	10.64 \pm 0.43	0.58 \pm 0.04
	MA	0.28	0.79	0.17	0.04	0.16	0.06	0.70	0.09	0.059	0.16
P =	L	0.75	0.44	0.02	0.20	0.0001	0.24	0.70	0.07	0.43	0.14
	MA*L	0.41	0.87	0.33	0.65	0.33	0.16	0.61	0.31	0.58	0.25
Planta Procesamiento											
L1	TE	0.31 \pm 0.008	2.42 \pm 0.07	9.9 ^{ab} \pm 0.47	2.87 ^a \pm 0.23	5.56 \pm 0.29	0.51 \pm 0.14	0.19 \pm 0.05	0.85 \pm 0.15	11.0 \pm 0.39	0.53 ^a \pm 0.04
L1	MA	0.31 \pm 0.01	2.81 \pm 0.11	9.99 ^{ab} \pm 0.61	2.49 ^b \pm 0.23	5.96 \pm 0.44	0.57 \pm 0.08	0.35 \pm 0.09	0.62 \pm 0.10	11.34 \pm 0.61	0.43 ^b \pm 0.04
L2	TE	0.30 \pm 0.01	2.77 \pm 0.07	11.26 ^a \pm 0.36	3.51 ^a \pm 0.31	6.34 \pm 0.29	0.52 \pm 0.09	0.39 \pm 0.12	0.71 \pm 0.11	10.43 \pm 0.70	0.57 ^a \pm 0.06
L2	MA	0.30 \pm 0.004	2.70 \pm 0.09	8.81 ^b \pm 0.89	2.56 ^b \pm 0.19	5.63 \pm 0.40	0.35 \pm 0.05	0.20 \pm 0.05	0.56 \pm 0.10	11.13 \pm 0.60	0.47 ^b \pm 0.03
	MA	0.88	0.08	0.06	0.01	0.67	0.54	0.68	0.11	0.38	0.04
P =	L	0.10	0.18	0.88	0.16	0.54	0.29	0.42	0.39	0.52	0.33
	MA*L	0.88	0.11	0.04	0.25	0.14	0.26	0.01	0.72	0.77	0.88

Los pollos fueron tratados con el modulador alostático (50 mg de ácido ascórbico, 62.5 mg de ácido acetilsalicílico y 251 μ Eq de Na⁺, K⁺ y Cl⁻ por L de agua) 48 h antes de su envío a planta de procesamiento. n=12, MA= Modulador Alostático; TE = Sin modulador alostático; L= Estirpe comercial; EE= Error Estándar
Diferentes literales entre filas denotan significancia estadística (P < 0.05) ANOVA Arreglo Factorial – Prueba de Tukey

5.2.3 Índices hematológicos

En los valores obtenidos para los Índices Hematológicos (**Cuadro 2.2**) se observa leucocitosis en todos los resultados. Los valores de granja mostraron un efecto por línea comercial ($P = 0.02$); sin embargo, en las muestras de planta de procesamiento solo se presentó efecto de interacción MA*L ($P = 0.04$), donde L2-MA tuvo los valores más bajos. En el caso de los linfocitos, L1 presentó valores menores ($P = 0.0001$) que L2 en las muestras de granja, no así en los valores obtenidos en procesadora. Las cuentas de heterófilos se encontraron por arriba del rango de 1.0 a 2.3 considerado como normal en pollos de engorda a los 49 días (Charles, 2003); no obstante, las aves que consumieron el MA reportaron promedios menores tanto en granja ($P = 0.04$) como en planta de procesamiento ($P = 0.01$). Lo anterior repercutió en la disminución de la relación H:L en pollos que consumieron el MA, particularmente en las muestras procedentes de la planta de procesamiento ($P = 0.04$); el resto de los índices hematológicos no presentó diferencia ($P > 0.05$). Diversos autores han reportado que condiciones de estrés provocan la liberación de corticosteroides, relacionado esto con cambios en las cuentas leucocitarias, principalmente linfopenia y heterofilia (Sturkie and Griminger 1986; McFarlane et al., 1989b,c; Zulkifli et al., 2000 ; Charles, 2003). Incrementos significativos de la relación H:L se han reportado en pollos de engorda sometidos a estrés por ayuno (Revidatti et al., 2001). En este estudio la adición del MA previo a los manejos antemortem ayudó a mantener los heterófilos y la relación H:L en rangos normales sugiriendo un efecto para contrarrestar el estrés. Resultados similares en la relación H:L así como en los porcentajes de linfocitos y heterófilos, fueron reportados por Borges et al. (2003) al incrementar el balance electrolítico de la dieta (240 mEq/kg alimento), así como también la adición de 1,200 ppm

de L-ácido ascórbico ayudando a mantener la relación H:L de 0.47 a 0.36 en los pollos tratados previo al manejo *antemortem* (Zulkifli et al., 2000), lo que sugiere mayor bienestar en las aves.

5.2.4 Evaluaciones de calidad de la carne

5.2.4.1 Mediciones de temperatura y pH de la carne

Las características de la carne pueden afectarse por estrés *antemortem* y por condiciones propias del procesamiento, provocando entre otras cosas mayor contracción muscular, glucólisis más rápida con mayor acumulación de ácido láctico y disminución rápida del pH muscular; estos cambios en el metabolismo *postmortem* del músculo se han relacionado con la presencia de carne pálida, convirtiéndose en biomarcadores importantes a ser considerados por el productor ya que determinarán la calidad de la carne (Van Laack et al, 2000; Remignon and Le Bihan-Duval, 2003; Barbut, 2009; Dadgar et al., 2011). En este estudio el pH_i de los músculos pectorales fue mayor para L1 ($P = 0.022$) observando un efecto de interacción por uso del MA en el pH_i (MA*L; $P = 0.0094$), únicamente el tratamiento L1-MA obtuvo un pH_i de 6.5 considerado como normal en carne de pollo posterior al sacrificio (Van Laack et al, 2000); el resto de los tratamientos presentaron un rango menor (6.39-6.35). Los valores pH_m no mostraron diferencia entre tratamientos ($P > 0.05$) siendo mayores a 6.1, valor esperado para el pH después del tanque de enfriado; indicando un correcto enfriado de la canal (Van Laack et al., 2000; Remignon and Le Bihan-Duval, 2003). Nuestros resultados en pH_u se reportaron en un rango de 5.70 a 5.74, presentando L2 el pH más alto ($P = 0.036$) con un efecto de interacción ($P = 0.005$) por MA*L (**Cuadro 2.3**), lo que indica que únicamente en ésta línea comercial el MA ayudó a

obtener un pH significativamente mayor, sin estar fuera de los rangos esperados. El valor esperado del pH en carne de pollo después de 24 h de refrigeración está en un rango de 5.7 a 5.9, cuando es menor a 5.7 se considera presencia de carne pálida; cabe recalcar que ninguno de los valores obtenidos se encontraron por debajo de este valor. No obstante, al igual que los resultados obtenidos en este estudio, otros investigadores han reportado diferencias entre estirpes comerciales y el pH de la carne después del procesado (Remignon and Le Bihan-Duval, 2003). Lo anterior indica que el uso del MA no afecta el pH de la carne ni modifica el riesgo de presentar defectos de calidad en ésta.

Con relación a las temperaturas obtenidas en los músculos pectorales antes y después del tanque de enfriado (**Cuadro 2.3**), ambas presentaron un efecto por uso de MA, línea comercial e interacción de estos dos factores; mientras que antes del tanque de enfriado la temperatura de la carne para L1 fue menor con el uso del MA, en L2 se obtuvo sin el MA ($P = 0.010$), indicando un efecto por línea comercial ($P = 0.001$) con interacción de los dos factores ($MA*L; P = 0.001$). En las temperaturas después del tanque de enfriado la adición del MA también reportó valores menores ($P = 0.001$) en ambas líneas comerciales, particularmente para L1 ($P = 0.001$) mostrando efecto de interacción $MA*L$ ($P = 0.028$). Estos resultados indican que el uso del MA permitirá una mejor calidad en pechugas de pollo, ya que un enfriamiento lento de la carne después del procesado produce un pH más bajo, lo que afecta su calidad (Demirok et al., 2013).

5.2.4.2 Presencia de carne pálida.

Los resultados obtenidos para determinar la presencia de carne pálida a partir de los músculos pectorales (**Cuadro 2.3**) fueron expresaron en términos de los valores CIE para L^* , a^* y b^* . Los valores de L^* en este estudio fueron mayores por el uso del MA ($P = 0.011$) particularmente en L2 ($P = 0.012$) con un valor > 49 , en el resto de los tratamientos los valores de L^* se mantuvieron por debajo de este valor. Barbut (1997), mencionó que valores de L^* mayores a 49 indicaban la presencia de carne pálida; sin embargo, estudios recientes indican valores superiores a 54, 59 y 60 de L^* para clasificar a la carne como pálida (Fletcher, 2000; Remignon and Le Bihan-Duval, 2003; Barbut, 2009; Garcia et al., 2010); y mencionan que la L^* puede sufrir modificaciones por diversos factores como son la línea genética (Remignon and Le Bihan-Duval, 2003; Bianchi et al., 2006), la época de año (Barbut, 2009) y los niveles de CORT en plasma (Kannan 1998). En el caso de a^* los resultados fueron menores para L2 comparados con L1 ($P = 0.031$) sin verse modificados por el uso del MA ($P > 0.05$). Cambios en los valores de a^* se han reportado en carne procedente de pollos genéticamente seleccionados para alto desarrollo muscular, presentado carnes menos rojas y más pálidas que las de aves no seleccionadas. Esta pérdida en la intensidad del color se ha relacionado con la disminución en el contenido de pigmento hemático muscular en las aves (Remignon and Le Bihan-Duval, 2003). Por otra parte, los valores de b^* en L2 fueron menores ($P = 0.046$) con un efecto de interacción MA*L ($P = 0.053$). Sin embargo, L^* es considerado como el principal parámetro de referencia para determinar palidez en la carne de pollo; evaluando estrictamente, los resultados obtenidos en este estudio sólo determinaron la presencia de carne pálida en L2-MA, siendo importante recalcar que no se observó la existencia de ningún otro indicador relacionado

con baja funcionalidad de las proteínas que indicaran la presencia de PSE en ningún tratamiento. Por otra parte, los resultados obtenidos para a^* y b^* fueron mayores a los reportados en la literatura (Kannan et al., 1998; Fletcher, 2000; Remignon and Le Bihan-Duval, 2003; Garcia et al., 2010), indicando la presencia de un color en la carne con tonos amarillos; lo anterior puede explicarse porque las dietas utilizadas incluyeron pigmentos naturales amarillos, así como aceites vegetales comúnmente utilizados en nuestro país para producir canales con piel amarilla. Estos pigmentos tienen afinidad por la grasa, por lo que de alguna manera también modifican el tono de la carne dada la presencia de grasa intramuscular.

El color de la carne se considera un atributo importante para medir características de textura, señalando al color como el resultado de numerosos factores químicos y físicos del músculo, dentro de los cuales el pH y la temperatura después del procesamiento se han relacionado directamente con la glucólisis muscular y la consecuente desnaturalización de proteínas responsables de la presencia del color pálido (Barbut, 1997; Van Laack et al., 2000). No obstante, aun cuando se ha reportado que aves más susceptibles al estrés presentan acelerada glucólisis *postmortem* (Barbut, 2009), hasta ahora no se ha identificado ningún marcador genético relacionado con la presencia de esta condición en pollos de engorda (Remignon and Le Bihan-Duval, 2003; Cavitt et al., 2004) y que pueda ser utilizado para prevenir su aparición mediante selección genética; por lo anterior hasta ahora, los procesadores solo pueden emplear diversas estrategias *pre* y *postmortem* para minimizar este problema.

Cuadro 2.3

Promedio \pm Error estándar de pH, temperatura y valores CIE¹ L* a*, b* en filetes de pechuga procedentes de pollos con y sin la adición de un modulador alostático vía agua de bebida 48 horas antes del manejo *antemortem* y sacrificados a los 49 días de edad

	L1-TE	L1-MA	L2-TE	L2-MA	P =		
					MA	L	MA*L
pH _i	6.38 \pm 0.02 ^b	6.50 \pm 0.04 ^a	6.39 \pm 0.02 ^{ab}	6.35 \pm 0.03 ^b	0.212	0.022	0.009
pH _m	6.22 \pm 0.06	6.32 \pm 0.02	6.26 \pm 0.03	6.26 \pm 0.02	0.204	0.809	0.181
pH _u	5.70 \pm 0.007 ^{ab}	5.70 \pm 0.006 ^{ab}	5.71 \pm 0.008 ^{ab}	5.74 \pm 0.009 ^a	0.524	0.036	0.005
T _i	31.10 \pm 0.21 ^a	30.26 \pm 0.18 ^b	28.64 \pm 0.23 ^c	30.43 \pm 0.08 ^{ab}	0.010	0.001	0.001
T _m	15.54 \pm 0.20 ^b	14.61 \pm 0.19 ^c	16.96 \pm 0.13 ^a	15.29 \pm 0.13 ^b	0.001	0.001	0.028
L*	47.9 \pm 0.28 ^b	48.9 \pm 0.28 ^{ab}	48.9 \pm 0.33 ^{ab}	49.5 \pm 0.31 ^a	0.011	0.012	0.477
a*	0.61 \pm 0.11 ^b	0.56 \pm 0.15 ^b	0.35 \pm 0.12 ^a	0.21 \pm 0.17 ^a	0.503	0.031	0.730
b*	20.2 \pm 0.11 ^{ab}	21.5 \pm 0.37 ^a	20.1 \pm 0.52 ^{ab}	19.7 \pm 0.50 ^b	0.348	0.046	0.053

¹Medidos con colorímetro de reflectancia Minolta Modelo CR 400; L1 y L2 = Estirpes comerciales; MA = Modulador alostático (conteniendo 50 mg de ácido ascórbico, 62.5 mg of ácido acetilsalicílico y 251 μ Eq de Na⁺, K⁺ y Cl⁻ por L de agua); TE = Testigo sin modulador; EE = Error estándar; pH_i = medición antes del tanque de enfriado; pH_m = medición después del tanque de enfriado; pH_u = medición con 24 h de refrigeración; T_i = Temperatura antes del tanque de enfriado; T_m = Temperatura después del tanque de enfriado; L* = Luminosidad; a* = Tonos rojos; b* = Tonos amarillos. n = 48 (8 muestras por réplica). Diferentes literales entre columnas denotan significancia estadística (P < 0.05).

5.2.4.3 Pérdida por goteo en músculo pectoral mayor

La capacidad de retención de agua es una característica importante de la calidad de la carne y se puede medir mediante la pérdida por goteo o la pérdida por cocción. Si la capacidad de retención de agua es pobre, tanto la carne como los productos procesados carecerán de jugosidad. Los resultados obtenidos en este estudio (**Cuadro 2.4**) mostraron que los tratamientos con el MA redujeron la pérdida de peso por goteo (P = 0.001) a las 24 h de refrigeración, mientras que a las 48 h ésta reducción solo se observó en L2-MA mostrando

menor pérdida por goteo en esta línea comercial ($P = 0.022$) con un efecto de interacción MA*L ($P = 0.008$). De las 48 a las 72 h de almacenamiento no se observaron diferencias entre tratamientos ($P > 0.05$). Sin embargo, la pérdida por goteo observada durante las primeras 24 h de almacenamiento, repercutió directamente hasta el final del periodo de evaluación (72 h) en el porcentaje total de pérdida. Para la evaluación total en gramos, los resultados indican menos gramos perdidos en los tratamientos con MA ($P = 0.001$) mostrando efecto de interacción MA*L ($P = 0.016$) particularmente en L2. De igual forma para los valores reportados en porcentaje se determinó menor pérdida con el uso del MA ($P = 0.001$), con diferencia entre líneas comerciales, observando menor porcentaje de pérdida en L2-MA ($P = 0.033$) y con efecto de interacción por ambos factores (MA*L; $P = 0.006$); ambas líneas presentaron una reducción en pérdida por goteo; sin embargo, L2-MA fue el tratamiento con menor pérdida por goteo a pesar de haber obtenido un valor de L* mayor a 49; lo anterior concuerda con Le Bihan-Duval et al. (1999) quienes mencionan menor pérdida por goteo en aves seleccionadas genéticamente para alta producción aún con la presencia de L* mayores a 50. La adición del MA redujo significativamente la pérdida por goteo en 0.64 % y 1.29 % para L1 y L2 respectivamente; reportes indican un porcentaje de pérdida por goteo normal en un rango de 1.3 - 2.51% (Remignon and Le Bihan-Duval, 2003; Wang et al., 2009; Garcia et al., 2010), siendo mayor a 2.6 % con carne pálida (Garcia et al., 2010) y llegando hasta 6.31 % bajo condiciones de estrés por calor (Wang et al., 2009). La capacidad de retención de agua se puede reducir por condiciones de estrés que provocan acelerada glucólisis, desnaturalización de proteínas, así como variaciones significativas del pH y palidez en la carne (Barbut, 1997; Van Laack et al., 2000; Remignon and Le Bihan-Duval, 2003). Obtener menor pérdida por goteo, es importante ya que

además de mejorar el rendimiento y la calidad de la carne, favorece la jugosidad y suavidad de ésta (Barbut, 1997; Van Laack et al., 2000). Los resultados obtenidos en este estudio indican que el uso del MA ayudó a reducir las pérdida por goteo, ésto probablemente asociado al punto isoelectrico de la carne y a la presencia de electrolitos en el MA, los cuales además de reducir la pérdida de líquidos pueden jugar un papel importante en la retención del agua inmovilizada (la cual se encuentra en la superficie de las proteínas entre la actina y miosina) mediante sus cargas (Smith, 2001).

5.2.4.4 Determinaciones de merma por cocción y fuerza de corte

Con relación a W-B, los resultados obtenidos en este estudio mostraron una interacción MA*L ($P = 0.002$) donde L2-TE reportó la mayor fuerza de corte y L1-TE la menor; sin embargo, en ambas líneas comerciales la fuerza de corte no presentó diferencias cuando los pollos consumieron el MA (**Cuadro 2.4**); los valores de W-B reportados como normales van de 4.86 a 4.89 (Thielke et al., 2005; García et al., 2010) mientras que el valor más alto reportado en este estudio fue de 3.90 en el grupo L2-TE. Diversos factores se han relacionado con la fuerza de corte en las pechugas de pollo dentro de los cuales destacan edad de sacrificio, línea comercial, carne PSE, estrés por calor, glucólisis *antemortem* y *postmortem*, tiempo de deshuesado y maduración (Liu et al., 2004; Thielke et al., 2005; García et al., 2010; Schneider et al., 2012). La variación en resultados puede relacionarse con la actividad bioquímica involucrada en el inicio y la resolución del rigor mortis; no obstante, la menor fuerza de corte se asocia con suavidad. Resultados similares se presentaron con el porcentaje de merma por cocción con un efecto de interacción (MA*L; $P = 0.001$), donde L2-TE obtuvo 4.96 % más merma que L1-TE, mientras que entre ambas

líneas con el uso del MA la diferencia por merma fue de 1.44 % (**Cuadro 2.4**). El máximo porcentaje de merma por cocción fue de 22.09 %, estudios previos indican que la merma puede ser de hasta 28.2 % en aves sacrificadas a los 49 días como ocurrió en este estudio y puede reducir hasta 24.5 % en aves jóvenes de 28 días (Schneider et al., 2012), mientras que carne PSE presenta mayor merma que la normal (22.8 vs 19.45; García 2010).

Cuadro 2.4

Promedio \pm Error estándar de la pérdida por goteo, fuerza de corte y merma por cocción en filetes de pechuga procedentes de pollos con y sin la adición de un modulador alostático vía agua de bebida 48 horas antes del manejo *antemortem* y sacrificados a los 49 días de edad

	L1-TE	L1-MA	L2-TE	L2-MA	n	MA	P =	
							L	MA*L
PPG ₂₄	3.29 \pm 0.24 ^a	1.58 \pm 0.16 ^b	3.44 \pm 0.27 ^a	1.33 \pm 0.15 ^b	48	0.001	0.825	0.360
PPG ₄₈	2.06 \pm 0.20 ^a	2.32 \pm 0.20 ^a	2.13 \pm 0.21 ^a	1.35 \pm 0.16 ^b	48	0.176	0.022	0.008
PPG ₇₂	0.68 \pm 0.05	0.59 \pm 0.04	0.78 \pm 0.05	0.72 \pm 0.10	48	0.283	0.079	0.839
PPG _{Tg}	6.02 \pm 0.35 ^a	4.49 \pm 0.19 ^b	6.34 \pm 0.35 ^a	3.40 \pm 0.22 ^c	48	0.001	0.187	0.016
PPG _{T%}	2.90 \pm 0.17 ^a	2.26 \pm 0.10 ^b	3.00 \pm 0.17 ^a	1.71 \pm 0.12 ^c	48	0.001	0.033	0.006
W-B* (kg)	2.9 \pm 0.20 ^b	3.7 \pm 0.26 ^{ab}	3.9 \pm 0.34 ^a	3.1 \pm 0.16 ^{ab}	18	0.934	0.352	0.002
%MPC*	17.13 \pm 0.12 ^b	18.66 \pm 0.11 ^{ab}	22.09 \pm 0.12 ^a	17.22 \pm 0.07 ^{ab}	18	0.079	0.103	0.001

L1 y L2 = Estirpes comerciales; MA = Modulador alostático (conteniendo 50 mg de ácido ascórbico, 62.5 mg of ácido acetilsalicílico y 251 μ Eq de Na⁺, K⁺ y Cl⁻ por L de agua); TE = Testigo sin modulador; EE = Error estándar; PPG₂₄ = pérdida por goteo 24 h de refrigeración; PPG₄₈ = pérdida por goteo 48 h de refrigeración; PPG₇₂ = pérdida por goteo 72 h de refrigeración; PPG_{Tg} = Pérdida Total por goteo en gramos; PPG_{T%} = Porcentaje de Pérdida Total por goteo ;W-B = Warner-Bratzler; MPC = Merma por cocción; n = 48 (8 muestras por réplica); *n = 18 (3 muestras por réplica). Diferentes literales entre columnas denotan significancia estadística (P < 0.05).

EXPERIMENTO 3.

INCLUSIÓN DE UN MODULADOR ALOSTÁTICO EN LA ESTABILIDAD OXIDATIVA Y VIDA DE ANAQUEL DE LA CARNE DE POLLO.

1.3 INTRODUCCIÓN

La producción de pollos de engorda tiene como meta final convertir el músculo en carne de calidad para consumo humano; los músculos son tejidos que responden efectivamente a las condiciones del medio ambiente que les rodea y muchas de estas respuestas pueden afectar la calidad de la carne producida. La oxidación, la autólisis enzimática y el crecimiento bacteriano son los tres mecanismos básicos responsables del deterioro de la carne. (Sams, 1999; Wang et al., 2009; Dave and Ghaly, 2011). Bajo una condición de estrés el músculo requiere obtener oxígeno y glucosa para enfrentar el estado estresante, este aumento en las necesidades de oxígeno en el músculo esquelético incrementa la actividad metabólica y la producción de especies reactivas de oxígeno (**ROS**) (Chihuailaf et al., 2002; Dave and Ghaly, 2011). La oxidación es un resultado de los procesos metabólicos naturales; sin embargo, la producción excesiva de especies reactivas, como los radicales libres en cantidades que superen el sistema de defensa antioxidante endógeno se conoce como estrés oxidativo y puede dañar biomoléculas importantes como las proteínas, hidratos de carbono y lípidos (Chihuailaf et al., 2002).

La estabilidad oxidativa de la carne actualmente es un parámetro muy utilizado para medir su calidad, debido a la susceptibilidad de ésta a sufrir degeneración de tipo oxidativo

(Chihuilaf et al., 2002; Sacchetti et al., 2008; Lin et al., 2009; Serpen et al., 2012). Los lípidos son considerados las biomoléculas más lábiles y su lipoperoxidación muy destructiva, describiéndola como una reacción en cadena que produce lípidos peroxidados los cuales a su vez dan origen a nuevos radicales libres; así como a compuestos citotóxicos como los aldehídos (Chihuilaf et al., 2002).

En la producción de alimentos a partir de tejido muscular, las reacciones oxidativas pueden continuar aún durante el período *postmortem*, siendo ésto una causa importante de deterioro durante el almacenamiento de la carne. Lin, (2009) reportó que el incremento en los niveles de CORT debido al estrés *antemortem* afecta el balance oxido-reducción en el músculo esquelético de los pollos, mientras que la exposición a estrés por calor previo al sacrificio, también mostró una reducción de la estabilidad oxidativa en la carne de pollo (Wang et al., 2009).

Además del deterioro de la carne por actividades químicas y enzimáticas, el crecimiento de microorganismos también la afecta, lo que genera pérdidas por descomposición de la canal. La carga bacteriana inicial en las canales de pollo tiene un efecto directo sobre su vida útil y ésta, generalmente se relaciona con los sistemas de crianza, procesamiento y sanidad del rastro avícola (Hargis et al., 2001; Russell, 2001). La higiene, la temperatura de almacenaje, la acidez de la carne y la estructura de las fibras musculares también influyen en su deterioro. Un sistema de control de calidad microbiológica de la carne es el conteo de aerobios y coliformes totales; el primero se relaciona con malas prácticas de sanidad, de

manufactura o de almacenaje del producto, mientras que los coliformes se consideran un indicador indirecto de contaminación fecal (Hargis et al., 2001; Dave and Ghaly, 2011).

Para controlar el deterioro de la carne de pollo; en su dieta se utilizan suplementos antioxidantes como la vitamina E, el AA y minerales como el selenio con el fin de aumentar su vida útil y mantener su valor nutricional, la textura y el sabor (Young et al., 2003; Delles et al., 2014). El presente estudio fue realizado para evaluar la utilidad de un MA administrado previo al manejo *antemortem* en la estabilidad oxidativa de la carne de pollo y su efecto sobre la vida de anaquel.

3.3 OBJETIVOS PARTICULARES

3.3.1 Evaluar la capacidad antioxidante de la carne de pollo proveniente de aves a las que se les administró un modulador alostático y almacenada en refrigeración (4 °C).

3.3.2. Conocer la vida de anaquel de la carne de pollo almacenada a temperatura de refrigeración (4 °C) y proveniente de aves a las que se les administró un modulador alostático.

4.3 MATERIAL y MÉTODOS

4.3.1 Diseño experimental

Cuatrocientos pollitos de engorda mixtos de 1 día de edad fueron alojados en una caseta abierta convencional equipada con cama de viruta nueva y desinfectada, así como con criadoras, comederos manuales de tolva y bebederos de campana. Los pollos pertenecientes

a dos estirpes comerciales Cobb 500 (L1) y Ross 308 (L2), fueron divididos aleatoriamente en dos tratamientos: uno adicionando el MA (MA) y un testigo sin MA (TE) bajo un arreglo factorial 2 x 2. Cada tratamiento se constituyó de 4 réplicas con 25 pollitos cada uno; las aves fueron criadas hasta el día 49 de edad y durante este periodo recibieron agua y alimento a libre acceso. El MA constituido por una combinación con 50 mg de AA, 62.5 mg de ASA y 251 μEq de Cl^- , Na^+ y K^+ por L de agua, fue administrado en el agua de bebida dos días antes del manejo *antemortem*.

4.3.2 Transporte y sacrificio de los animales

Los pollos fueron sometidos a un programa de ayuno de 10 h antes de su envío a planta de procesamiento y fueron capturados manualmente con un sistema convencional, procurando generar el menor estrés posible. Las cajas de transporte fueron identificadas y alojaron 10 pollos por réplica de cada tratamiento, éstas fueron colocadas en el camión de manera aleatoria para todos los tratamientos (parte media y extremos del camión). Para simular el transporte en movimiento, el camión se mantuvo circulando durante 1 hora alrededor del CEIEPAv antes de iniciar el sacrificio. La parvada fue enviada a la planta de procesamiento a las 9:00 a.m. con una temperatura local de 18.3 °C y 62 % de humedad relativa, con un tiempo de transporte de 60 min y 18 min de espera antes de iniciar el procesamiento. Antes del sacrificio, las aves fueron aturdidas eléctricamente utilizando 25 Volts, 0.02 amperes y 400 Hertz, causando un estado de inconsciencia previo a su muerte por degüello.

4.3.3 Actividad oxidativa en plasma por determinación de la enzima catalasa.

Doce muestras de sangre fueron colectadas de 3 pollos por réplica de cada tratamiento, antes de iniciar el programa de ayuno (T_i) y antes de colgar a los pollos en los ganchos de la línea de procesamiento (T_f). Con el objetivo de no generar mucho estrés a las aves durante este manejo, éstas fueron sujetadas gentilmente con ambas manos colocándolas en posición supina, para obtener la muestra mediante punción de la vena braquial en viales estériles (1.2 mL Heparin Monovette (66x8.5) Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Germany). Las muestras fueron conservadas a 4 °C hasta su procesamiento en el Departamento de Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. Para obtener el plasma, las muestras fueron centrifugadas a 1,000 g durante 10 min; posteriormente éstas fueron congeladas en tubos de polipropileno (tubos de ensayo Eppendorf) a -20 °C hasta la realización del estudio mediante la técnica de ELISA con el kit Catalase Assay-Kit (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA). El Kit basó la medición en la reacción peroxidativa de la catalasa (CAT) cuya lectura se realizó con filtro de 540 nm; la sensibilidad del ensayo fue de 0.087 a 0.743 de actividad enzimática, con un CV intra-ensayo de 3.8 %. Los resultados se expresaron como actividad de CAT en nmol/min/mL.

4.3.4 Estabilidad oxidativa de la carne de pollo

La estabilidad oxidativa de la carne se evaluó en las dos muestras más importantes de la canal desde el punto de vista comercial: pechuga (músculo *Pectoralis major*) y pierna (músculo *Biceps femoris*), en una serie de 8 muestras por tratamiento (2 muestras por réplica), realizando las mediciones a los 1 (t_1), 5 (t_5), 10 (t_{10}) y 15 (t_{15}) días de almacenamiento en cámara frigorífica (4 °C); para su almacenamiento las muestras fueron

empacadas en charolas de unicel y cubiertas con película permeable al oxígeno. La técnica utilizada fue el método químico **ABTS⁺** [ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)]; de cada pieza refrigerada se tomó una muestra de 5 g de carne, la cual fue homogenizada con 25 mL de un buffer de fosfatos (50 mM pH 7) mediante un homogenizador IKA-T18 Ultra Turrax (Staufen, Alemania). Posteriormente se centrifugaron durante 15 minutos a 10,000 r.p.m. a 4 °C empleando una centrifuga 5810R Eppendorf (Hamburgo, Alemania). El sobrenadante se recuperó y filtró a través de papel Wathman del número uno, se colectó y almacenó en baño de hielo hasta su análisis.

Para llevar a cabo la determinación antioxidante, se utilizó una disolución de ABTS (7 mM) con persulfato de potasio (2.45 mM), incubando esta mezcla en la oscuridad por un periodo de 12 a 16 h con el objetivo de generar el radical libre ABTS⁺ de acuerdo al método descrito por Descalzo et al. (2007). Previo al análisis se ajustó mediante una solución de PBS (pH 7.4) hasta lograr una absorbencia de 0.70 a una longitud de onda de 734 nm. Finalmente se tomaron 10 µL de extracto al que se le adicionaron 290 µL de la dilución del radical ABTS⁺ y leyendo la absorbencia exactamente 6 min después de iniciada la reacción en un lector de placas Biotec Synergy HT Multi-Detection (Vermont, USA.). El blanco espectro utilizado fue metanol. La curva estándar se llevó a cabo en una concentración de 200 a 1,200 µM. Los resultados se expresaron como equivalentes µM de Trolox/100 g de carne. Todas las lecturas se realizaron por cuadruplicado y se obtuvo un promedio de éstos para su análisis.

4.3.5 Determinación de la estabilidad lipídica de la carne de pollo

Se monitoreó la oxidación lipídica de muestras de pechuga y pierna mediante las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (**TBARS**) a los t_1 , t_5 , t_{10} y t_{15} días de almacenamiento en cámara frigorífica a 4 °C. A partir de cada muestra se pesaron 5 g de carne, los cuales mediante un homogenizador IKA T 18 Ultra Turrax (Staufen, Alemania) se homogenizaron con 25 mL de una solución de ácido tricloroacético (**TCA**), al 5% masa/volumen (**w/v**) durante 1 min. Posteriormente y utilizando una centrifuga 5810R Eppendorf (Hamburgo, Alemania), el homogenizado fue centrifugado a 10,000 r.p.m. durante 15 min a 4 °C. Para obtener el extracto, el sobrenadante se filtró a través de papel Whatman del número uno almacenándolo en baño de hielo. De este extracto se tomaron 500 μ L para adicionarle 1 mL de ácido tiobarbitúrico (**TBA**) 80 mM e incubarlo durante 30 min a temperatura de 94 °C; posterior a la incubación se dejó enfriar y se realizó la lectura en un lector de placas Biotec Synergy HT Multi-Detection (Vermont, USA.) a una longitud de onda de 530 nm; las lecturas se realizaron por cuadruplicado, obteniendo un promedio para su análisis. Los resultados se reportaron en mg de malonaldehído (**MDA**)/kg de carne, utilizando el coeficiente de extinción molar de $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Raharjo et al., 1992).

4.3.6 Vida de anaquel

La vida de anaquel de la carne fue evaluada mediante el conteo de la población de mesófilos totales y coliformes; este último como indicador sanitario. Lo anterior se realizó a partir de 8 muestras de pechuga (músculo *Pectoralis major*) y 8 muestras de pierna (músculo *Biceps femoris*) por tratamiento (2 muestras por réplica), las muestras fueron almacenadas en charolas de unicel cubiertas con película permeable al oxígeno,

identificadas y almacenadas en cámara frigorífica a 4 °C. Las evaluaciones se realizaron en el Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves, FMVZ-UNAM a los t_1 , t_5 , t_{10} y t_{15} días de almacenamiento.

En una campana de flujo laminar, cada muestra fue retirada de su empaque original y colocada en una bolsa de plástico estéril con 100 mL de una solución de PBS, dándole un breve masaje con esta solución de enjuague durante un minuto; posteriormente, la muestra se retiró de la bolsa (Northcutt et al., 2007; Demirok et al., 2013) y de la solución de enjuague se hicieron diluciones décuples seriadas. A partir de las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} se tomó 1 mL y se sembró en medios de cultivo para el conteo de mesófilos aerobios (RIDA[®] COUNT Total) y coliformes (RIDA[®] COUNT Coliform) de acuerdo a las instrucciones del fabricante (R-Biofarm AG, Darmstadt, Germany). Las placas fueron incubadas por 48 h a 37 °C. Después de la incubación, las UFC fueron contabilizadas para determinar la carga bacteriana de las muestras.

4.3.7. Análisis estadístico

Los resultados de CAT en plasma fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) utilizando un arreglo factorial 2 x 2 x 2 (MA*L*T). Mientras que los resultados de TBARS, ABTS⁺ y vida de anaquel, se sometieron a un ANOVA con un arreglo factorial 2 x 2 x 4 (MA*L*DA). Los resultados de interacción se reportaron cuando fueron significativos ($P \leq 0.05$). Previo a su análisis, los valores de CAT fueron sometidos a una transformación logarítmica para lograr la homogeneidad de varianza. La diferencia entre

medias se determinó mediante la prueba de Tukey utilizando el programa STATISTIX 9.0, Analytical Software (Tallahassee, FL, USA).

5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.3.1 Actividad oxidativa en plasma por determinación de la enzima catalasa.

Los resultados obtenidos con relación a la actividad de la CAT en plasma (**Figura 3.1**) T_i y T_f mostraron un incremento por MA ($P = 0.025$) solo en L1 después del manejo *antemortem*, con un efecto de interacción MA*L*T ($P = 0.034$). Después del estrés por manejo *antemortem* no se observó diferencia entre tratamientos ($P \geq 0.05$). Lo anterior indica que la respuesta en los niveles de CAT en suero es diferente por línea comercial. Bajo condiciones de estrés, la actividad de enzimas como la CAT y superóxido dismutasa (**SOD**) disminuyen (Khassaf et al., 2003; Zhang et al., 2011); los resultados obtenidos en este estudio no coinciden con lo reportado por otros investigadores, donde indican que la suplementación con antioxidantes como el AA (de 500 a 1,000 ppm) y el α -tocoferol incrementan la expresión de los mecanismo de defensa al estrés oxidativo tanto en células musculares como en linfocitos y eritrocitos, provocando un aumento en la actividad de estas enzimas (Khassaf et al., 2003; Young et al., Wang et al., 2009; Delles et al., 2014); sin embargo, la adición de estos antioxidantes se realizó en el alimento y no en agua de bebida, así como por periodos mayores a 48 horas.

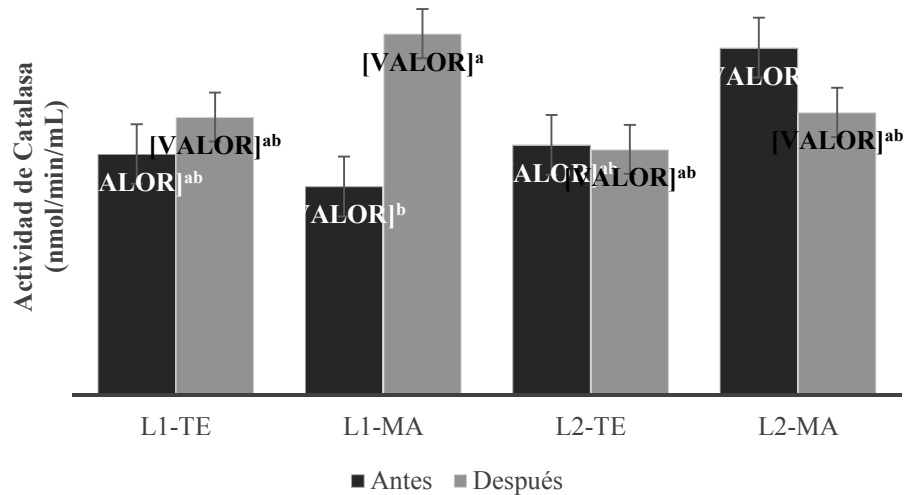


Figura 3.1

Efecto del modulador alostático (MA) en los niveles de catalasa en plasma de pollos de engorda antes y después del manejo *antemortem*. Los valores son promedios de actividad de catalasa expresados en nmol/min/mL; n = 12 (3 muestras por réplica); L1 y L2= Estirpes comerciales; MA= Modulador Alostático; T = Tiempo de muestreo; ANOVA Arreglo Factorial – Prueba de Tukey. MA-*P* = 0.025; MA*L*T-*P* = 0.034

5.3.2 Estabilidad oxidativa y determinación de la estabilidad lipídica de la carne de pollo

Los tres principales mecanismos para el deterioro de la carne son: oxidación de lípidos, descomposición microbiana y/o por acción enzimática autolítica, mismas que pueden presentarse después del sacrificio, durante el procesamiento o a lo largo de su almacenamiento. Dave y Ghaly (2011) reportaron que para mejorar la calidad e incrementar la vida útil de la carne y de sus productos es necesario aplicar técnicas adecuadas de manejo *antemortem*, tratamientos previos de conservación como el uso de antioxidantes en las

dietas, así como almacenar la carne y sus productos a bajas temperaturas. En este estudio la adición del MA no tuvo efecto ($P \geq 0.05$) sobre la oxidación lipídica y la actividad antioxidante en las muestras de pechuga, encontrando diferencia solo por tiempo de almacenamiento ($P = 0.001$). La mayor concentración de mg de MDA por kg de carne a partir del músculo *Pectoralis major*, se observó en la muestra t_5 (L1-MA 0.84 ± 0.03 ; L1-TE 0.81 ± 0.03 ; L2-MA 0.77 ± 0.05 y L2-TE 0.73 ± 0.08) disminuyendo significativamente en t_{10} y t_{15} (**Figura 3.2**); no se encontró efecto de interacción. Mientras que la búsqueda del radical ABTS⁺ (μM Trolox por 100 g de carne) para determinar la actividad antioxidante en pechuga fue mayor solo hasta los 5 días de almacenamiento ($P = 0.001$), para posteriormente disminuir hasta el final de la evaluación (**Figura 3.3**), indicando que el músculo *Pectoralis major* almacenado a temperatura de refrigeración se conserva adecuadamente por 5 días.

Con relación a las muestras de pierna (Músculo *Biceps femoris*) la mayor oxidación lipídica (**Figura 3.4**) se observó al día 1 ($P = 0.001$), con un efecto por línea comercial ($P = 0.002$), L2 presentó mayor oxidación que L1, particularmente cuando no recibieron el MA ($P = 0.030$) detectando interacción de MA*L ($P = 0.05$) indicando un efecto del MA solo en L1. Por otra parte, la capacidad antioxidante en pierna (**Figura 3.5**) fue mayor en t_1 ($P = 0.001$) disminuyendo a lo largo del periodo de evaluación y mostrando un efecto por línea comercial ($P = 0.001$) solo en t_5 y t_{10} con efecto de interacción por MA*L- $P = 0.04$; L*DA- $P = 0.010$; M*L*DA- $P = 0.045$. Estudios realizados por Gao et al. (2010), mencionan que la susceptibilidad de la carne a la peroxidación lipídica se incrementa por las respuestas fisiológicas de los animales al estrés antes del sacrificio, condición que puede explicar la

mayor oxidación lipídica en las muestras de pierna en la línea comercial L2, este investigador reportó diferentes tiempos para la presentación de la oxidación lipídica entre muestras de pechuga y pierna, encontrando mayores niveles de TBARS en las muestras de pierna (24 h), mientras que en pechuga ésto sucede más tarde (48 h); con reducciones significativas en ambas muestras por la adición de vitamina E como antioxidante para aliviar el estrés oxidativo. Nuestros resultados coinciden en indicar menor tiempo en las muestras de pierna para presentar oxidación lipídica y reducir su capacidad antioxidante que en las muestras de pechuga, revelando que los tiempos de almacenaje para cada muestra deben ser diferentes. La oxidación lipídica ha sido considerada un factor de deterioro en la calidad de la carne y puede retardarse por la presencia de antioxidantes (Young et al., 2003; Gao et al., 2010). En este estudio, la adición del MA no modificó la estabilidad lipídica, aun cuando cuenta con AA; el cual tiene una acción directa sobre radicales libres (superóxido, hidroxilo e hidroperóxidos lipídicos) y es considerado un antioxidante con alta actividad (Chihuailaf et al., 2002; Khassaf et al., 2003; Lin et al., 2009). No obstante, las diferencias encontradas en la actividad antioxidante entre pechuga y pierna indican que la pechuga mantiene por más tiempo la actividad antioxidante (DA_{t_5}) que la pierna (DA_{t_1}); esta diferencia puede estar relacionada con el tipo de fibras musculares que componen cada muestra y particularmente por la cantidad de lípidos y mioglobina que constituyen las diferentes fibras musculares; de tal forma que mientras el músculo *Pectoralis major* está constituido en más del 90% por fibras II B, consideradas de baja densidad mitocondrial y con poca cantidad de lípidos y mioglobina en sus fibras, el músculo *Biceps femoris* contiene solo un 20% de fibras II B y más del 50% de sus fibras son del tipo II A, con alta densidad mitocondrial y mayor cantidad de mioglobina y lípidos

intramusculares (Harvey and Marshal, 1986; Remignon and Le Bihan-Duval, 2003; Sacchetti et al., 2008; Mikulski, et al., 2011). Aún cuando diversos estudios indican que la adición de antioxidantes como el ácido ascórbico y el α -tocoferol protegen contra el aumento de TBARS inducido por estrés, en diferentes músculos (Khassaf et al., 2003; Young et al., 2003; Gao et al., 2010; Delles et al., 2014) la suplementación en el agua con el MA no modificó la oxidación lipídica, ni la capacidad antioxidante de las muestras de pechuga y pierna, probablemente debido a un manejo cuidadoso con bajo estrés.

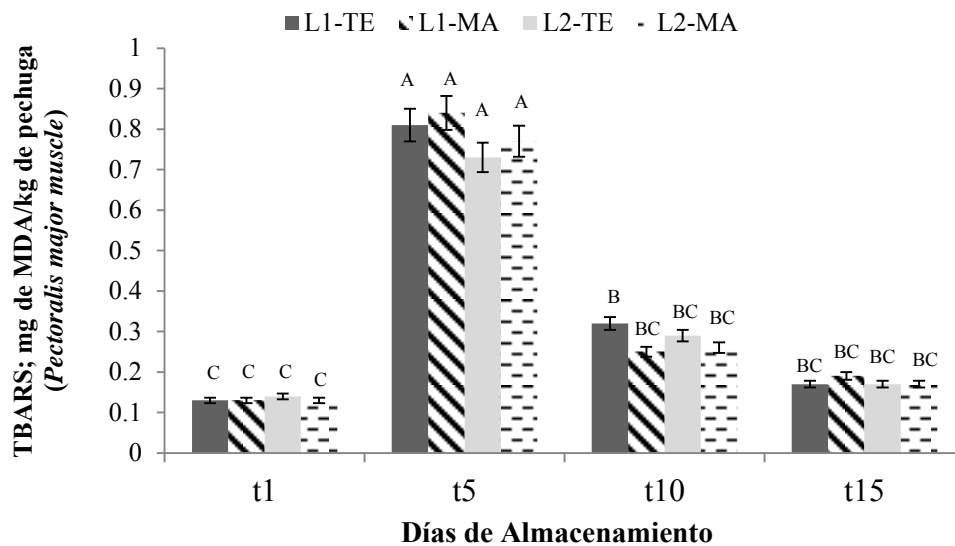


Figura 3.2

Efecto del modulador alostático (MA) en los niveles de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en pechugas de pollo (Músculo *Pectoralis major*) almacenadas en refrigeración (4 °C) durante 15 días. Los valores son medias \pm Error Estándar; n=8 (2 muestras por 4 réplicas); TE = sin modulador alostático; L1 y L2 = Estirpes comerciales; DA = Días de almacenamiento; MDA= Malonaldehído. ANOVA Arreglo Factorial - Prueba de Tukey. AM- $P = 0.8779$; L- $P = 0.136$; DA- $P = 0.001$.

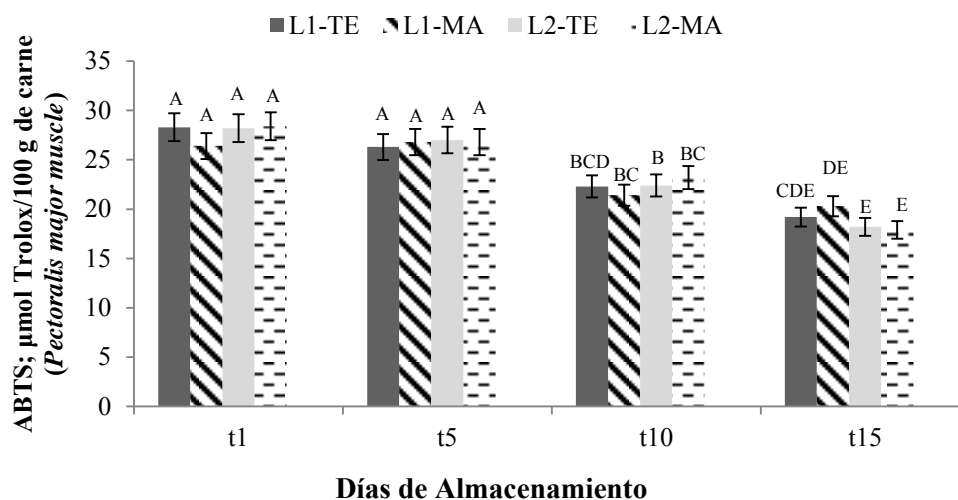


Figura 3.3

Efecto del modulador alostático (MA) en la capacidad antioxidante de pechugas de pollo (Músculo *Pectoralis major*) almacenadas en refrigeración (4 °C) durante 15 días. Los valores son promedios de ABTS ± Error Estándar; n=8 (2 muestras por 4 réplicas); TE = sin modulador alostático; L1 y L2 = Estirpes comerciales; DA = Días de almacenamiento; ABTS = [ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)]. ANOVA Arreglo Factorial - Prueba de Tukey. AM-P = 0.785; L-P = 0.530; DA-P = 0.001.

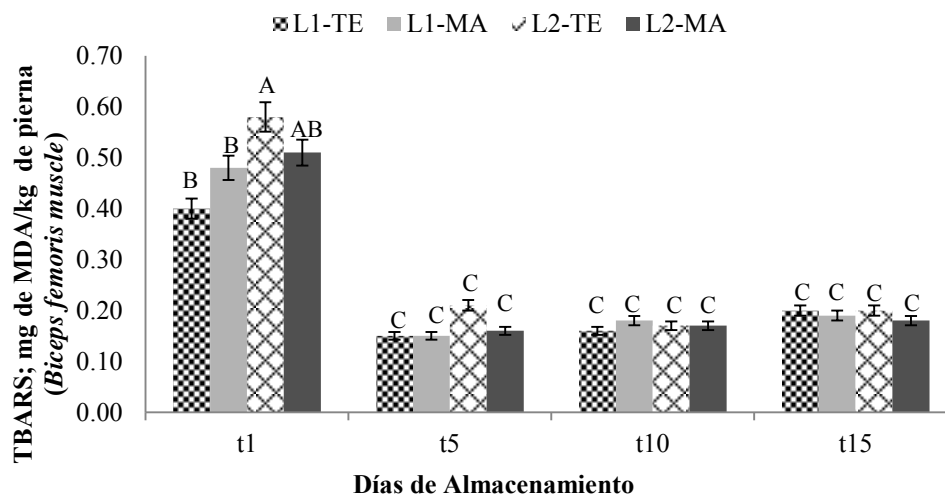


Figura 3.4

Efecto del modulador alostático (MA) en los niveles de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en piernas de pollo (Músculo *Biceps femoris*) almacenadas en refrigeración (4 °C) durante 15 días. Los valores son medias ± Error Estándar; n=8 (2 muestras por 4 réplicas); TE = sin modulador alostático; L1 y L2 = Estirpes comerciales; DA = Días de almacenamiento; MDA= Malonaldehído. ANOVA Arreglo Factorial - Prueba de Tukey. AM-P = 0.030; L-P = 0.002; DA-P = 0.001 ; MA*L-P = 0.05

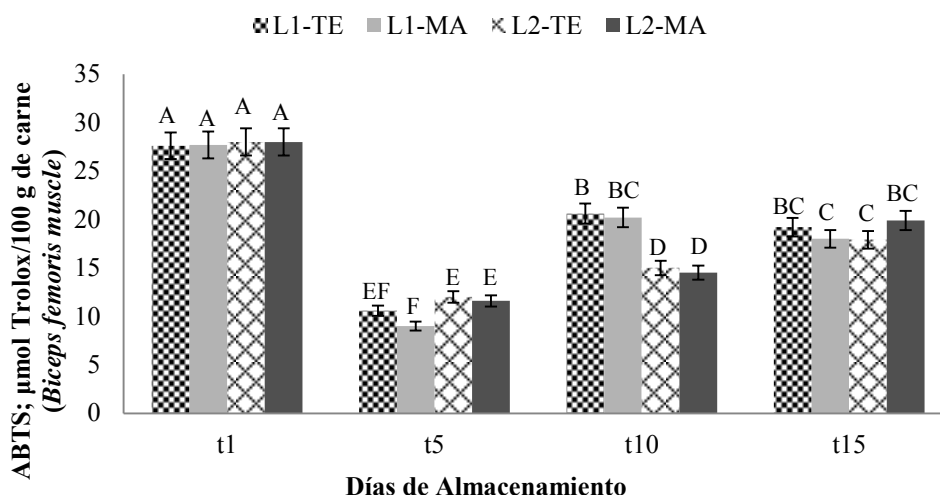


Figura 3.5

Efecto del modulador alostático (MA) en la capacidad antioxidante de piernas de pollo (Músculo *Biceps femoris*) almacenadas en refrigeración (4 °C) durante 15 días. Los valores son medias de ABTS ± Error Estándar; n=8 (2 muestras por 4 réplicas); TE = sin modulador alostático; L1 y L2 = Estirpes comerciales; DA = Días de almacenamiento; ABTS = [ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)]. ANOVA Arreglo Factorial - Prueba de Tukey. AM-P = 0.306; L-P = 0.001; DA-P = 0.001; MA*L-P = 0.04; L*DA-P = 0.010 ; M*L*DA-P = 0.045.

5.3.3 Vida de anaquel

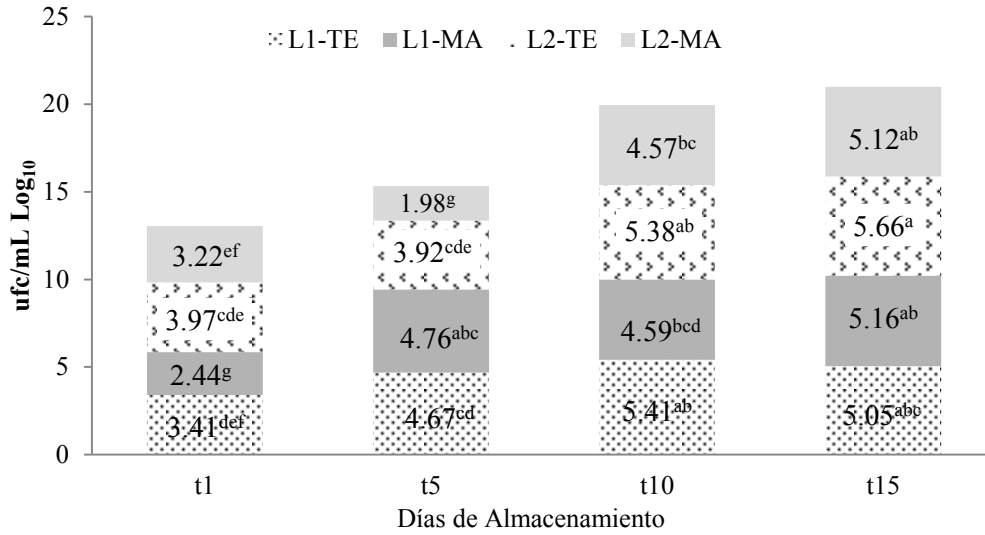
El manejo *antemortem* ha sido documentado como causa importante de la contaminación de canales, algunos factores como son la prevalencia de microorganismos a lo largo del ciclo productivo, aleteo excesivo durante el manejo de las aves en planta, así como la posible contaminación añadida durante las diferentes etapas del procesamiento juegan un papel importante en la vida de anaquel (Dave y Ghaly, 2011; Castañeda et al., 2013). Además del manejo *antemortem*, el empaque, la forma de almacenamiento y la higiene durante estos procesos son importantes para reducir la carga bacteriana de la carne durante las diferentes etapas del procesamiento. La carne es muy susceptible al deterioro debido a las actividades químicas y enzimáticas que ocurren en el músculo después del

procesamiento, estos cambios pueden favorecer el crecimiento de bacterias, levaduras y hongos; el controlar el deterioro de la carne ayuda a incrementar su vida útil y así reducir mermas (Descalzo y Sancho, 2008; Dave y Ghaly, 2011; Castañeda et al., 2013). En el presente estudio la carga bacteriana reportó incrementos conforme aumentaban los días de almacenamiento (**DA**), situación que se presentó tanto en las muestras de pechuga ($P = 0.001$), como en las muestras de pierna ($P = 0.001$) y en todos los tratamientos; lo anterior coincide con lo reportado por Russell (2001), quien mencionó que las bacterias pueden multiplicarse en la superficie de la carne de pollo aún a temperaturas de refrigeración. No obstante, este incremento en la carga bacteriana de las muestras de pechuga fue menor para los coliformes totales (**Figura 3.6-A**) en los grupos con la adición del MA ($P = 0.001$) en t_1 y t_5 particularmente para L2, indicando un efecto de interacción por MA*L*DA ($P = 0.022$); ésta menor carga bacteriana, permitió reducir 0.8 Log₁₀ UFC/mL en las muestras de aves que consumieron el MA aun hasta el día 10 de almacenamiento. Mientras que en el caso de los mesófilos totales (**Figura 3.6-B**) se obtuvieron menores conteos únicamente en L2, con un efecto de interacción MA*L*DA ($P = 0.003$), hasta el final de la evaluación en esta línea. Lo anterior muestra una respuesta diferente por línea comercial al presentar menores cargas bacterianas solo en L2 con el uso del MA.

Contrariamente a lo obtenido en pechuga, las UFC/mL de coliformes totales reportadas en las muestras de pierna fueron mayores (**Figura 3.7-A**) en los grupos que recibieron el MA únicamente al t_5 ($P = 0.001$), en los siguientes DA no se observó diferencia entre tratamientos. No obstante, en el caso de los mesófilos totales las UFC/mL se redujeron de 2 a 2.54 Log₁₀ UFC/mL por el uso del MA ($P = 0.001$) únicamente hasta el DA t_5 ; en el resto

de las evaluaciones no se observó diferencia entre tratamientos (**Figura 3.7-B**). Estos resultados son importantes debido a que la carga inicial de la carne tiene un efecto directo en la vida de anaquel (Russell, 2001; Castañeda et al., 2013), al mantener menores cargas bacterianas la vida de anaquel es mayor; el uso del MA ayudó en la disminución de las cargas bacterianas tanto en pechuga como en pierna al día diez y cinco de almacenamiento en refrigeración respectivamente y a partir de muestras cubiertas con película permeable al oxígeno. Es importante recalcar que el efecto observado fue distinto para cada muestra, estudios previos coinciden en indicar que los conteos bacteriológicos generalmente son menores en muestras de pechuga (Castañeda et al., 2013)

A) Coliformes



B) Mesófilos Totales

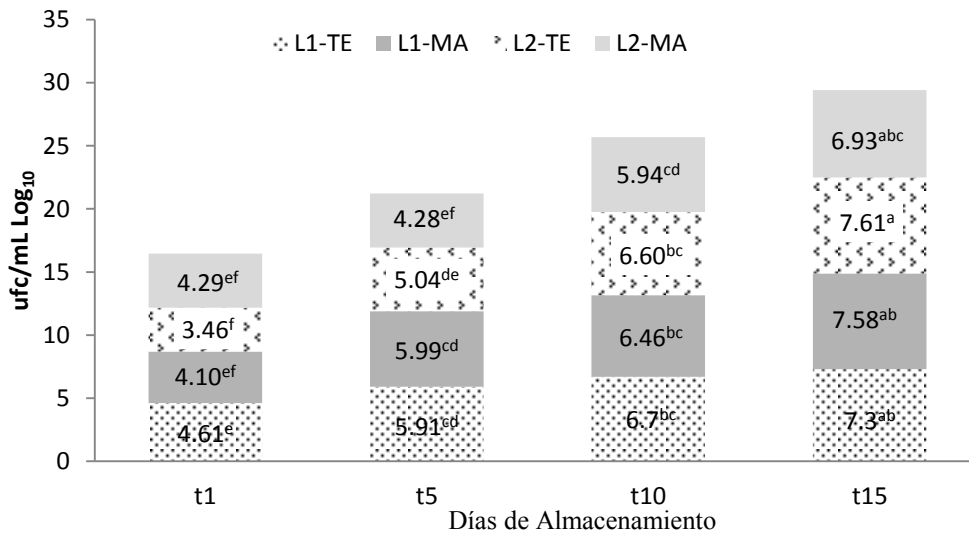
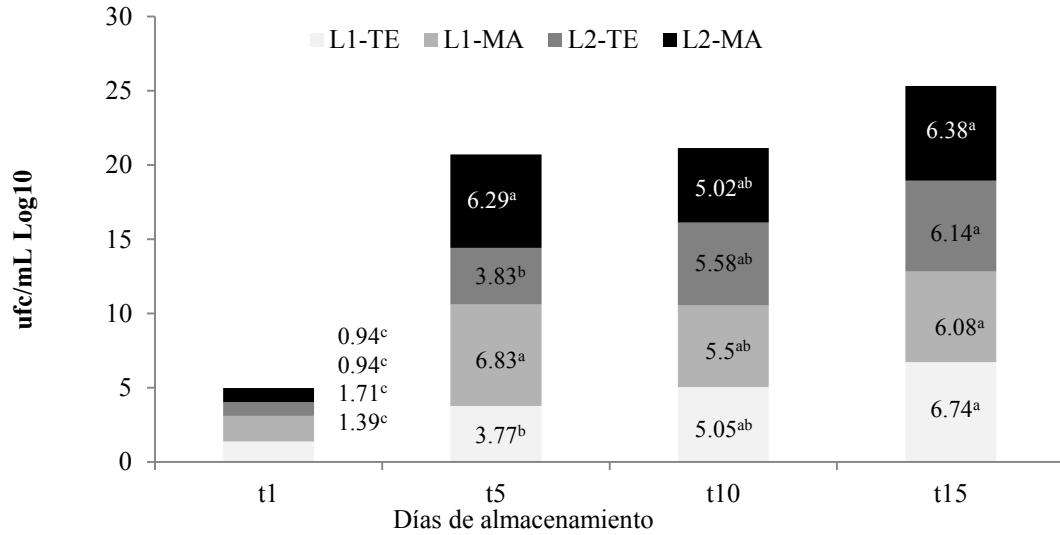


Figura 3.6

Promedios del conteo microbiano en pechugas de pollos (Músculo *Pectoralis major*), sacrificados a los 49 días de edad, pertenecientes a dos estirpe comerciales, tratados con el modulador alostático (MA) y almacenadas en refrigeración (4 °C) durante 15 días. n=8 (2 muestras por 4 réplicas); TE = sin modulador alostático; L1 y L2 = Estirpes comerciales; DA = Días de almacenamiento. ANOVA Arreglo Factorial - Prueba de Tukey; **A)** MA-*P* = 0.001; L-*P* = 0.117; DA-*P* = 0.001 MA*L*DA-*P* = 0.022; **B)** MA-*P* = 0.085; L-*P* = 0.001; DA-*P* = 0.001 MA*L*DA-*P* = 0.003.

A) Coliformes



B) Mesófilos Totales

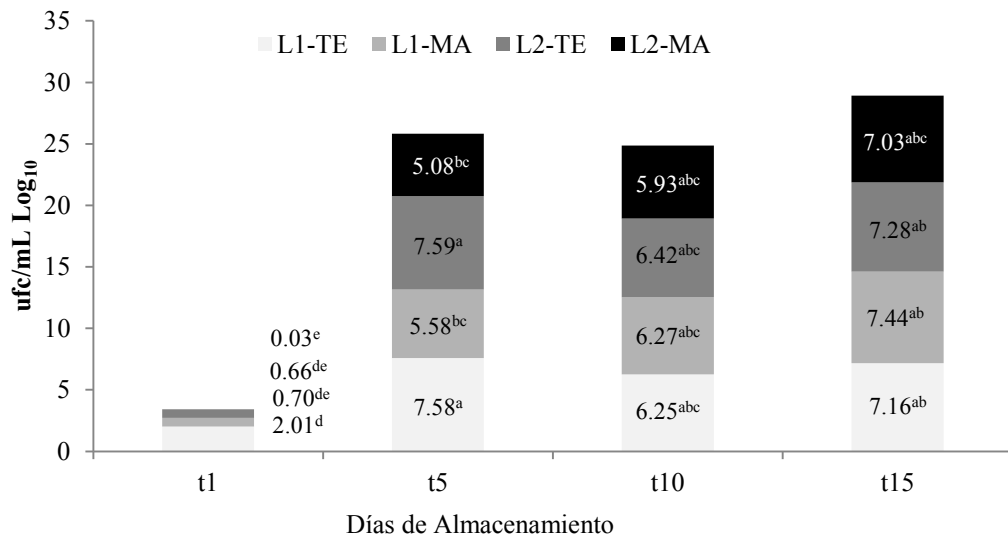


Figura 3.7

Promedios del conteo microbiano de piernas de pollos (*Músculo Biceps femoris*), sacrificados a los 49 días de edad, pertenecientes a dos estirpe comerciales, tratados con el modulador alostático (MA) y almacenadas en refrigeración (4 °C) durante 15 días. n=8 (2 muestras por 4 réplicas); TE = sin modulador alostático; L1 y L2 = Estirpes comerciales; DA = Días de almacenamiento. ANOVA Arreglo Factorial - Prueba de Tukey; **A)** MA-*P* = 0.001; L-*P* = 0.298; DA-*P* = 0.001 MA*DA-*P* = 0.001; **B)** MA-*P* = 0.001; L-*P* = 0.079; DA-*P* = 0.001 MA*DA-*P* = 0.002.

CONCLUSIONES

El presente proyecto mostró que la suplementación con el MA en el agua de bebida reduce efectivamente el pH del buche, mejora la calidad microbiológica y disminuye la presencia de lesiones en las canales de pollos de engorda.

La suplementación del MA en el agua de bebida disminuye la pérdida por goteo en filetes de pechuga almacenados en refrigeración.

La oxidación lipídica y la capacidad antioxidante en muestras de pechuga y pierna no fue modificada por el consumo del MA.

La vida de anaquel, de pechuga y pierna cubiertas con película permeable al oxígeno y almacenadas en refrigeración, mejora con el uso del MA debido a su efecto en la reducción de las poblaciones de coliformes y mesófilos totales; cabe destacar, que el MA no debe considerarse como la única alternativa para el control microbiológico.

El uso de MA reduce la relación Heterófilos:Linfocitos y niveles de Corticosterona en plasma, ambos biomarcadores fisiológicos importantes para determinar la carga alostática por estrés *antemortem*.

El porcentaje de pollos que presentó jadeo al arribo a la planta de procesamiento fue menor por la suplementación del MA.

Todo esto indica que el uso del MA es una nueva alternativa para disminuir la carga alostática en el pollo de engorda, ya que favorece su bienestar durante los manejos *antemortem*. Esta mejora se refleja en aspectos de calidad de la canal y de la carne como son la reducción en el pH de buche, menor porcentaje de defectos de apariencia, disminución en la pérdida por goteo y menores poblaciones de coliformes y mesófilos totales en pechuga y pierna. Para la planta de procesamiento lo anterior redituará en menores mermas por decomiso, favoreciendo la productividad.

REFERENCIAS

Ahmad, T., and M. Sarwar. 2006. Dietary electrolyte balance: implications in heat stressed broilers. *World's Poult. Sci.* 62: 638-653.

Akşit, M., S. Yalçın, S. Özkan, K. Metin, and D. Özdemir. 2006. Effects of temperature during rearing and crating on stress parameters and meat quality of broilers. *Poult. Sci.* 85:1867-1874.

Alvarado, C. Z., and A. R. Sams. 2004. Turkey carcass chilling and protein denaturation in the development of pale, soft and exudative meat. *Poult. Sci.* 83:1039-1046.

Amakyme-Anim, J., T. L. Lin, P. Y. Hester, D. Thiagarajan, B. A. Watkins, and C. C. Wu. 2000. Ascorbic acid supplementation improved antibody response to infectious bursal disease vaccination in chickens. *Poult. Sci.* 79:680-688.

AMSA (1995). Research guidelines for cookery, sensory evaluation, and instrumental tenderness measurements of fresh meat. In: Chicago, IL: American Meat Science Association and National Livestock and Meat Board.

Anderson, K. E., and K. W. Koelkebeck. 2007. Realistic views concerning poultry welfare. *Poult. Sci.* 86:1251-1252.

Avila, L. A. F., C. W. Canal, C. T. P. Salle, and H. L. Moraes. 2003. Effect of acidified drinking water on the recovery of *Salmonella enteritidis* from broiler crops. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* 5(3):183-188.

Balog, J. M., G. R. Huff, N. C. Rath, and W. E. Huff. 2000. Effect of dietary aspirin on ascites in broilers raised in a hypobaric chamber. *Poult. Sci.* 79:1101-1105.

Barbut, S. 1997. Problem of pale soft exudative meat in broiler chickens. *Br Poult Sci.* 38; 355-358.

Barbut, S. 2009. Pale, soft, and exudative poultry meat-Reviewing ways to manage at the processing plant. *Poult. Sci.* 88:1506–1512.

Bianchi, M., M. Petracci, and C. Cavani. 2006. The influence of genotype, market live weight, transportation, and holding conditions prior to slaughter on broiler breast meat color. *Poult. Sci.* 85:123–128.

Bilgili S. F. 1992. Electrical stunning of broilers - Basic concepts and carcass quality implications: A review. *J. Appl. Poult. Res.* 1:135-146.

Bilgili, S. F. 2002. Manejo del retiro de alimento antes del sacrificio para incrementar la calidad del producto. *Memorias 2º Simposium Latinoamericano de Procesamiento de Aves y Calidad de Producto.* ANECA. México, D.F.

Borges, S. A., A. V. Fischer da Silva, J. Ariki, D. M. Hooge, and K. R. Cummings. 2003. Dietary electrolyte balance for broiler chickens exposed to thermoneutral or heat-stress environments. *Poult. Sci.* 82:428-435.

Borges, S. A., A. V. Fischer da Silva, A. Majorca, D. M. Hooge, and K. R. Cummings. 2004. Physiological responses of broiler chickens to heat stress and dietary electrolyte balance (sodium plus potassium minus chloride, milliequivalents per kilogram). *Poult. Sci.* 83:1551-1558.

Broom, D.M. 1986. Indicators of por welfare. *Br Vet J.* 142:524-526

Brunelli de Moraes L. 2004. Estabelecimento de escores histopatológicos de lesão hepática e determinação dos valores normais das enzimas aspartato amino transferase e creatina quinase em frangos de corte. Dissertação de Mestrado Faculdade de Veterinária. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

Byrd, J. A., B. M. Hargis, D. J. Caldwell, R. H. Bailey, K. L. Herron, J. L. McReynolds, R. L. Brewer, R. C. Anderson, K. M. Bischoff, T. R. Callaway, and L. F. Kubena. 2001. Effect of lactic acid administration in the drinking water during preslaughter feed withdrawal on salmonella and campylobacter contamination of broilers. *Poult. Sci.* 80 (3): 278-283.

Candelario-Jalil, E., R. S. Akundi, H. S. Bhatia, K. Lieb, K. Appel, E. Muñoz, M. Hüll, and B. L. Fiebich. 2006. Ascorbic acid enhances the inhibitory effect of aspirin on neuronal cyclooxygenase-2-mediated prostaglandin E2 production. *J. Neuroimmunol.* 174: 39-51.

Castañeda-Serrano, M.P. y M.E. Rubio-García. 2012. Estrés antemortem y alteraciones de la carne de aves. Pág. 311-322 en *Bienestar Animal y Calidad de la Carne*. 2a ed. ELSEVIER. México.

Castañeda-Serrano, M.P., D. Braña, C. Rosario-Cortés y W. Martínez. 2013. Calidad microbiológica de la carne. FMVZ-UNAM, CENID-INIFAP. México.

Cavitt, L. C., Hargis, B. M., and Owens, C. M. 2004. The use of halothane and succinylcholine to identify broilers prone to developing pale, soft, exudative meat. *Poult. Sci.* 83:1440-1444.

Charles, N. M. L. 2003. Manual de hematología aviar. Pág. 24-50. Departamento de Producción Animal Aves, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. México.

Chihuailaf, R. H., P. A. Contreras y F. G. Wittwer. 2002. Patogénesis del estrés oxidativo: Consecuencias y evaluación en salud animal. *Vet. Mex.* 33 (3):265-283.

Dadgar, S., E. S. Lee, T. L. V. Leer, T. G. Crowe, H. L. Classen, and P. J. Shand. 2011. Effect of acute cold exposure, age, sex, and lairage on broiler breast meat quality. *Poult. Sci.* 90:444-457.

Dave, D., and A. E. Ghaly. 2011. Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: A critical review. *Am. J. Agri. & Biol. Sci.* 6 (4): 486-510.

Delles, R. M., Y. L. Xiong, A. D. True, T. Ao, and K. A. Dawson. 2014. Dietary antioxidant supplementation enhances lipid and protein oxidative stability of chicken broiler meat through promotion of antioxidant enzyme activity. *Poult. Sci.* 93:1561-1570. <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2013-03682>

Demirok, E., G. Veluz, W. V. Stuyvenberg, M. P. Castañeda, A. Byrd, and C. Z. Alvarado. 2013. Quality and safety of broiler meat in various chilling systems. *Poult. Sci.* 92:1117-1126.

Descalzo, A. M., L. Rossetti, G. Grigioni, M. Irurueta, A. M. Sancho, J. Carrete, and N. A. Pensel. 2007. Antioxidant status and odour profile in fresh beef from pasture or grain-fed cattle. *Meat Sci.* 75:299-307.

Descalzo, A.M., and A.M. Sancho. 2008 A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina. *Meat Scie.* 79: 423-436.

Duncan, I. J., G. S. Slee, P. Kettlwell, P. Berry, and A. J. Carlisle. 1986. Comparison of the stressfulness of harvesting broiler chickens by machine and by hand. *Br. Poult. Sci.* 27(1):109-114.

Dunnington, E. A., P. B. Siegel, M. N. Katanbaf, and W. V. Gross. 1987. Respose of early and late feathering broilers to various stressors. *Poult. Sci.* 66(1):168-170.

Estevez, I. 2007. Density allowances for broilers: Where to set the limits?. *Poult. Sci.* 86:1265–1272.

Fletcher, D. L., M. Qiao, and D. P. Smith. 2000. The relationship on raw broiler breast meat color and pH to cooked meat color and pH. *Poult. Sci.* 78:784-788.

Gao, J., H. Lin, X. J. Wang, Z. G. Song, and H. C. Jiao. 2010. Vitamin E supplementation alleviates the oxidative stress induced by dexamethasone treatment and improves meat quality in broiler chickens. *Poult. Sci.* 89:318-327.

García, R. G., L. W. Freitas, A. W. Schwingel, R. M. Farias, F. R. Caldara, A. M. A. Gabriel, J. D. Graciano, C. M. Komiyama, and I. C. L. Almeida Paz. 2010. Incidence and physical properties of PSE chicken meat in a commercial processing plant. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* 12(4):233-237.

Grandin, T. 1997. Assessment of stress during handling and transport. *J. Anim. Sci.* 75:249-257.

Gross, W. B. 1988. Effect of environmental stress on the responses of ascorbic-acid-treated chickens to Escherichia coli challenge infection. Avian. Dis. 32(3):432-436.

Hargis, B. M., D. J. Caldwell, and J. A. Byrd. 2001. Microbiological pathogens: live poultry considerations. Pages 121-135, in Poultry Meat Processing. Alan R. Sams. Department of Poultry Science. Texas A&M University. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

Harvey, A. L., and I. G. Marshal. 1986. Muscle. Pags. 74-83. In Avian Physiology. Ed P. D. Sturkie, 4th ed. Academic Press, Spronger-Verlag New York Inc. USA.

Harvey, S., C. G. Scanes, and K. I. Brown. 1986. Adrenals. Pags. 479-493. In Avian Physiology. Ed P. D. Sturkie, 4th ed. Academic Press, Spronger-Verlag New York Inc. USA.

Hazelwood, R. L. 1986. Carbohydrate metabolism. Pags 303-325. In Avian Physiology. Ed P. D. Sturkie, 4th ed. Academic Press, Spronger-Verlag New York Inc. USA.

Herring, G., and D. E. Gawlik. 2007. The role of stress proteins in the study of allostatic overload in birds: use and applicability to current studies in avian ecology. ScientificWorldJournal. 7: 1596-1602.

Hinton, Jr. A., R. J. Buhr, and K. D. Ingram. 2000a. Physical, chemical, and microbiological changes in the crop of broiler chickens subjected to incremental feed withdrawal. *Poult. Sci.* 79:212-218.

Hinton, Jr. A., R. J. Buhr, and K. D. Ingram. 2000b. Reduction of Salmonella in the crop of broiler chickens subjected to feed withdrawal. *Poult. Sci.* 79:1566-1570.

Iqbal, K., A. Khan, and A. K. K. M. Muzaffar. 2004. Biological significance of ascorbic acid (vitamin C) in human health – A review. *Pakistan J Nutr.* 3 (1): 5-13.

Jayalakshmi, T., R. Kumararaj, T. Sivakumar, and T. V. Thanga. 2009. Carcass characteristics of commercial broilers reared under varying stocking densities. *Tamilnadu J. Veterinary & Animal Sci.* 5 (4):132-135.

Johnson, R. W., S. E. Curtis, and R. D. Shanks. 1991. Effects on chick performance on ammonia and heat stressors in various combination sequences. *Poult. Sci.* 70:1132-1137.

Kannan, G., J. L. Heath, C. J. Wabeck, M. Souza, J. C. Howe, and J. A. Mench. 1997. Effects of crating and transport on stress on meat quality characteristics in broilers. *Poult. Sci.* 76: 523-529.

Kannan, G., J. L. Heath, S. Wabeck, L. Owens, and J. A. Mench. 1998. Elevated plasma corticosterone concentrations influence the onset of rigor mortis and meat color in broilers. *Poult. Sci.* 77:322-328.

Khassaf, M., A. McArdle, C. Esanu, A. Vasilaki, F. McArdle, R. D. Griffiths, D.A. Brodie, and M.J. Jackson. 2003. Effect of vitamin C supplements on antioxidant defense and stress protein in human lymphocytes and skeletal muscle. *J Physiol.* 549: 645-652.

Korte, S. M., J. M. Koolhaas, J. C. Wingfield, and B. S. McEwen. 2005. The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-off in health and disease. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 29:3-38. doi:10.1016/j.neubiorev.2004.08.009

Kun, Z., A. N. Uluocak, and M. Karaman. 2009. The influence of some factors on carcass defects during fattening period in broilers. *Arch. Zootec.*; 58 (221): 117-120.

Le Bihan-Duval, E., N. Millet, and H. Remignon. 1999. Broiler meat quality: Effect of selection for increased carcass quality and estimates of genetic parameters. *Poult. Sci.* 78:822-826.

Lin, H., J. Gao, Z.G. Song, and H.C. Jiao. 2009. Corticosterone administration induces oxidative injury in skeletal muscle of broiler chickens *Poult. Sci.* 88:1044-1051.

Liu, Y., B. G. Lyon, W. R. Windham, C. E. Lyon, and E. M. Savage. 2004. Prediction of physical, color, and sensory characteristics of broiler breasts by visible/near infrared reflectance spectroscopy. *Poult. Sci.* 83:1467-1474.

McEwen, B. S. 2000. Allostasis and allostatic load: implications for neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology*. 22:108-124.

McEwen, B. S. 2008. Central effects of stress hormones in health and disease: understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. *Eur. J. Pharmacol.* 583(2-3): 174-185

McFarlane, J. M., S. E., Curtis, R. D. Shanks, and S. G. Carmer. 1989a. Multiple concurrent stressors in chicks. 1. Effects on weight gain, feed intake and behaviour. *Poult. Sci.* 68(4):501-509.

McFarlane, J. M., S. E., Curtis, J. Simon, and O. A. Izquierdo. 1989b. Multiple concurrent stressors in chicks. 2. Effects on hematologic, body composition, and pathologic traits. *Poult. Sci.* 68(4):510-521.

McFarlane, J. M., and S.E. Curtis. 1989c. Multiple concurrent stressors in chicks. 3. Effects on plasma corticosterone and the heterophil:lymphocyte ratio. *Poult. Sci.* 68(4):522-527.

McKee, J. S., and P. C. Harrison. 1995. Effects of supplemental ascorbic acid on the performance of broiler chickens exposed to multiple concurrent stressors. *Poult. Sci.* 74(11):1772-1785.

McKee, J. S., P. C. Harrison, and G. L. Riskowski. 1997. Effects of supplemental ascorbic acid on the energy conversion of broiler chicks during heat stress and feed withdrawal. *Poult. Sci.* 76(9):1278-1286.

Mc Neal, W. D., D. L. Fletcher, and R. J. Buhr. 2003. Effects of stunning and decapitation on broiler activity during bleeding, blood loss, carcass, and breast meat quality. *Poult. Sci.* 82:163-168.

Minton, J. E. 1994. Function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic nervous system in models of acute stress in domestic farm animals. *J. Anim. Sci.* 72: 1891-1898.

Mitchell, M. A., P. J. Kettlwell, K. Aldren, and A. Meehan. 1990. Characterization of the broiler transport environment and associated physiological consequences. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 26:291-292.

Mitchell, M. A., and P. J. Kettlwell. 1998. Physiological stress and welfare of broiler chickens in transit: solutions not problems!. *Poult. Sci.* 77(12):1803-1814.

Molina, B. E. 2010. Conceptos básicos de bienestar animal. Memorias de las 2das Jornadas de Estrés Animal. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, México, D.F. 26-28 pp.

Moura, D. J., I.A. Nääs, D.F. Pereira, R. B. T. R. Silva, and G. A. Camargo. 2006. Animal welfare concepts and strategy for poultry production: A review. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* 8(3):137-148.

Nassem, S., M. Younus, B. Anwar, A. Ghafoor, A. Aslam, and S. Akhter. 2005. Effect of ascorbic acid and acetylsalicylic acid supplementation on performance of broiler chicks exposed to heat stress. *Int. J. Poult. Sci.* 4(11):900-904.

Nijdam, E., E. Delezie, E. Lambooij, M. J. A. Nabuurs, E. Decuypere, and J. A. Stegemanet. 2005. Feed withdrawal of broilers before transport changes plasma hormone and metabolite concentrations. *Poult. Sci.* 84:1146–1152.

Northcutt, J. K. 2001. Preslaughter factors affecting poultry meat quality. Pages 5-18 in *Poultry Meat Processing*. Alan R. Sams. Department of Poultry Science. Texas A&M University. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

Northcutt, J.K., M.E. Berrag, J.A. Dickens, D.L. Fletcher, and N.A. Cox. 2003. Effect of broiler age, feed withdrawal, and transportation on levels of coliforms, *Campylobacter*, *Escherichia coli* and *Salmonella* on carcasses before and after immersion chilling. *Poult. Sci.* 82:169-163.

Northcutt, J., D. Smith, K. D. Ingram, A. Hinton Jr., and M. Musgrove. 2007. Recovery of bacteria from broiler carcasses after spray washing with acidified electrolyzed water or sodium hypochlorite solutions. *Poult. Sci.* 86:2239-2244.

OIE (2007). Bienestar de los animales. En: Código sanitario para los animales terrestres. Organización Mundial de Sanidad Animal. Paris, Francia. Disponible en: www.oie.int/doc/ged/d6432.pdf

Olanrewaju, H. A., J. P. Thaxton, W. A. Dozier III, and S. L. Branton. 2007. Electrolyte diets, stress, and acid-base balance in broiler chickens. *Poult. Sci.* 486:1363–1371.

Özaslan, M., T. Aytakin, I. H. Kilic, A. I. Bozkurt, E. Güldür, B. Cengiz, and C. Bağcı. 2004. The effect of vitamin C supplementation on leukocyte counts and exercise performance. *J. Exerc. Physiol. Online.* 7(2) 101-105.

Pohanka, M., J. Pejchal, S. Snopkova, K. Havlickova, J.Z. Karasova, P. Bostik, and J. Pikula. 2012. Ascorbic acid: An old player with a broad impact on body physiology including oxidative stress suppression and immunomodulation: A Review. *Mini-Reviews in Med. Chem.* 12 (1):1-9.

Puthongsiriporn, U., S.E. Scheideler, J.L. Sell, and M.M. Beck. 2001. Effect of vitamin E and C supplementation on performance, in vitro lymphocyte proliferation, and antioxidants status on laying hens during heat stress. *Poult. Sci.* 80:1190-1200.

Puvadolpirod, S., and J. P. Thaxton. 2000a. Model of physiological stress in chickens1. Response parameters. *Poult. Sci.* 79:363-369.

Puvadolpirod, S., and J. P. Thaxton. 2000b. Model of physiological stress in chickens2. Dosimetry of adrenocorticotropic. *Poult. Sci.* 79:370-376.

Puvadolpirod, S., and J. P. Thaxton. 2000c. Model of physiological stress in chickens3. Temporal patterns response. *Poult. Sci.* 79:377-382.

Puvadolpirod, S., and J. P. Thaxton. 2000d. Model of physiological stress in chickens4. Digestion and metabolism. *Poult. Sci.* 79:383-390.

Qureshi, M.A. 1998. Role of macrophages in avian health and disease. *Poult. Sci.* 77:978-982.

Raharjo, S., J. N. Sofos, and G. R. Schmidt. 1992. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. *J. Agric. Food Chem.* 40:2182-2185.

Remignon, H., and E. Le Bihan-Duval. 2003. Meat quality problems associated with selection for increased production. Pags. 53-63. In *Poultry genetics, breeding and biotechnology*. Eds W.M. Muir and S.E. Aggrey. CAB International. Cromwell Press, Trowbridge, UK.

Revidatti, F.A., R.J. Fernandez, J.C. Terraes, G.L. Sandoval y P. Esquivel de Luchi. 2001. Modificaciones del peso corporal e indicadores de estrés en pollos parrilleros sometidos a inmovilización y volteo. *Rev. Vet.* 12(1):11-14.

Rohleder, N. 2008. Preventing acute stress-induced inflammatory disinhibition by aspirin: What does it tell us about the mechanism? *Brain Behav. Immun.* 22 (2):148-149.

Romero, L. M., M. J. Dickens, and N. E. Cyr. 2009. The reactive scope model - A new model integrating homeostasis, allostasis and stress. *Horm. Behav.* 55:375-389. doi:10.1016/j.yhbeh.2008.12.009

Rostango, M. H. 2009. Can stress in farm animals increase food safety risk?. *Foodborne Pathog. Dis.* 6 (7): 767-776. doi:10.1089/fpd.2009.0315

Roussan, D. A., G. Y. Khwaldeh, R. R. Haddad, I. A. Shaheen, G. Salameh, and R. Al Rifai. 2008. Effect of ascorbic acid, acetylsalicylic acid, sodium bicarbonate, and potassium chloride supplementation in water on the performance of broiler chickens exposed to heat stress. *J. Appl. Poult. Res.* 17:141-144. doi:10.3382/japr.2007-00087

Russell S. M. 2001. Spoilage bacteria associated with poultry. Pages 160 -179, in *Poultry Meat Processing*. Alan R. Sams. Department of Poultry Science. Texas A&M University. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

Sacchetti, G., C. Di Mattia, P. Pittia, and G. Martino. 2008. Application of a radical scavenging activity test to measure the total antioxidant activity of poultry meat. *Meat Sci.* 80:1081-1085.

Sams, A. R. 1999. Meat quality during processing. *Poult. Sci.* 78:798-803.

Sams, A. R. 2002. Calidad del producto en la planta de procesamiento. Memorias 2º Simposium Latinoamericano de Procesamiento de Aves y Calidad de Producto. ANECA. México, D.F.

Sandoval, G.L., F.A., Revidatti, J.C. Terraes, R.J. Fernandez, y P. Esquivel de Luchi. 2000. Efectos del estrés sobre el peso y parámetros bioquímicos de pollos parrilleros con y sin tratamiento lipotrópico continuo. *Rev. Vet.* 11(2): 25-29.

Savenije, B., E. Laambooi, M. A. Gerritzen, K. Venema, and J. Korf. 2002. Effects of feed deprivation and transport on preslaughter blood metabolites, early postmortem muscle metabolites, and meat quality. *Poult. Sci.* 81:699-708.

Schneider, B. L., R. A. Renema, M. Betti, V. L. Carney, and M. J. Zuidhof. 2012. Effect of holding temperature, shackling, sex, and age on broiler breast meat quality. *Poult. Sci.* 91:468-477.

Serpen, A., V. Gökmen, and V. Fogliano. 2012. Total antioxidant capacities of raw and cooked meats. *Meat Sci.* 90:60-65.

Seyle, H., and C. Fortier. 1950. Adaptive reaction to stress. Proc. 29a Annual Meeting of the Association for Research in Nervous and Mental Disease. Baltimore, USA.

Škrbić, Z., Z. Pavlovski, and M. Lukić. 2009. Stocking density – factor of production performance, quality and broiler welfare. *Biotechnol. Anim. Husb.* 25 (5-6) 359-372.

Smith, D. M. 2001. Functional properties of muscle proteins in processed poultry products. Pages 182-194 in *Poultry Meat Processing*. Alan R. Sams. Department of Poultry Science. Texas A&M University. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

Stewart, J. A. 2006. The detrimental effects of allostasis: allostatic load as a measure of cumulative stress. *J. Physiol. Anthropol.* 25: 133–145.

Stilborn, H. L., G. C. Harris Jr, W. G. Bottje, and P. W. Waldroup. 1988. Ascorbic acid and acetylsalicylic acid (aspirin) in the diet of broilers maintained under heat stress conditions. *Poult. Sci.* 67 (8): 1183-1187.

Struwe, F. J., E. W. Gleaves, J. H. Douglas, and P. L. Bond Jr. 1992 Effect of rearing floor type and ten-day break trimming on stress and performance of caged layers. *Poult. Sci.* 71:70-75.

Sturkie, P.D., and P. Griminger. 1986. Body fluids: Blood. Pags 102-129. In Avian Physiology. Ed P. D. Sturkie, 4th ed. Academic Press, Spronger-Verlag New York Inc. USA.

Tao, X., H. Dong, H. Zhang and H. Xin. 2011. Sex-based responses of plasma creatine kinase in broilers to thermoneutral constant and cyclic high temperatures. British Poult. Sci. 52 (6): 800-806.

The welfare of chickens kept for meat production (Broilers). Report of the Scientific Committe on Animal Health and Animal Welfare 2000. Disponible en http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scah/out39_en.pdf

Thielke, S., S. K. Lhafi, and M. Kühne. 2005. Effects of aging prior to freezing on poultry meat tenderness. Poult. Sci. 84:607–612.

Tyler, P. J., and K.A. Cummins. 2003. Effect of dietary ascorbyl-2-phosphate on immune function after transport to a feeding facility. J. Dairy Sci. 86:622–629.

Unión Nacional de Avicultores. Registra crecimiento de 1.7% la industria avícola mexicana en 2013. Enero 21 de 2014. Disponible en: www.una.org.mx

USDA, 1998. Poultry Grading Manual. Agriculture Handbook No. 31. USDA, Agricultural Marketing Services, Washington, D.C.

Van Laack, R. L. J. M., C. H. Liu, M. O. Smith, and H. D. Loveday. 2000. Characteristics of pale, soft, exudative broiler breast meat. *Poult. Sci.* 79:1057-1061.

Vane, J. R., and R. M. Botting. 2003. Review Article-The mechanism of action of aspirin. *Thromb Res.* 110: 255-258.

Vecerek, V., S. Grbalova, E. Voslarova, B. Janackova, and M. Malena. 2006. Effects of travel distance and the season of the year on death rates of broilers transported to poultry processing plants. *Poult. Sci.* 85:1881-1884.

Vieira, F. M. C., I. J. O. Silva, J. A. D. Barbosa Filho, A. M. C. Vieira, and D. M. Broom. 2011. Preslaughter mortality of broilers in relation to lairage and season in a subtropical climate. *Poult. Sci.* 90:2127-2133.

Vosmerova, P., J. Chloupek, I. Bedanova, P. Chloupek, K. Kruzikova, J. Blahova, and V. Vecerek. 2010. Changes in selected biochemical indices related to transport of broilers to slaughterhouse under different ambient temperatures. *Poult. Sci.* 89:2719-2725.

Wang, R. R., X. J. Pan, and Z. Q. Peng. 2009. Effects of heat exposure on muscle oxidation and protein functionalities of pectoralis major in broilers. *Poult. Sci.* 88:1078-1084.

Whiting, T. L., M. E. Drain, and D. P. Rasali. 2007. Warm weather transport of broiler chickens in Manitoba. II. Truck management factors associated with death loss in transit to slaughter. *Can. Vet. J.* 48:148-154.

Yonka, Y., F. Kirkpinar, S. Mert, and S. Yurtseven. 2009. Effect of dietary ascorbic acid supplementation on growth performance, carcass, bone quality and blood parameters in broilers during natural summer temperature. *Asian J Anim Vet Adv.* 4(3): 139-147.

Young, J. F., J. Stagsted, S. K. Jensen, A. H. Karlsson, and P. Henckel. 2003. Ascorbic acid, α -tocopherol, and oregano supplements reduce stress-induced deterioration of chicken meat quality. *Poult. Sci.* 2:1343–1351.

Zhang, W. H., F. Gao, Q. F. Zhu, C. Li, Y. Jiang, S. F. Dai, and G. H. Zhou. 2011. Dietary sodium butyrate alleviates the oxidative stress induced by corticosterone exposure and improves meat quality in broiler chickens. *Poult. Sci.* 90:2592–2599.

Zulkifli, I., M. T. Che Norma, C. H. Chong, and T. C. Loh. 2000. Heterophil to lymphocyte ratio and tonic immobility reactions to preslaughter handling in broiler chickens treated with ascorbic acid. *Poult. Sci.* 79(3):402-406.

ABREVIATURAS Y SIGLAS USADAS

a* - Tonos rojos

AA - Ácido ascórbico

ABTS - Ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)

ACTH - Hormona corticotrópica

AINEs - Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos

ANOVA - Análisis de varianza

ASA - Ácido acetilsalicílico

AST- Aspartato aminotransferasa

AU - Ácido úrico

b* - Tonos amarillos

CAT- Catalasa

CEIEPAv-Centro de Enseñanza Investigación y Extensión en Producción Avícola

CEPIPSA - Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal

CK - Creatinquinasa

CORT- Corticosterona

COX-2 - Ciclooxigenasa

CRH - Factor liberador de corticotrofina

CV - Coeficiente de variación

DA - Días de almacenamiento

FMVZ - Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

GLU - Glucosa

h - Horas

H:L - Relación heterófilos:linfocitos

HPA - Eje hipotálamo-pituitaria-adrenal

IL - Interleucinas

L - Litros

L*- Luminosidad

L1 y L2 - Estirpes

MA - Modulador alostático

MDA - Malonaldehído

w/v - Masa/volumen

OIE - Organización Mundial de Sanidad Animal

PBS - Solución buffer de fosfatos

PGE - Prostraglandinas

pH - Potencial de hidrógeno

pH_i - Potencial de hidrógeno antes del tanque de enfriado

pH_m - Potencial de hidrógeno después del tanque de enfriado

pH_u - Potencial de hidrógeno tras 24 h de refrigeración

PPG₂₄- Pérdida por goteo 24 h de almacenamiento

PPG₄₈- Pérdida por goteo 48 h de almacenamiento

PPG₇₂- Pérdida por goteo 72 h de almacenamiento

PPG_{Tg}- Pérdida total por goteo en gramos

PPGT%- Porcentaje de pérdida total por goteo

PSE - Carne pálida, suave y exudativa

PT - Proteínas totales

ROS - Especies reactivas de oxígeno

SNS - Sistema nervioso simpático

SOD - Superóxido dismutasa

T_i - Evaluación antes del manejo *antemortem*

T_f - Evaluación después del manejo *antemortem*

t₁ - Evaluación al día 1

t₅ - Evaluación al día 5

t₁₀ - Evaluación al día 10

t₁₅ - Evaluación al día 15

TBA - Ácido tiobarbitúrico

TBARS - Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico

TCA - Ácido tricloroacético

TE - Testigo sin modulador

TGI - Tracto gastrointestinal

UFC - Unidades formadoras de colonia

UNAM - Universidad Nacional Autónoma de México

W-B - Warner-Bratzler

μEq - microequivalentes