



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

# *“Efecto de los ácidos grasos Omega3 (n-3) incorporados a las dietas de gallinas sobre la composición del huevo”*



*Alumna: Méd. Vet. Paola Patricia Cardaci.*

*Directora: Dra. Claudia Isabel Gallinger.*

*Codirector: Dr. Miguel Petruccelli.*



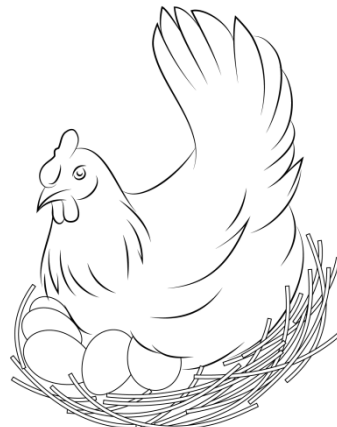
## ESPECIALIZACIÓN EN NUTRICIÓN ANIMAL

*“Efecto de los ácidos grasos Omega3 (n-3)  
incorporados a las dietas de gallinas sobre la  
composición de huevo”*

**Alumna: Med. Vet. Paola Patricia Cardaci**

**Directora: Dra. Claudia Isabel Gallinger**

**Codirector: Dr. Miguel Petrucelli**





## *Agradecimientos....*

*Especialmente a quienes de distintas maneras hicieron posible que realizara y terminara este trabajo...*

*A la FCV-UNLP.*

*A mi directora: Claudia Gallinger.*

*A Elena del Barrio.*

*A Hernán González.*

*A mis compañeros de trabajo.*

*Al amor de mi vida: Tobías.....*



## *Índice*

1. Resumen: .....	5
2. Introducción .....	8
2.1. Alimento funcional .....	8
2.2. Ácidos grasos esenciales y omega tres. ....	10
3. Antecedentes y Efectos sobre la salud humana:.....	11
Enfermedad cardiovascular:.....	11
Diabetes .....	12
Efectos antiinflamatorios .....	12
Otras enfermedades .....	13
Efecto de los ácidos grasos incorporados a las dietas de los animales sobre la composición de huevo.....	13
3.1 Vitamina E .....	15
3.1.1. Composición química .....	15
3.1.2. TABLA. Actividad relativa de los estereoisómeros del $\alpha$ -tocoferol (Weiser & Vecchi, 1982).....	16
3.1.3 Funciones fisiológicas:.....	17
3.1.4 Déficit de vitamina E: .....	18
3.1.5 Fuentes de vitamina E .....	19
3.1.5 TABLA. Fuentes que aportan Vitamina E .....	20
3.1.6. Vitamina E y su uso en huevo enriquecidos con ácidos grasos omega-3.....	20
4. Objetivos .....	23
4.1 Objetivo general:.....	23
4.2. Objetivos Específicos:.....	23
5. Materiales y Métodos .....	23
5.1. Descripción del ensayo en vivo.....	24



6. Tratamientos.....	25
6.2. Determinaciones analíticas en las dietas/alimentos.....	26
6.2.1. Perfil lipídico de los aceites .....	28
6.3. Determinaciones en los Huevos: .....	29
6.3.1: Análisis físico de los huevos.....	29
6.3.5. Análisis Sensorial .....	31
7. Costos.....	32
7.1. Determinar el costo de producción del producto a obtener.....	32
8. Resultados y discusión.....	34
8.1. Análisis de los aceites y dietas. ....	35
8.1 TABLA. Extraída de.....	37
8.2. Perfil lipídico de las dietas .....	38
8.3. Análisis en Huevos.....	39
8.3.1. Calidad interna de los huevos. Efecto de la fuente de omega tres y el agregado de vitamina .....	39
8.4. Perfil lipídico de los huevos. ....	40
8.5. Estabilidad oxidativa:.....	43
8.6. Contenido de vitamina E en Huevo.....	44
8.7. Análisis Sensorial: .....	46
9. Conclusiones .....	48
10. Referencias bibliográficas.....	49



## *“Efecto de los ácidos grasos Omega-3 (n-3) incorporados a las dietas de gallinas sobre la composición de huevo”.*

### *1. Resumen:*

Los consumidores argentinos, al igual que otras poblaciones occidentales, presentan un déficit en el consumo de ácidos grasos omega tres, esto se debe principalmente a un bajo consumo de pescado. Una de las posibilidades para incrementar la ingesta de estos ácidos grasos es recurrir a productos enriquecidos con los mismos.

Este trabajo se realizó en INTA – EEA Pergamino, Sección Avicultura y la EEA C. del Uruguay. Se utilizaron 144 gallinas ponedoras de la línea Ponedoras Hy-Line W-36 de 32 semanas de edad que fueron alimentadas por un período de 28 días. Se realizaron seis tratamientos, usando tres fuentes de aceite y dos niveles (0-100 ppm) de inclusión de acetato de  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E). Cada tratamiento contó con seis 6 jaulas conteniendo 4 gallinas por jaula. Las dietas fueron formuladas isoenergéticas e isoproteicas en base maíz/soja con la incorporación de las diferentes fuentes de omega-3. Se analizó la composición lipídica de los huevos, los valores de TBARs y se realizó análisis sensorial.

Se pudo observar un impacto significativo de las diferentes fuentes de omega-3 sobre los ácidos grasos n-3 y n-6, por otro lado, los AGS PUFA Y MUFA no fueron diferentes estadísticamente entre tratamientos. La fuente de aceite de calamar produjo un incremento significativo de EPA y DHA, además el aceite de lino produjo un aumento significativo de



ALAcuando se los compara con los huevos provenientes de las gallinas alimentadas con la dieta con aceite de soja. La relación n-6/n-3 en los huevo fue muy similar a la relación de los mismos en las raciones.

Considerando que un huevo contiene aproximadamente 4,6% de grasa (Antruejo et al,2011) el contenido promedio de omega-3 fue de 90 mg para un huevo comercial estándar mientras que la inclusión con aceite de lino y aceite de calamar proporcionó 229 y 207 mg de omega-3. En el caso que la fuente fue el aceite de linola suma de EPA Y DHA corresponde a un 41% del total de omega-3 por otro lado la incorporación de aceite de calamar la suma de EPA Y DHA corresponde al 84% del total de omega tres de cadena larga.

Analizando los valores de vitamina E de las gallinas que no tuvieron dietas suplementadas con dicha vitamina, los huevos de los tres tratamientos no presentaron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) en el contenido de vitamina E. Por otro lado, en los huevos provenientes de las gallinas alimentadas con la dieta suplementada con 100ppm de vitamina E, el tratamiento 2 fue levemente superior al tratamiento 1 ( $p<0.05$ ) y no diferente del tratamiento 3.

En el análisis sensorial no se observó diferencia significativas respecto a un huevo comercial cuando se utilizó aceite de calamar sin la adición de vitamina E. El agregado de vitamina E mejora la estabilidad de sus lípidos y permitió también aumentar de manera significativa el contenido de la misma en el huevo.



Con la inclusión de aceite de calamar al 2% se pudo obtener un producto con 207 mg de omega -3, siendo el 80% de ellos ácidos grasos de cadena larga.

En el presente estudio se muestra como novedoso que es el único trabajo realizado hasta el momento en huevos para consumo donde los animales fueron suplementados con AGn-3 de cadena larga de aceites de origen Nacional, proveniente de una Aceitera de Mar del Plata y extraído de vísceras de calamar y que brindará información sobre diferentes aspectos de la calidad del producto como así también del costo de producción en nuestro país.

El interés sobre la relación entre la dieta y la salud humana proveen oportunidades para la producción, y mercado de huevos modificados, por los cuales el consumidor podría pagar un sobre costo.

**Palabras claves:** Ácidos grasos Omega 3, huevo de gallina, aceite de vísceras de calamar.





## ***2. Introducción***

### **2.1. Alimento funcional**

Teniendo como premisa que en la actualidad, con el aumento en la vida media de los individuos, los consumidores buscan alimentos que les aporten ventajas extras a las necesidades básicas para su manutención y crecimiento. Este nuevo escenario ha llevado a los consumidores al creciente interés en productos enriquecidos con nutrientes o componentes que mejoren su bienestar, incluso están dispuestos a pagar más por este tipo de productos (Alvidrez-Morales et al., 2002; Grashorn, 2007).

El concepto de alimento funcional, que surgió en Japón en la década de los ochenta, ha sido posteriormente ampliado en los Estados Unidos y en Europa. Expresa implícitamente que los alimentos y los componentes alimentarios pueden ejercer una influencia beneficiosa sobre las funciones fisiológicas al mejorar el estado de bienestar y salud, y reducir el riesgo de enfermedad. En los años noventa, el ILSI Europe (ILSI Europa) elaboró un proyecto sobre alimentos funcionales presentado como una acción concertada de la Comisión Europea (CE). Este es conocido por sus siglas en inglés FUFOS (‘‘Funcional FoodScience in Europe’’), iniciativa concertada que comenzó en 1995.

En los EEUU la Academia Nacional de Ciencias los ha definido como alimentos modificados o que tengan un ingrediente que demuestre una acción que incremente el bienestar del individuo o disminuya los riesgos



de enfermedades, más allá de la función tradicional de los nutrientes que contiene (Sernac, 2004).

La nutrición actual está enfocada a la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles, donde la dieta y estilo de vida desempeñan roles etiológicos. Los consumidores están preocupándose cada vez más de su autocuidado y esperan, a través de los alimentos consumidos, alcanzar o mantener su salud y bienestar (Araya & Lutz, 2003).

La producción de un alimento funcional tiene que estar abocada a aquellos alimentos de consumo habitual en la población y prueba de ello son los diversos productos como la harina, panes, lácteos con propiedades nutritivas modificadas que se encuentran en el mercado.

El huevo constituye un excelente producto para ser mejorado ya que en la Argentina se consume alrededor de un huevo por día (274 huevos/habitante/año, según CAPIA, 2017).

La composición del huevo puede variar debido a distintos factores como la alimentación, la genética y la edad de la gallina, cambios importantes con repercusión práctica a nivel nutricional se han descrito en los lípidos (por ejemplo ácidos grasos omega-3, CLA), las vitaminas liposolubles como la E y algunos minerales (yodo, cromo y selenio) lo que permite la producción de huevos enriquecidos en diferentes componentes de interés nutricional y/o funcional.



Sin lugar a dudas, dentro de las modificaciones que se han realizado al valor nutritivo del huevo, los ácidos grasos omega tres han sido los más estudiados, existiendo en la actualidad numerosas marcas en el mundo.

Existe una extensa literatura que concluye que estos “huevos diseñados” constituyen un nuevo tipo de alimento funcional (Surai&Spark, 2001).

## **2.2. Ácidos grasos esenciales y omega tres.**

Los ácidos grasos esenciales (AGE) son aquellos que el organismo no puede sintetizar, por lo que tienen que ser obtenidos a través de la dieta. Hay dos familias de AGE: los Omega -3 (n-3) y los Omega-6 (n-6). Dado que estos ácidos grasos no están saturados de átomos de hidrogeno (H) y tienen más de un enlace doble entre los átomos se denominan ácidos grasos Poliinsaturados (PUFAs por su sigla en inglés). La mayoría de los PUFAs provienen de las plantas y los pescados grasos. (Brunell, etal.,2013)

Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) Omega-3 (n-3), son aquellos que contienen uno de los dobles enlaces situados en el tercer átomo de carbono contando a partir del extremo metilo. Los principales AGPI n-3 en la dieta son el ácido linolenico (ALA; 18:03  $\Delta$ 9c, 12c, 15c), el ácido eicosapentaenoico (EPA; 20:05  $\Delta$ 5c, 8c, 11c, 14c, 17c), el ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6  $\Delta$ 4c, 7c, 10c, 13c, 16c, 19c) y el ácido docosapentaenoico (DPA, 22:5  $\Delta$ 7c, 10c, 13c, 16c, 19c). EPA, DHA y DPA son n-3 AGPIs de cadena larga (n-3 CL) es decir, AGPI n-3 con 20 o más átomos de carbono. Los n-3 CL son componentes estructurales importantes de las membranas celulares, ya que contribuyen a diversas funciones de la misma, tales como la fluidez, la permeabilidad, la unión a



enzimas y receptores, y la transducción de señales (Bourre, et al., 2006). El pescado es una rica y única fuente de n-3 LC AGPI. Otras fuentes naturales son la leche humana, las algas marinas, los mamíferos marinos y el krill. Las proporciones de EPA: DHA: DPA difieren entre las diversas fuentes de n-3 LC AGPI, aunque DPA es generalmente un componente cuantitativo menor en comparación con el EPA y DHA (Bourre et al., 2006).

### *3. Antecedentes y Efectos sobre la salud humana:*

Los ácidos grasos omega tres tienen un efecto positivo sobre muchas enfermedades crónicas, como las cardiopatías, los accidentes cerebrovasculares, el cáncer y la diabetes.

#### **Enfermedad cardiovascular:**

Estudios epidemiológicos y de intervención indican que los n-3 AGPI reducen la mortalidad debida a la enfermedad cardiovascular. Estos actúan a bajas dosis y el consumo de una a dos veces por semana de pescado es suficiente para proveer protección cuando se compara con la ausencia de consumo. Elevadas dosis de los n-3 AGPI actúan favorablemente sobre las características de la sangre, reduciendo la agregación plaquetaria y la viscosidad sanguínea, disminuyen los triacilglicéridos ensangre y exhiben efectos antitrómbicos y fibrinolíticos (LópezFarré y Macaya, 2006; Kris-Etherton et al., 2001).



## **Diabetes**

El incremento de AGPI de 20 y 22 átomo de carbono (ej. AA, EPA, DHA), incrementa la fluidez de membrana, el número de receptores de insulina y la acción de esta última (Simopoulus, 1994; Yam et al., 1996; Baur et al., 1999).

## **Efectos antiinflamatorios**

Los efectos benéficos de los AGPI n-3 se deben, en parte, a su acción sobre el sistema inmune. El metabolismo del AA y del LA (serie n-6) y el del EPA y ALA (serie n-3) conducen a la generación de eicosanoides como las PG, TX y LT. (López-Farré y Macaya, 2006).

Los eicosanoides derivados del AA y el EPA poseen una estructura molecular muy parecida, pero marcadas diferencias en sus efectos biológicos. Por ejemplo, los eicosanoides derivados del EPA son, en general, débiles inductores de la inflamación, mientras que los que derivan del AA son más potentes. Consecuentemente, la predominancia de AGPI n-6 resultará en un estado proinflamatorio con producción de PGs de la serie 2 y LTs de la serie 4 (Simopoulus, 2002). Al aumentar la cantidad relativa de AGPI n-3 de cadena larga, se producen más PGs de la serie 3 y LTs de la serie 5. Estos últimos eicosanoides son considerados menos inflamatorios (Shapiro et al., 1993) lo que explicaría el mecanismo por el cual el aceite de pescado actuaría como antiinflamatorio (Meydani et al., 1993). Un papel importante del EPA y DHA es que sirven como



precursores de potentes antiinflamatorios denominados resolvinas y protectinas. (Serhan et al., 2004).

### **Otras enfermedades**

Además se han reportado efectos benéficos en el tratamiento y/o prevención de Artritis (Cleland et al., 2003; Curtis et al., 2000); de la psoriasis (Mayer et al., 2002); de la colitis ulcerativa (Stenson et al., 1992); de la depresión (Bruinsma y Taren, 2000; Tapia, 2004) y del cáncer (Calvani&Benatti, 2003; Caygill 1995,1997; Gaard et al. 1996; Rose, 1997)

### **Efecto de los ácidos grasos incorporados a las dietas de los animales sobre la composición de huevo**

La formación de triglicéridos y fosfolípidos en el hígado para la síntesis de yema de huevo se puede ver afectada por cambios en la composición de la dieta (Hargis& Van Elswyk, 1993). La grasa saturada y monoinsaturada tiene un menor efecto sobre el perfil de ácidos grasos del huevo (Baucells et al., 2000), que la grasa rica en ácidos grasos poliinsaturados, la cual puede causar mayores cambios en el perfil permitiendo de esta manera la manipulación de la composición de los lípidos de la yema para cubrir los requerimientos nutricionales de los humanos (Leskanich& Noble, 1997).

La incorporación a la dieta de fuentes de ácidos grasos n-3 tiene un efecto profundo sobre el perfil de los lípidos del huevo usando fuentes como semillas y aceites vegetales (Galobart et al., 2001; Grobas, 2001; Bentancourt& Díaz, 2009; Antruejo, 2011), algas (Fredriksson et al., 2006; Bruneel et al., 2013; Zhanget al., 2016); aceite de pescado (Castillo Badillo



et al. 2005; García-Rebollar et al.; 2008) grasa de caballo (Cabrera et al., 2006). La eficiencia en la acumulación de n-3 depende del grado de suplementación de la fuente de n-3 en la dieta. Garcia-Rebollart et al., (2008) encontraron que por cada gramo de aceite de lino adicionado se produjo un incremento de 0,168 g de ALA; 0,033 g de EPA y 0,059 g de DHA, y el total de n-3 fue de 0,24 g valores similares han sido reportados por Gonzáles-Esquerria y Leeson (2000); Bentancour y Gonzalo Díaz (2009). Niveles de suplementación mayores al 2% de ALA bajan la eficiencia, lo cual podría deberse a la saturación de la enzima desaturasa involucrada en el metabolismo de dicho ácido graso (Grobas et al., 2001).

Además de la dieta, otros factores como el tiempo de suministro (Scheideler et al., 1997; Petrovic et al., 2012) y la raza deben ser tenidos en cuentas (Scheideler et al., 1997; Simcic et al., 2010).

La incorporación de altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados conduce al desarrollo, en algunos casos, de olores y sabores extraños (Scheideler et al., 1997; Gonzales-Esquerria y Lesson, 2000) siendo una de las principales causas la oxidación de los lípidos.

Por otro lado, también existen trabajos donde la evaluación de huevos enriquecidos con omega tres han sido calificados como aceptables (Tserveni- Gousi et al., 2006; Cornejo et al., 2008; García-Rebollar et al., 2008;). Esta discrepancia podrían ser explicada por el tipo de evaluadores y tipo de análisis sensorial que han sido utilizados en las diferentes investigaciones realizadas (Hayat, et al.; 2010).



Para mejorar la estabilidad se utilizan diferentes antioxidantes siendo la vitamina E uno de los compuestos más utilizados. A continuación se realiza una breve reseña de la misma.

### **3.1. Vitamina E**

#### **3.1.1. Composición química**

La vitamina E es una familia de compuestos poliprenoides (figura1). La vitamina E en estado natural tiene ocho diferentes formas de isómeros, cuatro tocoferoles y cuatro tocotrienoles (Tabla 2.5.1). Todos, los ocho isómeros, tienen un anillo aromático llamado cromano, con un grupo hidroxilo y una cadena poliprenoide. Si la cadena poliprenoide es saturada corresponderán a los tocoferoles y si es insaturada, a los tocotrienoles. Existen dos formas alfa  $\alpha$ , beta  $\beta$ , gamma  $\gamma$  y delta  $\delta$  para ambos isómeros (tocoferoles y tocotrienoles), y se determina por el número de grupos metílicos en el anillo aromático. Cada una de las formas tiene su propia actividad biológica, tabla (3.1.2.) son todos vitamina E (Weiser&Vecchi, 1982).

La vitamina E o  $\alpha$ -tocoferol es conocida como una de las vitaminas liposolubles, componente de las membranas biológicas y es considerada el mayor de los antioxidantes actúa como tal a nivel de las membranas en las células (citoplasmática, del lisosoma, del retículo endoplasmático, etc.) es por esto, protectora de las células y tejidos, de los daños inducidos por los radicales libres en condiciones de stress (Alonso et al., 2017).



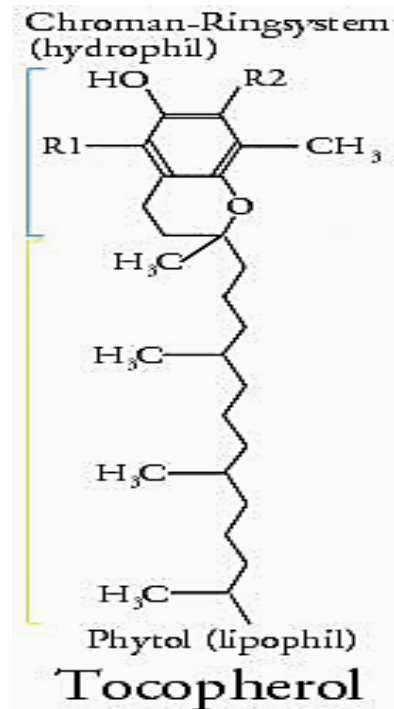


### 3.1.2. TABLA. Actividad relativa de los estereoisómeros del $\alpha$ -tocoferol (Weiser&Vecchi, 1982)

ESTEREOISÓMEROS DE A-TOCOFEROL	POSICIÓN DE LOS GRUPOS METILOS			ACTIVIDAD RELATIVA (%)
	C-2 anillo	C-4 cola fitol	C-8 cola fitol	
RRR $\alpha$ -tocoferol	R	R	R	100*
RRS $\alpha$ -tocoferol	R	R	S	90
RSS $\alpha$ -tocoferol	R	S	S	73
RSR $\alpha$ -tocoferol	R	S	R	57
SSS $\alpha$ -tocoferol	S	S	S	60
SRS $\alpha$ -tocoferol	S	S	R	37
SRR $\alpha$ -tocoferol	S	R	R	31
SSR $\alpha$ -tocoferol	S	S	R	21

**\* RRR- $\alpha$ -tocoferol es el que tiene mayor actividad biológica.**

De todos los compuestos activos que forman parte de la vitamina E, el RRR- $\alpha$ -tocoferol es el que tiene mayor actividad biológica, y por lo general es utilizado como estándar para establecer la misma. El orden de actividad de los tocoferoles es  $\alpha > \beta > \gamma > \delta$  (Combs, 1992). La actividad biológica de la vitamina E en los suplementos dietarios se suele expresar en unidades internacionales (UI). Una unidad internacional se define como la actividad biológica de 1 mg de acetato de  $\alpha$ -tocoferol-all-rac. Comparando con eso, 1 mg de  $\alpha$ -tocoferol-all-rac equivale a 1,1 UI, 1 mg de  $\alpha$ -tocoferilo-RRR equivale a 1,36 UI (Scherf et al., 1996).



**Figura 1: Estructura química VIT. E**

### 3.1.3 Funciones fisiológicas:

La vitamina E es uno de los constituyentes lipídicos de las membranas celulares y lipoproteínas. Desempeña varias funciones, actúa como modulador en la respuesta inmune (Niu et al., 2009) y expresión génica (Machlin et al., 1980), y como protector de las proteínas que poseen selenio (Patnaik et al., 1977). Su principal acción es prevenir el ataque por radicales libres de los tejidos, estando ésta relacionada con su capacidad de secuestrar radicales libres (Burton & Ingol, 1986; Alonso et al., 2017) y oxígeno (Sies, 1993). El segundo rol de la vitamina E es estabilizar la estructura de las membranas formando complejos que estabilizan



moléculas, al mismo tiempo que previenen disturbios en el balance anfipático dentro de la estructura (Rodríguez Pita,1997; Fukuzawa, 2008).

Todas las acciones de los tocoferoles parecen estar determinadas por su carácter de agente antioxidante, y que, en particular, previene las reacciones de peroxidación de lípidos (enranciamiento).

El enranciamiento de lípidos insaturados consiste en una serie compleja de reacciones. Al final los radicales oxigenados dan lugar a su vez a una serie de compuestos(aldehídos, ácidos y cetonas) que son los responsables de las características desagradables de los productos enranciados, como por ejemplo, el mal olor. Además, inducen en otras estructuras (proteínas de membrana, entre otras) alteraciones que comprometen gravemente su función. Los tocoferoles actúan rompiendo la cadena de reacciones, actuando de forma que ofrecen un hidrógeno fácilmente sustraíble a los radicales oxigenados, impidiendo así que sea sustraído de los lípidos. Presenta diversos efectos positivo sobre la salud (Portela et al.,2015).

#### **3.1.4 Déficit de vitamina E**

Existen tres situaciones específicas para la deficiencia de vitamina E. Se ha observado en personas que no pueden absorber dietas ricas en grasas, se ha encontrado en niños prematuros con un muy bajo peso corporal (nacimientos con menos de 1,5kg), y se ha observado en individuos con extraños desórdenes en el metabolismo de las grasas. La deficiencia en



vitamina E se caracteriza generalmente por trastornos neurológicos debidos a una mala conducción de los impulsos nerviosos (Portela, et al., 2015).

Los individuos que no pueden absorber grasas requieren suplementos de vitamina E debido a que es muy importante esta vitamina en los procesos de absorción del tracto gastrointestinal. Cualquier diagnóstico con fibrosis quística, individuos que han sido operados habiéndole quitado parte o todo el intestino o estómago, individuos que tienen incapacidad de absorción de grasas tales como aquellos que sufren la Enfermedad de Crohn, necesitan un suplemento de vitamina E recetada por el médico. Las personas que no pueden absorber grasas suelen tener una diarrea crónica. (Portela, et al., 2015).

### **3.1.5 Fuentes de vitamina E**

La vitamina E se encuentra en muchos alimentos, principalmente de origen vegetal, sobre todo en los de hoja verde tales como, el brócoli, las espinacas, en semillas, entre ellas la soja, el germen de trigo y la levadura de cerveza. También puede encontrarse en alimentos de origen animal como la yema de huevo.

Normalmente se suele considerar un aporte de vitamina a los aceites vegetales. Algunas dietas que emplean desayunos de cereales aportan una gran cantidad de vitamina E al cuerpo.



Algunos de los alimentos considerados como fuentes de Vitamina E se muestran en la tabla 3.1.5. “Fuentes que aportan Vitamina E” a continuación:

**3.1.5 TABLA. Fuentes que aportan Vitamina E**

<b>FUENTE DE VIT. E</b>	<b>CANTIDAD (MG/100 G)</b>
Aceite de girasol	50–62
Aceite de nueces	39
Aceite de sésamo	28
Avellanas	24.98
Aceite de soja	17–25
Nueces	25
Almendras	25
Aceite de palma	25
Margarina	14
Aceite de oliva	12
Scorzonera	6
Spirulina	1,7

*Portela, 2015*

### **3.1.6. Vitamina E y su uso en huevo enriquecidos con ácidos grasos omega-3**

El Tocoferol es incorporado dentro de las membranas liposomales para limitar la oxidación de fosfolípidos, particularmente de los ácidos grasos. La vitamina E en huevos (mayoritariamente en alfa-tocoferol en huevos



multienriquecidos) ayuda a preservar los ácidos grasos en huevos a una temperatura de 20°C por 28 días. Además la presencia de la sumatoria de la Vit E y ácidos grasos Omega-3 prolongan la vida media o vida en góndola de los huevos reduciendo la oxidación. (Bourre, et al., 2005).

Existen controversias con respecto al impacto de los PUFA sobre la absorción de vitamina E. Gallo-Torres *et al.* (1971) demostraron que la presencia de AGPI en la dieta reduce la absorción de esta vitamina. Pita Rodríguez (1997) aduce que este efecto negativo se debería a la interacción química del tocoferol y los AGPI o sus productos de oxidación en el lumen intestinal; probablemente debido a que los AGPI ocupan relativamente más espacio en las lipoproteínas y así desplazan a los tocoferoles o impiden su unión a éstas. Por otro lado, (Meluzziet al., 2000) encontraron que la totalidad de la Vit. E en la yema estuvo estrictamente relacionada al  $\alpha$ -Tocoferol dietario de las gallinas. Los grupos de animales que recibieron altos niveles, entre 100 y 200 ppm de Vit. E presentaron mayor contenido de vitamina en el huevo. Después de 28 días de almacenamiento los niveles de Vit. E permanecieron muy cercanos a los observados en los huevos frescos sosteniendo que la Vit no es usada para prevenir la oxidación lipídica en la yema. Estas hipótesis es sostenida por los estudios de Pike y Peng (1985) que afirman que la cascara del huevo excluye factores requeridos para la oxidación como la luz y el oxígeno. Además resaltan que el Fe estaría unido a la fosvitina que actuaría con un mecanismo antioxidante integrado.

Por otro lado, (Meluzzi et al., 2000) encontraron que la totalidad de la Vit. E en la yema estuvo estrictamente relacionada al  $\alpha$ -Tocoferol dietario



de las gallinas. Los grupos de animales que recibieron altos niveles, entre 100 y 200 ppm de Vit. E presentaron mayor contenido de vitamina en el huevo. Después de 28 días de almacenamiento los niveles de Vit. E permanecieron muy cercanos a los observados en los huevos frescos sosteniendo que la Vit no es usada para prevenir la oxidación lipídica en la yema. Esta hipótesis es sostenida por los estudios de Pike y Peng (1985) que afirman que la cascara del huevo excluye factores requeridos para la oxidación como la luz y el oxígeno. Además resaltan que el Fe estaría unido a la fosvitina que actuaría con un mecanismo antioxidante integrado. Estas experiencias y otras confirman que es posible producir huevos multienriquecidos con n-3 y Vit. E enfocados en la manipulación de las dietas de las gallinas.

Para el caso de la Vit. E cuyo requerimiento diario en los humanos depende del total de ácidos grasos en la dieta, la Fundación Británica de Nutrición (1992) informó que el total de ingesta diaria para los hombres es de 3.2 a 10.4 mg/persona y en el caso de las mujeres es de 2.5 a 8 mg/persona. Por consiguiente, el consumir diariamente uno de estos huevos puede cubrir entre 50 a 100% de los requerimientos antes mencionados. Siendo así que los huevos enriquecidos con Vit E se convierten en un interesante alimento, no solo por el efecto de combatir los radicales libres dañinos para el organismo sino también por los efectos beneficiosos en la prevención del cáncer y enfermedades cardíacas entre otras.



## *4. Objetivos.*

### **4.1 Objetivo general:**

Obtener huevos enriquecidos con ácidos grasos omega-3 mediante la utilización de aceites de vísceras de calamar de origen argentino.

### **4.2. Objetivos Específicos:**

- Evaluar los parámetros de calidad interna del huevo.
- Estudiar el impacto de la suplementación en la alimentación de las gallinas, sobre la calidad sensorial del producto obtenido.
- Medir el efecto de la vitamina E sobre la estabilidad oxidativa de los lípidos del huevo.
- Determinar el costo de producción del producto a obtener.

## *5. Materiales y Métodos*

### **5.1. Descripción del ensayo en vivo**

**Lugar:** INTA – EEA Pergamino, Sección Avicultura.

**Aves - Tipo:** Ponedoras Hy-Line W-36;

**Cantidad:** 144 aves

**Alojamiento:** Jaulas de 30 cm de frente x 45 cm de profundidad.





***Diseño experimental:***

Arreglo factorial 3 x 2 (3 aceites y 2 niveles de vitamina E). Cada tratamiento contó con un lote (6 jaulas con 4 gallinas) de 24 aves de las cuales se tomaron 78 huevos para evaluar los distintos parámetros considerados (ver toma de muestras, tabla 5.1.2). Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza utilizando el software SAS y las diferencias entre medias se analizaron mediante el Test de Duncan.

***Inicio:*** Julio 2 de 2013 con 32 semanas de vida cumplidas.

***Duración:*** Un período de 28 días.

***Parámetros evaluados:*** Después de 25 días de suministrar las dietas experimentales se evaluó:

- Perfil de ácidos grasos: Sobre una muestra de 6 huevos por tratamiento.
- sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico: 6 huevos por tratamiento
- Análisis sensorial: 40 huevos por tratamiento
- Calidad interna y externa de huevo: 20 huevos por tratamiento.
- Toma de muestras ensayo Omega 3: se realizó según la descripción de la **tabla 5.1.2**



### 5.1.2 TABLA. Descripción de los días en que se realizó la toma de muestra

FECHA	PARÁMETRO	CANTIDAD DE HUEVOS/TRATAMIENTO
<b>Viernes 26 de julio</b>	Sensorial	<b>Toda la producción</b>
<b>Sábado 27 de julio</b>	Sensorial	“
<b>Domingo 28 de julio</b>	Perfil ácidos grasos y TBA	“
<b>Lunes 29 de julio</b>	Calidad	“

### *6. Tratamientos.*

Se realizaron seis (6) tratamientos usando tres (3) fuentes de aceite y la incorporación de vitamina E en dos niveles 0-100ppm de acetato de  $\alpha$ -tocoferol. La descripción del mismo se puede observar en la **tabla 5.1.2.**

Las dietas fueron formuladas para ser isoenergéticas e isoproteicas (**Tabla 6.1.**).



### 6.1. TABLA. Descripción de los tratamientos.

TRATAMIENTO	FUENTE DE N-3	VITAMINA E (ADICIONADA)
1	A. soja 2%	0
2	A. lino 2%	0
3	A. pescado 2%	0
4	A. soja 2%	100 ppm
5	A. lino 2%	100 ppm
6	A. pescado 2%	100 ppm

#### 6.1.1. TABLAS Composición de las diferentes dietas: Materias primas utilizadas y nutrientes.

<b>INGREDIENTES (%)</b>	
Maíz Semidentado	64,294
Soja Harina (40)	9,302
Conchilla	8,435
Carne Harina <50 Grasa	6,288
Premix	0,15
Sal	0,255
Lisina	0,219
DL-Metionina	0,148
Treonina	0,046
Colina	0,05
Girasol Harina (32)	8,812
Aceite a evaluar	2,000
Totales	100



**NUTRIENTES**

<b>NOMBRE</b>	<b>SOJA</b>	<b>LINO</b>	<b>CALAMAR</b>
Proteína	14,80	14,80	14,80
Lípidos	5,82	5,82	5,82
Fibra Cruda	3,15	3,15	3,15
Ceniza	3,67	3,67	3,67
Ca	4,00	4,00	4,00
P Disponible	0,46	0,46	0,46
Relación Ca/P Disp	0,00	0,00	0,00
Na	0,17	0,17	0,17
K	0,51	0,51	0,51
Cl	0,25	0,25	0,25
Balance Electrolítico	-	-	-
EMA	2847,30	2847,30	2847,30
EMV Aves	3093,90	3093,90	3094,00
Lisina	0,78	0,78	0,78
Metionina	0,42	0,42	0,42
Met+Cis	0,65	0,65	0,65
Triptofano	0,14	0,14	0,14
Treonina	0,57	0,57	0,57
Arginina	0,96	0,96	0,96
Valina	0,73	0,73	0,73
Lisina Dig.	0,71	0,71	0,71
Met+CisDig.	0,60	0,60	0,60
TriptofanoDig.	0,12	0,12	0,12
TreoninaDig.	0,50	0,50	0,50
Arginina Dig.	0,89	0,89	0,89
ValinaDig.	0,66	0,66	0,66
16:0 Ac. Palmítico	0,89	0,81	0,96
16:1 Ac. Palmitoleico		0,03	0,17
18:0 Ac. Esteárico	0,37	0,38	0,33
18:1 Ac. Oleico	1,71	1,72	1,71
18:2 Ac. Linoleico	2,93	2,20	1,90
18:3 Ac. Linolénico	0,26	0,95	0,13



<b>20:4 Ac. Araquidónico</b>	0,00	0,01	0,02
<b>20:5 EPA</b>	0,00	0,00	0,17
<b>22:5 DPA</b>	0,00	0,00	0,03
<b>22:6 DHA</b>	0,00	0,00	0,23
<b>18:2/18:3</b>	11,26	2,33	14,29
<b>n-3</b>	0,27	0,95	0,57
<b>n-6</b>	2,93	2,21	1,92
<b>n-6/n-3</b>	10,95	2,33	3,39
<b>Xantofila</b>	12,86	12,86	12,86

## **6.2. Determinaciones analíticas en las dietas/alimentos**

Se evaluó el perfil lipídico de los aceites utilizados para la suplementación de los alimentos en ácidos grasos n-3 en el Instituto de Tecnología Alimentaria, INTA, Castelar (ITA).

### **6.2.1. Perfil lipídico de los aceites**

Los lípidos fueron extraídos usando la metodología de Folch et al. (1957). Los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAME) fueron preparados de acuerdo al protocolo descrito por Pariza et al., (2001). Una muestra alícuota de 1 mg de aceite fue transesterificada con una solución de ácido clorhídrico 4% (v/v) en metanol. Los metil ésteres de los ácidos grasos fueron cuantificados utilizando un cromatógrafo de gases con un detector de ionización de llama Chrompack CP900S (Chrompack International – Middelburg, Países Bajos). En el mismo se utilizó una columna capilar modelo CP-SIL 88 (Chrompack International – Middelburg, Países Bajos) de 50m x 0,25mm de diámetro interno recubierta y nitrógeno como gas de transporte. La temperatura fue programada a 70°C por 4min, luego se incrementó a 170 °C a 13 °C.min<sup>-1</sup>, de 170 °C a 200°C la



temperatura subió 1°C.min<sup>-1</sup>. La temperatura del inyector y del detector fue mantenida a 250 °C. Los ácidos grasos fueron identificados por comparación con los tiempos de retención de los ácidos grasos estándares (PUFA-3 Animal Source, Supelco, Bell Fonte, PA, USA). Los resultados se expresan como porcentaje del total de ácidos grasos por 100 g de grasa utilizando estándar externo.

### **6.3. Determinaciones en los Huevos:**

#### **6.3.1: Análisis físico de los huevos.**

Los análisis de peso, altura de albúmina, resistencia al quiebre, color y Unidad Haugh se realizaron utilizando un Equipo automático marca Navel, modelo DET6000 de la firma DSM .

#### **6.3.2. Perfil de ácidos grasos**

Los lípidos totales fueron extraídos con cloroformo: metanol (2:1, v/v) mediante una adaptación del procedimiento de *Folch et al., (1957)*.

#### **6.3.3. Sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico (TBA).**

La determinación de TBA se realizó por triplicado según el método de extracción ácida (Descalzo et al.; 2005). Se tomaron alícuotas de 2 g de yema y se colocaron en tubos falcon que contenían 6 ml de una solución de ácido tricloroacético, TCA (10% p/v).y 6ml de agua. Las muestras se homogeneizaron durante 3 minutos. Posteriormente se realizó el filtrado de la muestra en papel Whatman N°2 (Schleicher&Schuell, Dassel; Germany). Se mezclaron iguales cantidades de sobrenadante y solución de



Ácido 2-tiobarbitúrico (ICN BiomedicalsInc, Ohio, USA) en una concentración de 0,02M incubándose luego las mismas durante toda la noche hasta el desarrollo de un color rosado. Se determinó el desarrollo de color a 530nm en un espectrofotómetro UV-Visible Lambda Bio-20 (Perkin Elmer Corp. – Norwalk, CT, USA) y los valores se compararon con los de una curva estándar realizada con 1,1,3,3 tetraepoxipropano, TEP (Sigma, Stéinheim, Germany). Los resultados fueron expresados en mg demalonaldehído, MDA/kg de yema

#### **6.3.4. Vitamina E**

Las vitaminas  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol se determinaron por cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC), de acuerdo a la metodología modificada de Butriss&Diplock (1984). Se tomó 1 g de yema de huevo que fue homogeneizada con buffer fosfato de potasio pH 7,7. Luego las muestras se atemperaron por 2 minutos a 70 °C. Luego se agregaron 0.9 ml de hidróxido de potasio 10 N y se llevó a cabo la saponificación por 30 min a 70 °C con hidróxido de potasio 10 N. Después de enfriar se agregó 3 ml de agua destilada a todos los tubos más 12 ml de n-hexano y se agitaron durante dos minutos con vórtex a fin de facilitar la extracción de los compuestos liposolubles en la fase orgánica. Se extrajo el sobrenadante y se realizó otra extracción con 6 ml de hexano. Posteriormente, las fases orgánicas se juntaron en un tubo de vidrio y fueron evaporadas a sequedad bajo flujo de nitrógeno, resuspendidas en 500  $\mu$ l de etanol absoluto y filtrado previamente a la inyección con una jeringa a través de una membrana de nylon de 0,45  $\mu$ m de tamaño de poro. Las muestras fueron analizadas en un HPLC de fase reversa equipado con una bomba cuaternaria modelo P4000 (ThermoSeparationProducts



Inc. – Piscataway, NJ, USA) con un desgasificador y un bucle de inyección manual de 20  $\mu$ l y conectado a una columna Alltech® Alltima® C18 (250mm x 4,6mm) y tamaño de partícula 5 $\mu$ m. El detector electroquímico Decade (Antec Leyden – Zoeterwoude, Países Bajos) fue equipado con una célula de flujo con Ag/AgCl y carbón cristalino como electrodos de referencia y trabajo respectivamente. La fase móvil para la detección electroquímica fue modificada de acuerdo a la técnica descrita por Rijkeet *al.* (1997). El flujo fue de 1 ml/min y las células de referencia fueron programadas a +700mV. La recuperación de  $\alpha$ - y  $\gamma$ -tocoferol rondó el 98%. Se trazaron curvas de calibración con estándares de DL- $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol (Sigma, Saint Louis, USA) diluidos en etanol absoluto.

### **6.3.5. Análisis Sensorial**

Se realizó en el Centro de Agroindustria, CNIA-Castelar Instituto Tecnología de Alimentos CC 77(1708) Morón, Buenos Aires. El ensayo se llevó a cabo considerando dos series de huevos, cada una compuesta por muestras provenientes de los tres (3) tratamientos sin vitamina E suplementaria y la segunda serie con los tratamientos que tenían 100 ppm de vitamina E.

Los huevos se cocinaron según la metodología de Caston&Leeson (1990). Una vez cocidos, se mantuvieron en baño termostático a 37°C aproximadamente hasta el momento de su presentación a los consumidores.

La prueba se realizó con un total de 84 evaluadores, cuya composición fue la siguiente: 57% de mujeres y 43% de hombres, con un promedio de edad de 37,5 años.





A cada uno de los evaluadores se le presentaron ambas series de muestras de huevo de a mitades, codificadas con números de 3 dígitos y acondicionadas en contenedores térmicos con tapa de modo de mantener una temperatura de aproximadamente  $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Además, se proveyó agua mineral natural y galletitas de agua sin sal que sirvieron como carrier.

Se solicitó a los evaluadores probar las muestras tal cual presentadas de izquierda a derecha (de a una serie por vez) y luego registrar en la planilla de evaluación otorgada

Los datos recolectados se sometieron a una análisis estadístico mediante el Test de Friedman ( $\alpha=0,05$ ).

## ***7. Costos***

### **7.1. Determinar el costo de producción del producto a obtener.**

La estimación del costo se realizó en base a un dólar de 15U\$, suponiendo un valor promedio de conversión por kg de huevo y el peso promedio del huevo en base al trabajo de Antruejo et al, 2010 considerando para tal fin el valor promedio de los tratamientos control, aceite de lino y aceite de chía debido a que los que los mismos no afectaron significativamente dichos parámetros de producción y son aceites a lo igual que se usó en este estudio. La producción de huevos enriquecidos con omega tres, considerando un huevo de 65g tendría en costo alimenticio de la dieta con omega-3 de 30 % más cara que la dieta con aceite de soja y si se le



incorporara además vitamina E el valor se incrementaría en un 31,4%  
(tabla 7.1.1)

**7.1.1TABLA. Impacto de la inclusión de fuente de omega-3 y vitamina E sobre el costo de la ración**

TRATAMIENTO	\$/KG DE RACIÓN	CONVERSIÓN <sup>1</sup>	COSTO KG HUEVO (\$)	COSTO DOCENA (\$)
<b>SIN VITAMINA E</b>				
<i>A. Soja 2%</i>	3,40	1,98	6,7	5,22
<i>A. Lino 2%</i>	3,55	1,98	7,0	5,46
<i>A. Calamar 2%</i>	4,39	1,98	8,7	6,79
<b>CON VITAMINA E</b>				
<i>A. Soja 2%</i>	3,44	1,98	6,8	5,30
<i>A. Lino 2%</i>	3,59	1,98	7,1	5,54
<i>A. Calamar 2%</i>	4,43	1,98	8,8	6,86

<sup>1</sup>*kg Alimento /kg de huevo*



## *8. Resultados y discusión.*

### **8.1. Análisis de los aceites y dietas.**

El aceite de calamar presentó una concentración de ácidos grasos omega - 3 de CL de 26.22% y el aceite de lino una concentración de ALA de 42,93% (tabla 8.1)

Según estudios realizados y evaluados por Cornejo et. al. (2008) algunos de estos valores son el resultado de la progresiva mayor proporción de AGPI que poseen estos productos, y exponen las variables productivas en la tabla 8.1 se aprecia que los tratamientos que incluían lípidos de origen marino en las dietas mostraron valores superiores ( $P < 0,05$ ) al control, MS: TI. Cabe destacar que para todas las variables productivas no se produjeron diferencias entre los tres tratamientos con insumos de origen marino ( $P > 0,05$ ). La sola excepción fue el PH (peso del huevo), donde el grupo HPALK (harina de pescado y Alkitol®) fue estadísticamente semejante ( $P > 0,05$ ) al control MS y a su vez, inferior ( $P < 0,05$ ) a los tratamientos HPO (harina de pescado y oleína) y HPACP (.harina de pescado y aceite de pescado) El indicador MH (masa de huevo), evaluado solamente como promedio general para todo el período experimental, mostró diferencias significativas ( $P < 0,05$ ), sólo entre el control (MS) y el grupo HPO.



**8.1 TABLA. : Indicadores productivos totales de gallinas en en el ensayo. Cornejo.et al 2008.**

Indicadores	Tratamientos			
	MS: T1	HPO: T2	HPACP: T3	HPALK: T4
Postura %	64,4±25,9 <sup>b</sup>	75,9±14,9 <sup>a</sup>	73,9±15,7 <sup>a</sup>	75,2±15,5 <sup>a</sup>
Consumo Alimento g	85,2±9,7 <sup>b</sup>	99,2±6,7 <sup>a</sup>	99,5±4,4 <sup>a</sup>	98,3±6,7 <sup>a</sup>
Peso Vivo g	1,54±0,14 <sup>b</sup>	1,64±0,12 <sup>a</sup>	1,67±0,15 <sup>a</sup>	1,68±0,14 <sup>a</sup>
Peso Huevo g	62,6±3,9 <sup>b</sup>	65,8±4,6 <sup>a</sup>	64,7±5,1 <sup>a</sup>	62,9±4,6 <sup>b</sup>
Eficiencia Conversión Alimenticia	2,70±1,7 <sup>b</sup>	2,02±0,29 <sup>a</sup>	2,11±0,32 <sup>a</sup>	2,09±0,22 <sup>a</sup>
Masa Huevo	40,30 <sup>b</sup>	50,10 <sup>a</sup>	47,90 <sup>ab</sup>	47,30 <sup>ab</sup>
Margen Bruto (\$)	33.757	48.484	44.901	40.978
Costo alimentario (\$)	220,68	153,15	163,46	188,88

a, b: promedios con diferentes letras en una misma fila indican diferencias significativas (P< 0,05).

Al observar los resultados económicos en la tabla 8.1, fue el tratamiento 1 el que presentó el menor MB y mayor costo alimentario; en cambio, el tratamiento 2 mostró el mejor MB con el menor costo alimentario por kilo de huevos. En general, durante el ensayo, y a partir de la segunda semana, los tratamientos que incluían lípidos de origen marino fueron superiores en CA, PP, ECA y PV, al control. En el transcurso de la sexta semana del ensayo hubo una declinación de los indicadores, exceptuando el PV en los tratamientos HPO, HPACP y HPALK. Esta menor respuesta estuvo asociada a la vacunación contra *Salmonella enteritidis*, efectuada al final de la quinta semana. La mortalidad fue marginal alcanzando a cuatro aves (1,85%) del total de las alojadas en el galpón.

Los resultados de las evaluaciones químicas efectuadas a insumos y dietas fueron los esperados para alimentos con altos porcentajes de AGPI, entre ellos, la presencia de un alto nivel de peróxidos en ALK. Estos insumos



lipídicos altamente insaturados tienen un gran riesgo oxidativo y deben ser "protegidos", con la incorporación de antioxidantes (por ejemplo Vit. E)

Las respuestas productivas de las gallinas (tabla 8.1) no fueron afectadas negativamente, al compararlas con el grupo control, por la inclusión de hasta un 6% de aceites marinos en sus dietas (HPACP y HPALK), y los resultados son coincidentes con lo informado por Hargis y col (1991), Van Elswyk y col (1992).

Estos autores en el mismo trabajo (Cornejo et al ,2008), aportaron datos de la evaluación sensorial realizada afirmando que ninguna de las preparaciones culinarias de los huevos de los tratamientos utilizados fue rechazada para las variables analizadas. El análisis estadístico confirmó estos resultados al no evidenciar diferencias significativas entre los cuatro tratamientos ( $P > 0,05$ ). Más aún, casi todos los valores obtenidos se ubicaron en la zona de "aceptación" (puntajes entre 8 y 15 cm).



## 8.2. TABLA Perfil lipídico de los aceites utilizados (g/100 g de grasa)

AG (%)	Muestra de Aceite		
	Lino	Soja	Calamar
C14-0	0,19	0,15	3,18
C16-0	6,51	10,48	14,12
C16-1 n-7	n/d	n/d	7,24
C18-0	5,26	4,73	2,56
C18-1 n-9	19,68	19,09	19,14
C18 2 n-6	16,92	53,22	1,68
C18-3 n-6	n/d	n/d	4,15
C18-3 n-3	42,93	8,66	2,3
C20-1 n-9	0,04	n/d	0,32
C20-4 n-6	0,26	n/d	1,1
C20-5 n-3	n/d	0,17	8,64
C22-4 n-6	n/d	n/d	0,66
C22-5 n-3	n/d	n/d	1,48
C22-6 n-3	0,11	0,2	16,1
AGS	11,97	15,36	19,86
AGI	79,92	81,34	62,81
MUFA	19,68	19,09	26,38
PUFA	60,21	62,24	36,1
n3	43,03	9,02	28,52
n6	17,18	53,22	7,59
n6/n3	0,4	5,9	0,27
MUFA/AGS	1,64	1,24	1,33
PUFA/AGS	5,03	4,05	1,82

*\*n/d: No detectado*



## 8.2. Perfil lipídico de las dietas

La incorporación en las dietas de aceite de lino o calamar se vio reflejada en la composición de las mismas (tabla 8.2.1). El porcentaje de omega -3 de CL en la dieta con aceite de calamar fue de 5,75 y en la dieta que tenía lino la concentración de ALA fue de 16,64%.

### 8.2.1 TABLA Perfil de lípidos de las dietas analizadas (g/100g de grasa)

AG (%)	A. Soja	A. Lino	A. Calamar
C14-0	0,39	0,44	1,56
C16-0	12,71	12,33	16,29
C16-1 n-7	0,76	0,57	2,92
C18-0	5,27	6,09	5,2
C18-1 n-9	25,65	29,72	28,75
C18-1 n-7	0,85	n/d	1,67
C18 2 n-6	39,71	28,99	23,4
C18-3 n-6	0,36	0,35	0,05
C18-3 n-3	3,85	16,64	2,2
C20-1 n-9	0,09	0,1	0,16
C20-4 n-6	0,55	0,03	0,7
C20-5 n-3	0,05	0,02	1,85
C22-4 n-6	0,11	0,03	0,12
C22-5 n-3	1,04	0,08	0,39
C22-6 n-3	0,14	0,14	3,85
C20-22	2,42	0,4	7,07
AGS	18,37	18,86	23,04
AGI	72,75	76,66	64,37
MUFA	26,42	30,29	31,67
PUFA	46,24	46,27	32,54
n3	5,52	16,88	8,28
n6	40,72	29,39	24,26
n6/n3	7,37	1,74	2,93
MUFA/AGS	1,44	1,61	1,37
PUFA/AGS	2,52	2,45	1,41



### 8.3. Análisis en Huevos

#### 8.3.1. Calidad interna de los huevos. Efecto de la fuente de omega tres y el agregado de vitamina

Se observó solo un efecto significativo de fuente de omega tres sobre la altura y las Unidades Haugh (tabla 8.3.1.1). Debido a la interacción que aparece entre vitamina y aceite sobre la variable resistencia, se estudiaron los seis tratamientos independientemente (tabla 8. 3.1.2.) observándose que los huevos del tratamiento 3 y 4 fueron diferentes estadísticamente a los huevos control.

##### 8.3.1.1. TABLA Efectos principales sobre la calidad interna de los huevos

FACTORES	PESO	ALTURA	COLOR	UH	RESISTENCIA
Aceite	NS	0,0005	NS	0,0004	NS
Vitamina	0,03	NS	NS	NS	NS
Aceite*Vitamina	NS	NS	NS	NS	0,016

Aceite	Peso <sup>1</sup>	Altura	Color	UH	Resistencia
A. Soja	58,88a±3,46	8,28b±0,86	6,28a±0,45	91,18b±4,73	3,94a±0,70
A.Lino	58,88a±3,69	8,36b±0,80	6,28a±0,61	91,66b±4,06	4,01a±0,73
A. Pescado	58,33a±3,60	8,93a±0,64	6,08a±0,60	94,71a±3,12	3,71a±0,71

Vitamina	Peso <sup>1</sup>	Altura	Color	UH	Resistencia
Sin	58,11b±3,22	8,44a±1,29	6,26a±0,19	92,18a±7,03	3,88±0,72
Con	59,62a±3,77	8,63a±0,76	6,17a±0,55	92,84a±3,98	3,89±0,72





### 8.3.1.2. TABLA Efectos de los diferentes tratamientos.

Tratamientos	Peso	Altura	Color	UH	Resistencia
1-A. Soja	58,24 <sup>a</sup> ± 3,47	7,83 <sup>d</sup> ± 0,89	6,28 <sup>a</sup> ± 0,46	89,67 <sup>c</sup> ± 5,26	4,21 <sup>a</sup> ± 0,53
2-A.Lino	57,82 <sup>a</sup> ± 3,26	8,44 <sup>cd</sup> ± 0,85	6,39 <sup>a</sup> ± 0,61	92,37 <sup>abc</sup> ± 3,78	3,91 <sup>abc</sup> ± 0,66
3-A. Calamar	58,27 <sup>a</sup> ± 3,08	8,83 <sup>ab</sup> ± 0,67	6,11 <sup>a</sup> ± 0,76	94,51 <sup>a</sup> ± 3,35	3,52 <sup>c</sup> ± 0,81
4-A. Soja + Vit E	59,52 <sup>a</sup> ± 3,43	8,58 <sup>abc</sup> ± 0,74	6,28 <sup>a</sup> ± 0,46	92,66 <sup>ab</sup> ± 3,72	3,67 <sup>bc</sup> ± 0,75
5-A. Lino + Vit E	59,94 <sup>a</sup> ± 3,87	8,28 <sup>cd</sup> ± 0,76	6,17 <sup>a</sup> ± 0,62	90,94 <sup>bc</sup> ± 4,30	4,10 <sup>ab</sup> ± 0,80
6-A. Calamar + Vit E	59,4 <sup>a</sup> ± 4,06	9,02 <sup>a</sup> ± 0,62	6,06 <sup>a</sup> ± 0,42	94,92 <sup>a</sup> ± 3,60	3,89 <sup>abc</sup> ± 0,55

Medias con diferente letra dentro una misma columna difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ )

En la variable peso no se observaron diferencias con respecto a los diferentes tratamientos, sí con respecto a la altura donde es más significativamente mayor en el caso de la adición de A. de calamar y Vit. E. al igual que en relación a la U.H. No así en el caso del color ni tampoco en la resistencia.

### 8.4. Perfil lipídico de los huevos.

Se observó un impacto significativo de las diferentes fuentes de omega-3 sobre los AGPI n-3 y n-6 (Tabla 6.3.1.). Por otro lado, la concentración de Ácidos Grasos Saturados (AGS); AGPI y Ácidos Grasos Monoinsaturados (AGMI) no fueron diferentes estadísticamente entre tratamientos. La inclusión de aceite de lino a la dieta produjo un incremento en la deposición de Ácido Linolénico (ALA) respecto a las aves alimentadas con la dieta control (2,48%vs 0,66 %). Esta respuesta también fue observada por Bentancour & Díaz (2009), con valores mayores cuando usaron semilla de lino al 10% debido a que el aporte de ALA a la dieta fue prácticamente el doble que el realizado en esta experiencia (2,48 % vs 4,70 %). Por otro lado, Antruejo et al. (2011), encontraron que la incorporación de aceite de



lino al 6% produjo una deposición de 6,49 % de ALA en huevos. En este estudio la inclusión de aceite lino al 2% en la dieta condujo a una deposición de 2,49 % de ALA en el huevo. La fuente de aceite de vísceras de calamar produjo un incremento significativo de Ácido eicosapentaenoico (EPA) (0,24 % vs 0,05 %) y Ácido decosahexaenoico (DHA) (3,25 % vs 1,0 %) respecto a la dieta control. Similar respuesta fue encontrada por Baucells et al. (2000) cuando usó aceite de pescado al 4 % y evidenció una deposición de DHA de 3,18 % en huevo utilizando aceite con 6,13% de DHA, similar a los niveles utilizados en esta experiencia (6% de DHA).



**8.4. 1. TABLA Perfil de lípidos de las yemas de huevos (g/ 100g de grasa) en las distintas dietas con las diferentes fuentes de aceite.**

<b>AG (%)</b>	<b>A. Soja</b>	<b>DS</b>	<b>A. Lino</b>	<b>DS</b>	<b>A. Calamar</b>	<b>DS</b>
14-0	<b>0,27b</b>	0,03	<b>0,28b</b>	0,02	<b>0,35a</b>	0,01
16-0	<b>23,13a</b>	1,24	<b>22,61a</b>	1,55	<b>22,91a</b>	1,26
16-1 n-7	<b>1,59b</b>	0,2	<b>1,77ab</b>	0,21	<b>1,94a</b>	0,18
18-0	<b>8,14ab</b>	0,81	<b>8,34a</b>	1,04	<b>7,33</b>	0,31
18-1 n-9	<b>35,71a</b>	2,22	<b>37,34a</b>	2,55	<b>35,10a</b>	3,67
18-1 n-7	<b>0,37a</b>	0,19	<b>0,32a</b>	0,25	<b>0,50 a</b>	0,23
18 2 n-6	<b>15,79a</b>	1,58	<b>13,16b</b>	1,62	<b>13,40b</b>	1,2
18-3 n-6	<b>0,12a</b>	0,02	<b>0,09ab</b>	0,01	<b>0,08 b</b>	0,04
18-3 n-3	<b>0,66b</b>	0,18	<b>2,48a</b>	0,44	<b>0,42b</b>	0,07
20-4 n-6	<b>1,81a</b>	0,15	<b>1,49b</b>	0,35	<b>1,09c</b>	0,24
20-5 n-3	<b>0,05a</b>	0,02	<b>0,12c</b>	0,05	<b>0,24b</b>	0,083
22-4 n-6	<b>0,11a</b>	0,19	<b>0,13a</b>	0,14	<b>0,16 a</b>	0,17
22-5 n-3	<b>0,09b</b>	0,03	<b>0,23a</b>	0,06	<b>0,25a</b>	0,15
22-6 n-3	<b>1,02c</b>	0,32	<b>1,76b</b>	0,34	<b>3,25 a</b>	0,36
AGS	<b>30,94a</b>	1,97	<b>31,23a</b>	2,49	<b>30,58a</b>	1,55
AGI	<b>57,98a</b>	3,45	<b>58,89a</b>	3,69	<b>56,40a</b>	3,69
MUFA	<b>36,97a</b>	2,3	<b>39,43a</b>	2,9	<b>37,53a</b>	3,85
PUFA	<b>20,01a</b>	1,86	<b>19,46a</b>	1,9	<b>18,88a</b>	1,16
n3	<b>1,81b</b>	0,4	<b>4,59a</b>	0,7	<b>4,16a</b>	0,51
n6	<b>18,21a</b>	1,74	<b>14,87b</b>	1,75	<b>14,72b</b>	1,28
n6/n3	<b>10,66a</b>	0,66	<b>3,31b</b>	0,65	<b>3,61b</b>	0,67
MUFA/AGS	<b>1,20a</b>	0,06	<b>1,26a</b>	0,05	<b>1,22a</b>	0,07
PUFA/AGS	<b>0,65a</b>	0,05	<b>0,63a</b>	0,08	<b>0,62</b>	0,05

*Medias con diferente letra dentro una misma columna difieren estadísticamente*

*(p<0,05)*



Considerando que un huevo contiene aproximadamente 4,6 g de grasa (Antruejo et al,2011) el contenido promedio de omega-3 fue de 90 mg para a un huevo comercial estándar, mientras que la inclusión con aceite de lino y aceite de calamar proporcionó 229 y 207 mg de omega-3 (tabla 8.4.2). En el caso que la fuente fue el aceite de lino la suma de EPA Y DHA corresponde a un 41% del total de omega-3 por otro lado la incorporación de aceite de calamar la suma de EPA Y DHA corresponde al 84% del total de omega tres de cadena larga

#### **8.4.2. TABLA Aporte de omega-3 por huevo (mg/huevo)**

<b>AG n-3 (%)</b>	<b>Tratamiento</b>		
	<b>A. Soja</b>	<b>A. Lino</b>	<b>A. Calamar</b>
<b>C18-3 n-3</b>	32,83	123,92	20,83
<b>C20-5 n-3</b>	2,48	5,83	11,75
<b>C22-5 n-3</b>	4,25	11,42	12,50
<b>C22-6 n-3</b>	50,83	88,17	162,67
<b>Total n-3</b>	90,40	229,33	207,75

#### **8.5. Estabilidad oxidativa:**

Los tratamientos con aceite de lino o pescado tuvieron mayores valores de TBARs. Por otro lado, se observó un efecto significativo ( $p < 0,05$ ) de la vitamina E sobre los valores de TBARs (Tabla 8.5.1.) debido a que al aumentar el grado de insaturación de los lípidos aumenta la factibilidad de oxidación (Rimer y Givens, 2010). Las aves alimentadas con vitamina E tuvieron huevos con menores valores de TBARs. La disminución en el



status oxidativo con el uso de vitamina E no fue observado por Galobart et al. (2001) en huevo fresco, pero sí en huevo deshidratado. Es importante destacar que los niveles de malondialdehído (MDA) fueron muy bajos, ya que se ha establecido para carnes y subproductos que niveles superiores a 0,5 mg/kg de MDA se consideran parcialmente oxidados (Coetzee& Hoffman, 2001).

#### **8.5.1. TABLA Estabilidad oxidativa: TBA (mg de MDA/Kg de yema), en huevo crudo.**

<b>Tratamiento</b>	<b>TBA</b>	<b>DS</b>
<b>Fuente de omega -3</b>		
<b>AS</b>	0,068b	0,012
<b>AL</b>	0,123a	0,044
<b>AC</b>	0,142a	0,035
<b>Vitamina</b>		
<b>SIN</b>	0,129a	0,045
<b>CON</b>	0,090b	0,057

#### **8.6. Contenido de vitamina E en Huevo**

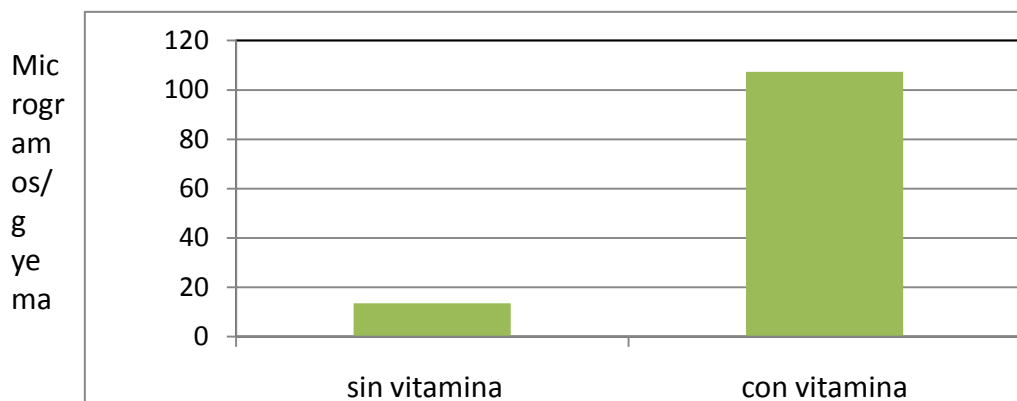
Debido a que los resultados de contenidos en vitamina E no corresponde a una distribución normal de datos y las varianzas no fueron homogéneas, se analizaron las dos poblaciones utilizando el programa Epidat 3.1, utilizando la inferencia de datos sobre dos poblaciones, permitiendo concluir que ambas son diferentes estadísticamente ( $p > 0.05$ ), Tabla 8.6.1.



La incorporación de 100 mg/kg de alfa tocoferol acetato en la ración permitió obtener huevos con un valor promedio de 107  $\mu\text{g}$  de  $\alpha$  tocoferol /g de yema mientras que los tratamientos en los que no se agregaron los 100 mg/kg dl alfa tocoferol acetato, los huevos tuvieron un promedio de vitamina E de 14  $\mu\text{g}$   $\alpha$  tocoferol /g de yema. El incremento de vitamina E en el huevo cuando se suplementa la dieta con vitamina E también fue observado por Jiang et al., 1994, Gjorgovska, et al., 2016. Los valores de vitamina E encontrados en los huevos, en esta experiencia, fueron similares a los valores reportados por Galobar et al., 2001.

Considerando un huevo con 18 g de yema el aporte por huevo sería de 1926  $\mu\text{g}$  de vitamina E versus a 252  $\mu\text{g}$  de vitamina E. Esto está demostrado en la Tabla 8.6.1: contenido de vitamina E ( $\alpha$ - tocoferol ) en huevo (microgramos /g yema).

**8.6.1. TABLA Contenido de Vitamina E ( $\alpha$ - tocoferol) en los huevos de gallinas alimentadas con y sin suplementación de Vit. E.**





### 8.6.2. TABLA Contenido de vitamina E expresado como alfa tocoferol (microgramos /g de yema).

Tratamiento	$\alpha$ -tocoferol	
	Sin Vitamina E	Con Vitamina E
1	13,08 <sup>a</sup>	98,99 <sup>b</sup>
2	14,47 <sup>a</sup>	116,61 <sup>a</sup>
3	12,88 <sup>a</sup>	106,4 <sup>ab</sup>
CV (%)	11,51	8,54

*Medias dentro una misma fila con diferentes letras son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ )*

Analizando los valores de vitamina E de las gallinas que no tuvieron suplementadas las dietas con vitamina E, los huevos de los tres tratamientos no presentaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en el contenido de vitamina E. Por otro lado, en los huevos provenientes de las gallinas alimentadas con la dieta suplementada con 100ppm de vitamina E, el tratamiento 2 fue levemente superior al tratamiento 1 ( $p < 0.05$ ) y no diferente del tratamiento 3.

### 8.7. Análisis Sensorial:

**Serie 1:** las muestras 1 y 2 son equivalentes en preferencia con la población ensayada, mientras que las muestras 3 son preferidas en menor grado pero en equivalencia con las muestras 1. (tabla 8.7.1).

En esta serie no se identificó diferencia significativa entre los huevos del lote suplementado con aceite de lino y los de aquel suplementado con aceite de soja, ni entre los huevos del lote suplementado con aceite de



soja con aquellos del lote suplementado con aceite de pescado. Sí se identificó una diferencia significativa entre los huevos del lote suplementado con aceite de lino y los del lote suplementado con aceite de pescado.

**Serie 2:** las muestras 4 y 5 son equivalentes en preferencia con la población ensayada. Las muestras 6 son preferidas en menor grado.

No se hallaron diferencias significativas entre las muestras del lote suplementado con aceite de lino + Vit. E y el suplementado con aceite de soja + Vit. E. Mientras que sí se hallaron diferencias significativas entre estos y las muestras provenientes del lote suplementado con aceite de pescado y Vit. E. Por lo tanto, concluimos que la suplementación utilizada en el presente ensayo incide en los atributos sensoriales de los huevos.

### 8.7.1: TABLA Resultados del análisis sensorial de las dos series estudiadas

<b>Serie 1</b>		
<b>1</b>	Soja	172 <sup>ab</sup>
<b>2</b>	Lino	182 <sup>a</sup>
<b>3</b>	Pescado	150 <sup>b</sup>
<b>Serie 2</b>		
<b>4</b>	Soja + Vit E	181 <sup>a</sup>
<b>5</b>	Lino + Vit E	185 <sup>a</sup>
<b>6</b>	Pescado+ Vit E	138 <sup>b</sup>

*Medias con diferente supraindice son diferentes estadísticamente ( $p < 0.05$ )*





## *9. Conclusiones*

Con la inclusión de aceite de calamar al 2% se pudo obtener un producto con 207 mg de omega -3, siendo el 80% de ellos ácidos grasos de cadena larga.

El agregado de vitamina E mejoró la estabilidad de sus lípidos y permitió también aumentar de manera significativa el contenido de la misma en el huevo.

En el análisis sensorial no se observó diferencias significativas respecto a un huevo comercial cuando se utilizó aceite de calamar sin la adición de vitamina E.

El consumo de huevo en Argentina hoy es de 270 huevos/hab./año (CAPIA 2016). Este es un alimento nutritivo que contiene gran cantidad de proteína de alto valor biológico, vitaminas y minerales. Avances tecnológicos recientes permiten, mediante la modificación de la alimentación de las aves, modificar la composición de lípidos y otros nutrientes del huevo.

Existen múltiples estrategias para modificar el valor nutritivo del huevo. Ya ha quedado demostrado a través de cientos de estudios que el enriquecimiento de huevos con ácidos grasos Omega-3 es perfectamente viable. Sin embargo el éxito en la producción de estos productos va a depender fundamentalmente de las características de la población, de sus necesidades y de su demanda.



## *10. Referencias bibliográficas.*

Alonso, B.; Córdoba Chicote, C.; Deulofeu Piquet R. ; Granado Lorencio F.; Lara Navarro E. & Ruiz Budría J. 2017. Evaluación del estatus nutricional de vitamina E. *RevLabClin*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.labcli.2017.01.002>

Alvidrez-Morales, A.; Gonzáles-Martínez, B. & Jimenéz-Salas A. 2002. Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. *RESPYN*: 3 (3) 1-6.

Antruejo A. Azcona, J.; Garcia, P. ; Gallinger, C. ; Rosmini M.; Coates, W & Perez C. 2011. Omega-3 enriched egg production: the effect of  $\alpha$ -linolenic w-3 fatty acids on laying hen performance and yolk lipid content and fatty acid composition. *British Poultry Sci*. 52: 750-760.

Araya, H. & Lutz, M. 2003. Alimentos funcionales. *Revista Chilena de Nutrición* 30 (1):8-14.

Baucells M.; Crespo N, Barroeta, A.; López-Ferrer, S & Grashorn, M. Incorporation of different polyunsaturated fatty acids into eggs. *Poultry Sci*. 2000; 78:51-59.

Baur, L; O'Connor, J; Pan, D & Storlien, L 1999. Relationships between maternal risk of insulin resistance and the child's muscle membrane fatty acid composition. *Diabetes* 48 (1):112-6.

Bentancour L. & G. Díaz. 2009. Enriquecimiento de huevos con ácidos grasos omega-3 mediante la suplementación de semilla de lino (*Linum Usitatissimum*) en la dieta. *Rev.MVZ Córdoba* 14(1):1602-1610.

Bourre J.M. 2006. Ácidos grasos  $\omega$ -3 et troubles psychiatriques. *Volume 21, Number 2, Février 2005*. 216-221.

Bourre JM. Dietary omega-3 Fatty acids and psychiatry: mood, behaviour, stress, depression, dementia and aging. *J Nutr Health Aging*. 2005;9(1):31-8. Review. PubMed PMID: 15750663.



Bruinsma, K. & Taren, D. 2000. Dieting, essential fatty acid intake and depression. *Nutr Rev* 58(4):98-108.

Bruneel C.; Lemahieu C., Fraeye I.; Ryckebosch E.; muylaert k., Buyse J. & foubert I. 2013. Impact of microalgal feed supplementation on omega -3 fatty acid enrichment of hen eggs. *Journal of Funcional Food* 5: 897-904.

Burton G.W and Ingold K.U. Vitamin E: application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function *Acc. Chem. Res.*, 1986, 19 (7), pp 194–201 DOI: 10.1021/ar00127a001. June 1986.

Buttriss, J. L., & Diplock, A. T. (1984). HPLC methods for vitamin E in tissues. In L. Parker & A. N. Glazer (Eds.). *Methods in enzymology* (Vol. 105, pp. 131–138). New York: Academic Press.

Cabrera , M. Saadon A.; Grompone, A.; Pagano, T.; Sahi, M.; Olivero, R & del puerto M. 2006. Enriching the egg yolk inn-3 fatty acids by feeding hens with diets containing horse fat produced in Uruguay. *Food Chemistry* 98:767-773.

Calvani M, Benatti P. 2003. Polyunsaturated fatty acids (PUFA). 2003; [56 páginas]. Disponible en: URL: [http://www.st-hs.it/TMA\\_Forum/PUFA%20-%20Calvani%20Benatti%20-%20Feb%202K3.pdf](http://www.st-hs.it/TMA_Forum/PUFA%20-%20Calvani%20Benatti%20-%20Feb%202K3.pdf). Acceso Mar 16, 2010.

Castillo-Badillo, J.; Vazquez-Valladolid, M.; Gonzales Alcorta, E.; Morales-Barrera, E.; Castillo-Domínguez E. & Castillo-Domínguez, S. 2005. El aceite de atún como fuente de ácidos grasos w-3 en el huevo de gallina. *Grasas y Aceites* 56:153-159.

Caston y Lesson. 1990. Dietary flax and egg composition. *Poult. Sci.*, 69 (9): 1617–1620 <http://www.capia.com.ar/estadisticas>.

Caygill, C.; & Hill, M. 1995. Fish, n-3 fatty acids and human colorectal and breast cancer mortality. *Eur J Cancer Prev* , 4(4):329-32.

Caygill, C.; Charlet, A. & Hill, M. 1997. Fat, fish, fish oil and cancer. *British Journal of Cancer*; 74:159-64.



Cleland, L.; James, M. & Proudman, S. 2003. The role of fish oils in the treatment of rheumatoid arthritis. *Drugs* 2003; 63:845-53.

Coetzee, G. & Hoffman, C. 2001. Effect of dietary vitamin E on the performance of broilers and quality of broiler meat during refrigerated and frozen storage. *South African Journal of Animal Sci.* 31(3):158-172.

Combs, G. Jr. 1992. The vitamins, fundamental aspect in nutrition and health. Academic Press Inc. San Diego, California. Capítulo 7.

Cornejo, S.; Hidalgo, H.; Araya, J. & Pokniak, J. 2008. Suplementación de dietas de gallinas de postura comercial con aceites de pescado de diferentes grados de refinación. Efectos productivos en las aves y en la calidad organoléptica de los huevos *ArchMedVet.* 40: 45-50.

Curtis, C.; Hughes, C.; Flannery, C.; Little, C.; Harwood, J. & Caterson, B. 2000. N-3 fatty acids specifically modulate catabolic factors involved in articular cartilage degradation. *J Biol. Chem.* 275(2):721-4.

Descalzo A.M., Insani E.M., Biolatto A., Sancho A.M., García P.T., Pensel N.A., Josifovich J.A. 2005. Influence of pasture or grain-based diets supplemented with Vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Science* 70 (2005) 35-44.

EFSA. European Food Safety Authority. 2012. Scientific Opinion on the Tolerable Upper Intake Level of eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA) and docosapentaenoic acid (DPA). (EFSA), Parma, Italy. *EFSA Journal* 2012;10(7):2815. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2815.pdf>.

European Commission (2012). Commission regulation N 432/2012 of 16 May 2012 establishing a list of permitted health claims made on food, other than those referring to the reduction of disease risk and to children's development and health. Register on nutrition and health claims n°432/2012. *Official Journal of the European Union* L136, 1-40.

FAO. 2012. Grasas y Ácidos grasos en nutrición Humana. Consulta de expertos. Estudio FAO alimentación y nutrición.



<http://www.fao.org/docrep/017/i1953s/i1953s.pdf>. ISBN: 978-92-5-306733-6.

Folch J, Less M And Sloane Stanley G. H. May 1, 1957 . The Journal of Biological Chemistry 226, 497-509. A simple Method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues.

Fredriksson S.; Elwinger K; Pickova, J. 2006. Fatty acid and carotenoid composition of egg yolk as and effect of microalgae addition to feed formula for laying hens. Food Chemistry 99:530-537.

Fukuzawa M, Yamaguchi R, Hide I, Chen Z, Hirai Y Sugimoto A, Yasuhara T, Nakata Y. Possible involvement of long chain fatty acids in the spores of *Ganoderma lucidum* (Reishi Houshi) to its anti-tumor activity. Biol Pharm Bull. 2008 Oct;31(10):1933-7.

Gaard, M.; Tretli, S. & Loken, E. 1996. Dietary factors and risk of colon cancer: a prospective study of 50,535 young Norwegian men and women. Eur. J. Cancer Prev.; 5(6):445-54.

Gallo-Torres, H.; Weber, F. & Wiss, O. 1971. The effect of different dietary lipids on the lymphatic appearance of vitamin E. Int. J. Vitam. Nutr. Res. 41(4):504-515.

Galobart, J.; Barroeta, A.; Baucells, M. & Guardiola, F. 2001. Lipid oxidation in fresh and spray -dried eggs enriched with n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acid during storage as affected by dietary vitamin E and cathaxanthin supplementation. 2001. Poultry Sci. 80:327-337.

García Rebollar, P.; Cachaldora, P.M Alvarez, C.; De Blas C. & Mendes J. 2008. Effect of combined supplementation of diets with increasing levels of fish and linseed oils on yolk fat composition and sensorial quality of eggs in laying hens. Animal Feed Science and technology. 140:337-348.

Gjorgovska, N., Filev K. & Chuleva B. 2016. Enriched eggs with vitamin E and selenium. Seria Zootehnie, Lucrări Științifice: vol. 55: 319-323.

González-Esquerra, R. & Lesson, S. 2000. Effect of feeding hens with regular or desodorized menhaden oil on production parameter, yolk fatty acids profile and sensory evaluation of egg. Poultry Sci. 79, 1597-1602.



Grashorn, M. 2007. Functionality of poultry meat. *J Appl Poult Res*, 16(1):99-106.

Grobas, S.; Mendez, J.; Lázaro, R.; De Blas J. & Mateos, G. 2001. Influence of source and percentage of fat added diet on performance and fatty acid composition of egg yolks of two strains of laying hens *Poultry Sci.* 80:1117-1179.

Hargis, P. & Van Elswyk. 1993. Manipulating the fatty acids composition of poultry meat and eggs for the health conscious consumer *World Poultry Sci. J.* 49:251-264.

Hayat, Z.; Cherian, G.; Pasha, Khattak T, & Jabbar, M. 2010. Sensory evaluation and consumer acceptance of eggs from hens fed flax seed and 2 different antioxidant.

Jiang, Y; McGeachin, R & Bailey, C. 1994.  $\alpha$ - Tocopherol,  $\beta$ -Carotene and Retinol Enrichment of chicken eggs. *Poultry Science* 73:1137-1143.

Kris-Etherton, P.; Daniels, S.; Eckel, R.; Engler, M.; Howard; B. & Krauss, R. 2001. Summary of the scientific conference on dietary fatty acids and cardiovascular health: Conference summary from the nutrition committee of the American Heart Association. *Circulation* 103(7): 1034-1039 .

Leskanich, C. & Noble, R. 1997. Manipulation of the n-3 polyunsaturated fatty acid composition of avian eggs and meat. *World Poultry Sci Journal* 53:155-183.

López Farré, A. & Macaya, C. 2006. Efectos antitroboóticos y antiinflamatorios de los ácidos grasos omega-3. *Rev. Esp. Cardiol. Supl.* 31D-35D.

Mayser, P.; Grimm, H. & Grimminger, F. 2002. n-3 fatty acids in psoriasis. *Br J Nutr*; 87 Suppl 1:S77-S82.

Meluzzi, A.; Sirri, F.; Manfreda, G.; Tallarico, N., & Franchini A. 2000. Effects of Dietary Vitamin E on the Quality of Table Eggs Enriched with n-3 Long-Chain Fatty Acids. *Poultry Sci.* 79:539-545



Meydani S.N. 1993. Grasas y aceites en la nutrición humana. Consulta FAO/OMS de Expertos. Estudio FAO Alimentación y Nutrición. Vol. 57. Cap. 12 pag. 107-108.

Niu, Z.; Liu, F.; Yan, Q. & Li, W. 2009. Effect of different levels of vitamin E on growth performance and immune responses of broilers under heat stress. *Poult. Sci.* 88:2101-2107

Pariza MW, Park Y, Cook ME. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog Lipid Res.* 2001 Jul;40(4):283-98.

Pariza, M.; Park, Y. & Cook, M. 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog. Lipid Res.* 40(4):283-298.

Patnaik, R. & Nair, P. 1977. Studies on the binding of d-alpha-tocopherol to rat liver nuclei. *Arch. Biochem. Biophys.* 178(2):333-341.

Petrovic, M.; Gacic, M.; Karacic V.; Gottstein Z.; Mazija, H. & Medic, H. 2012. Enrichment of egg in n-3 polyunsaturated fatty acid by feeding hens with different amount of linseed oil in diet.

Pike, O. A., and I. C. Peng, 1985. Stability of shell egg and liquid yolk to lipid oxidation. *Poultry Sci.* 64:1470–1475.

Pingping Zhang; Chuanqiu Tang, Zongqing Ding, Hui Huang, and Yong Sun. 2016. Effects of simultaneous supplementation of laying hens with  $\alpha$ -linolenic acid and eicosapentaenoic acid/docosahexaenoic acid resources on egg quality and n-3 fatty acid profile. *Asian-Australas J Anim Sci.* 30(7): 973–978.

Pita Rodríguez, G. 1997. Funciones de la vitamina E en la nutrición humana. *Rev. Cubana Aliment. Nutr.* 11(1):46-57.

Portela M.L. 2015 Aspectos Nutricionales de Vitaminas y minerales en el siglo XXI. Cap. 4; pag. 74-82. Asociación Argentina de Tecnólogos Alimentarios (ATA). Bs. As. Argentina, Octubre 2015.

Rijke, D.; Sebastian, J.; Demacker, P.; Vogelaar, J.; Hak-Lemmers, H. & Stalenhoef, A. 1997. The redox status of coenzyme Q10 in total LDL as an



indicator of in vivo oxidative modification: Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology 17:127-133.

Rodriguez, Pita. Funciones de la vitamina E en la nutrición humana. Rev Cubana AlimentNutr 1997;11(1):46-57. Actualización Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos.

Rose, D. 1997. Effects of dietary fatty acids on breast and prostate cancers: evidence from in vitro experiments and animal studies. Am J Clinical Nutrition 1997; 66(6):1513S-1522.

Rymer, C. & Givens, D. 2010. Comparison of algal and fish source on the oxidative stability of poultry meat and its enrichment with omega -3 polyunsaturates fatty acids. Poultry. Sci. 89:150-159.

Scheideler, S.; Froning, G & Cuppert, S .1997. Studies of consumer acceptance of high omega-3 fatty acids enriched. Journal of Applied Poultry Research 6: 137-146.

Scherf, H.; Machin, I.; Frye, T.; Kratmann, B. & Williams, S. 1996. Vitamin E biopotency: Comparison of various 'natural-derived and chemically synthesized  $\alpha$ -tocopherols. Animal Feed Sci. and Technology 59(1):115-126.

SerhanCh, Arita M, Hong S, GotlingerK .2004. Resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins, novel omega-3-derived mediators, and their endogenous aspirin-triggered epimers. Volume 39, Issue 11, pp 1125–1132.

SERNAC 2004. Servicio Nacional del Consumidor, alimentos funcionales. <http://www.sernac.cl/estudios/detalle.php?id=1098>.

Shapiro, A., Wu, D. & Meydani, S. 1993. Eicosanoids derived from arachidonic and eicosapentaenoic acids inhibit T cell proliferative response. Prostaglandins, 45(3):229-40.

SIES H. Strategies of antioxidant defense. The FEBS Journal. Vol. 215, Issue 2. July 1993 .Pages 213–219.





Simcic M.; Stibilj, V. & Holcman A. 2010. Fatty acid composition of egg produced by the Slovenian autochthonous styrian hen. *Food chemistry* 125: 873-877.

Simopoulos A. 2002. US National Library of Medicine National Institutes of Health. *Biomed Pharmacother.* 2002 Oct;56(8):365-79.

Simopoulos, A. 1994. Is insulin resistance influenced by dietary linoleic acid and trans fatty acids? *Free Radic Biol Med* 1994; 17(4):367-72.

Stenson, W.; Cort, D.; Rodgers, J.; Burakoff, R.; DeSchryver-Kecskemeti K. & Gramlich T. 1992. Dietary supplementation with fish oil in ulcerative colitis. *Ann Intern Med*; 116(8):609-14.

Surai, P. & Sparks, N. 2001. Designer eggs: from improvement of egg composition to functional food. *Trend in Food Science & Technology*. 12:7-16.

Tapia A. 2004. Ácidos grasos omega-3 para la prevención y tratamiento de las depresiones en el embarazo y post parto. *Rev Chil Obstet Ginecol*; 69(5):399-403.

Tserveni-Gousi, A. Yannakopoulos A.; Botsoglou, N.; Chistaki, E. Florou-Panei P. & Yannakakis. 2006. Sensory evaluation and oxidative stability of n-3 fatty acids enriched eggs in Greece. *Arch. Geflügelk* 70 (5): 228-231

Weiser, H. & Vecchi, M. 1982. Stereoisomers of  $\alpha$ -tocopherol acetate. II. biopotencies of all eight stereoisomers, individually or mixture, as determined by rat resorption-gestation test. *Internat J. Vit. Nutr. Res* 52:351-370.

Yam, D.; Eliraz, A. & Berry, E. 1996. Diet and disease--the Israeli paradox: possible dangers of a high omega-6 polyunsaturated fatty acid diet. *Isr J Med Sci*, 32(11):1134-43.