

MODIFICACIÓN DEL PERFIL EN ÁCIDOS GRASOS, α -TOCOFEROL Y NIVELES DE OXIDACIÓN EN HUEVOS ENRIQUECIDOS EN ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS ω 3 TRAS SOMETERLOS A DIFERENTES PROCESADOS TÉRMICOS*

LUCIA CORTINAS HERNÁNDEZ, JAUME GALOBART I COTS, ANA C. BARROETA LAJUSTICIA Y MARÍA D. BAUCCELLS SÁNCHEZ
Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona

INTRODUCCIÓN

El huevo es un alimento equilibrado de alto valor nutritivo. España es el cuarto país productor de huevos en la Unión Europea, y el undécimo a nivel mundial, a pesar de la disminución de consumo que se ha producido en los últimos años. Uno de los motivos que ha contribuido a esta reducción, ha sido su contenido relativamente elevado de colesterol, nutriente relacionado con la aparición de determinadas patologías cardiovasculares. Sin embargo, según datos de la OMS, los tres países industrializados con mayor consumo de huevos por habitante, Japón, Francia y España, tienen los menores índices de mortalidad por infarto de miocardio.

Tomando como partida que la población está cada vez más concienciada sobre la importancia de la dieta sobre la salud, y con el objetivo de promover el consumo de huevos, se han llevado a cabo numerosas campañas para dar a conocer sus propiedades y aplicaciones. Entre las actuaciones realizadas se puede destacar la celebración del Día Mundial del Huevo del pasado 13 de octubre. Además, se han buscado otras estrategias con la finalidad de mejorar su valor nutritivo y comercial. Una de éstas ha sido la producción de huevos con una mayor calidad o valor añadido, como son los huevos enriquecidos en determinados ácidos grasos (AG), vitaminas o incluso algunos minerales.

En el caso concreto del enriquecimiento con ácidos grasos poliinsaturados ω 3 (AGPI ω 3), se ha demostrado como su consumo presenta efectos beneficiosos para la salud. Pero por contrapartida, este enriquecimiento conlleva un aumento de la susceptibilidad de estos alimentos a la oxidación, sobre todo durante su procesado. Esto provoca no sólo alteraciones de su calidad organoléptica y nutricional, sino lo que es más importante, afecta a la salud del consumidor, ya que el consumo de productos de la oxidación ha sido asociado con la aparición de determinadas patologías.

Para evitar la mayor susceptibilidad a la oxidación se han utilizado antioxidantes naturales, como el α -tocoferol (α -Toc), en la dieta de las ponedoras. La suplementación dietética con este compuesto, no sólo es un mecanismo eficaz para la prevención de los procesos oxidativos, sino que a la vez hace posible el enriquecimiento de huevos con vitamina E, mejorando su valor nutritivo y comercial.

La mayoría de la producción de huevos enriquecidos en AGPI ω 3 se destina para consumo directo, por lo que este alimento se suele someter a procesos culinarios tradicionales, como la cocción. Por este motivo, existe un especial interés por conocer la repercusión de los diferentes procesados térmicos sobre el valor nutritivo real del huevo enriquecido.

En este trabajo de investigación se aborda la problemática del enriquecimiento en AG ω 3 de los huevos y la posible prevención de su degradación oxidativa. Se presta especial atención a las pérdidas de valor nutritivo (AG y α -Toc) y aumento de la oxidación que se producen tras someter los huevos a procesos usuales de cocinado (huevo cocido y revuelto).

* Premio a la Investigación 2001 del Instituto de Estudios del Huevo.

MATERIAL Y MÉTODOS

La prueba experimental se llevó a cabo en una nave de ambiente controlado perteneciente a la estación experimental de Unterer Lindenhof de la Universidad de Hohenheim (Alemania). Las aves se alojaron en jaulas individuales de un único piso, cumpliendo las normas establecidas por la Unión Europea.

Para la realización de la prueba experimental se utilizaron cuarenta gallinas ponedoras LSL-White Leghorn de 20 semanas de edad al inicio de la prueba. Estos animales se mantuvieron en unas óptimas condiciones de temperatura, humedad y ventilación, y el suministro de alimento y agua se realizó *ad libitum*.

La elaboración de las dietas experimentales se realizó en la planta de fabricación de la misma estación experimental de Unterer Lindenhof. Las dietas utilizadas durante la prueba experimental fueron formuladas siguiendo las recomendaciones del NRC (1994) a partir de una dieta a base a la que se le añadió un 4% de aceite (Tabla 1). Las dietas experimentales resultaron de un diseño factorial 2 x 2 siendo los factores de variación el tipo de aceite añadido y el nivel de α -Toc suplementado.

TABLA 1. COMPOSICIÓN Y ANÁLISIS QUÍMICO DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES¹.

Ingredientes	%			
Trigo	40,60			
Soja Extrusionada 48	22,60			
Maíz	17,00			
Carbonato de calcio	9,80			
Grasa añadida	4,00			
Alfalfa	3,55			
Fosfato dicálcico	0,91			
Propionato cálcico	0,43			
Cloruro de colina	0,25			
Sal	0,23			
Mono-Sodio-Fosfato	0,18			
Premix Vitamínico 6 A/1.5	0,18			
D ₃ ²	0,18			
DL-metionina	0,16			
Premix Mineral SG1	0,09			
Citraxantina	0,01			
Antioxidante BHT	0,01			
Análisis químico (%)				
	Ln	Ln + α-TA	Ps	Ps + α-TA
Materia Seca	89,70	89,70	89,70	89,80
Proteína Bruta	19,00	18,70	19,00	18,90
Grasa Bruta	6,40	6,40	6,20	6,30
Fibra Bruta	4,10	4,10	4,00	4,10
Cenizas	12,70	13,00	12,60	12,80
EM (MJ/Kg) ²	11,66	11,67	11,63	11,64
Ca	3,81	3,74	3,61	3,69
P	0,59	0,57	0,59	0,57
α -Tocoferol (mg/kg)	29	96,5	34	117

¹ Ln: Linaza; Ps: Pescado; α -TA: Acetato de α -tocoferol.

² EM estimada a partir de la EB.

- **ACEITE AÑADIDO.**
 - **Aceite de linaza (Ln)**, como fuente grasa rica en AGPI de la familia ω 3, principalmente ácido linolénico (LNA).
 - **Aceite de pescado (Ps)**, como fuente grasa rica en AGPI ω 3 de cadena muy larga (AGPI ω 3 CML), esencialmente el ácido ecosapentaenoico (EPA) y el docosahexaenoico (DHA).
- **NIVEL DE ACETATO DE A-TOCOFEROL (A-TA).**
 - Sin suplementación: **0 mg/kg**.
 - Suplementación con **100 mg/kg** de pienso de α -TA (Rovimix® E-50 Adsorbate, F. Hoffmann-La Roche Ltd. Basilea, Suiza).

Para cada tratamiento se utilizaron 10 gallinas distribuidas al azar en las diferentes jaulas. A partir del día 25 de consumir los piensos experimentales y durante 3 semanas se recogieron los huevos de todas las gallinas durante 4 días consecutivos. Del total de huevos recogidos se escogieron al azar 30 huevos por cada tratamiento, que se distribuyeron en grupos de 5 huevos, dando lugar cada grupo a 1 muestra, y obteniéndose un total de 6 muestras por tratamiento. Cada semana los huevos fueron asignados a un tipo de procesado térmico: sin procesado la primera semana, huevos cocidos la segunda, y revueltos la tercera.

Al final de la prueba experimental se sacrificaron 5 gallinas por tratamiento. El sacrificio se realizó en las propias instalaciones de la estación experimental de Unterer Lindenhof, previo aturdimiento con CO_2 . De cada animal sacrificado se obtuvo una muestra de hígado y sangre. La sangre se recogió en tubos que contenían EDTA como anticoagulante, y se centrifugó durante 10 minutos a 3000 rpm para la obtención de plasma.

Los huevos se cocieron por el método de agua fría descrito por Irmiter et al. (1970). Los huevos se introdujeron en un recipiente con agua fría (20°C) al que se le suministró calor hasta que el agua comenzó a hervir. Una vez el agua alcanzó los 100°C, el recipiente, se retiró del fuego, se tapó y se dejó atemperar 30 minutos. Pasado este tiempo los huevos fueron enfriados en un baño de hielo durante 7 minutos.

Cinco huevos de cada tratamiento se rompieron y se batieron conjuntamente, previamente al procesado, durante 10 segundos en un agitador de hélice IKA RW16 basic (Staufen, Alemania). Se situó una sartén sobre una placa eléctrica a media potencia durante 1 minuto antes de introducir los huevos, para asegurar que la temperatura que había adquirido la sartén al iniciar el procesado de todas las muestras fuera la misma. Una vez el huevo se vertió sobre la sartén éste se dejó 1 minuto sin remover, pasado ese tiempo el huevo se homogeneizó con una espátula durante 30 segundos. Transcurridos los 30 segundos se controló la temperatura interna de la masa de huevo hasta que ésta alcanzó los 80°C. A partir de ese momento, se mantuvo 15 segundos removiendo constantemente. El contenido de la sartén se vació sobre un recipiente de plástico hasta que se atemperó.

Una parte de muestra de los huevos e hígados recién homogeneizados se utilizó para la determinación de los valores de oxidación. El resto de muestra de huevos se congeló a -20°C para el posterior análisis del perfil de ácidos grasos y del contenido de α -Toc y grasa total. Las muestras de plasma, fueron directamente congeladas a -80°C hasta el momento de la determinación de la susceptibilidad a la oxidación mediante el test de TBA.

De las cuatro muestras de pienso recogidas a lo largo de la prueba experimental se realizó el Análisis de Weende (AOAC, 1990) y la energía bruta. En las muestras de huevo fresco, cocido y revuelto se determinó el contenido de grasa bruta (Journal Official des Communautés Européenes L279/17) y de la materia seca (Journal Official des Communautés Européenes L279/9).

Para determinar el perfil de ácidos grasos de los piensos, huevos frescos, cocidos y revueltos, e hígados, se extrajeron los lípidos según el método de Folch et al. (1957) y se metilaron con 20% de boro

trifluoruro metanol en una solución metanólica (Morrison y Smith, 1964). Los ésteres metílicos de los AG se separaron e identificaron según la metodología descrita por Galobart et al. (2001b).

A partir de los porcentajes de ácidos grasos se calculó el índice de peroxidabilidad (IP). Este índice refleja la susceptibilidad a la peroxidación dado que tiene en cuenta el potencial de oxidación de cada AG (Witting y Horwitt, 1964).

El IP se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{IP} = (\% \text{ AG monoenoico} \cdot 0,025) + (\% \text{ AG dienoico} \cdot 1) + (\% \text{ AG trienoico} \cdot 2) + (\% \text{ AG tetraenoico} \cdot 4) + (\% \text{ AG pentaenoico} \cdot 6) + (\% \text{ AG hexaenoico} \cdot 8)$$

El contenido de α -Toc del pienso fue analizado por F. Hoffmann- La Roche Ltd. mediante el método descrito por Manz y Philipp (1981). El α -Toc presente en las muestras de huevo fresco, cocido y revuelto se analizó mediante la metodología descrita por Abdollahi et al. (1993). Las condiciones cromatográficas que se utilizaron fueron las descritas por Drotleff y Ternes (1999).

La determinación de la oxidación en las muestras de huevo fresco, cocido y revuelto e hígado se determinó mediante el test del ácido tiobarbitúrico (TBA), según método descrito por Botsoglou et al. (1994), y en las muestras de plasma mediante el método descrito por Jentzsch et al. (1996), en presencia de oxígeno.

Los datos obtenidos en huevos se analizaron mediante una ANOVA de tres vías (2 \times 2 \times 3) para estudiar el efecto del tipo de aceite, la suplementación con α -TA y el tipo de procesado térmico sobre los parámetros estudiados.

En cuanto a los valores de TBA obtenidos de hígado y sangre se analizaron mediante un ANOVA de 2 vías (2 \times 2) para valorar el efecto del tipo de aceite y la suplementación con α -TA.

En todos los casos, los ANOVA se realizaron mediante el procedimiento GLM del paquete SAS[®] (SAS Institute, 1996). En caso de existir diferencias significativas ($P \leq 0,05$), las medias se compararon mediante el método LSD del mismo paquete estadístico. Interacciones de orden superior a 2 fueron ignoradas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

COMPOSICIÓN DE LA DIETA

La composición de las dietas experimentales se muestra en la Tabla 1 (página 2) y su perfil en ácidos grasos en la Tabla 2.

El perfil de AG de la dieta responde claramente al tipo de grasa añadida. Las dietas con aceite de linaza presentaron niveles menores de AGS y mayores de AGPI que las dietas con aceite de pescado. Ahora bien, tanto la incorporación de linaza como de pescado dio lugar a dietas con altos niveles de AGPI ω 3 (Ln: 39,16 % vs. Ps: 29,85 %). En concreto, la dieta con linaza presentó altos contenidos de LNA (39,2 %), mientras que la adición de aceite de pescado, con una proporción EPA:DHA de 5:21, permitió unos niveles 26,8% más elevados de AGPI ω 3 CML, especialmente DHA (20,7 %), que los tratamientos con aceite de linaza. Estas diferencias se reflejan en el índice de peroxidabilidad, el cual en los tratamientos con aceite de pescado fue 20 veces superior a los tratamientos con aceite de linaza (Tabla 2).

DATOS PRODUCTIVOS

Durante el desarrollo de la prueba experimental la tasa de puesta de las gallinas se situó alrededor del 90%. Este parámetro no se vio afectado ni por el tipo de aceite añadido a la dieta, ni por la

TABLA 2. COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DE LAS DIETAS, EXPRESADA COMO NORMALIZACIÓN DIRECTA DE ÁREA (%).

Ácidos grasos ¹	Tratamientos	
	Linaza	Pescado
AGS	11,62	27,77
AGMI	19,78	19,70
AGPI	68,60	52,53
ω6	29,44	22,68
ω3	39,16	29,85
ω3 CML	ND	26,78
C14:0	ND	1,84
C15:0	ND	0,75
C16:0	8,49	18,68
C16:1 ω7	ND	2,82
C17:0	ND	0,87
C18:0	3,13	5,29
C18:1 ω9	19,78	16,23
C18:2 ω6	29,44	21,10
C18:3 ω3	39,16	2,44
C18:4 ω3	ND	0,63
C20:0	ND	0,35
C20:1 ω9	ND	0,65
C20:4 ω6	ND	1,58
C20:5 ω3	ND	4,88
C22:5 ω3	ND	1,16
C22:6 ω3	ND	20,74
Índice de Peroxidabilidad	11,65	237,04

¹ AGS: Ácidos grasos saturados totales; AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados totales; AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados totales; ω3: Ácidos grasos poliinsaturados ω3 totales; ω6: Ácidos grasos poliinsaturados ω6 totales; ω3 CML: ácidos grasos poliinsaturados ω3 de 20 ó más carbonos.

ND: No detectado.

suplementación con α-TA. Sin embargo, el consumo medio diario situado alrededor de 108,5 g/gallina y día, se vio afectado por el tipo de grasa añadida, de manera que aquellos animales alimentados con aceite de pescado consumieron menos pienso que aquellos que consumieron aceite de linaza (111,4 vs. 105,6 g/gallina y día, P £ 0,05). La suplementación con 100 mg de α-TA/kg no supuso ninguna diferencia en el consumo medio diario de las gallinas. Otros autores (Hargis et al., 1991; Jiang et al., 1994; Qi y Sim, 1998; Baucells et al., 2000; Meluzzi et al., 2000; Galobart et al., 2001a,d) que utilizaron fuentes de grasa y niveles de tocoferol en las dietas similares a las utilizadas en nuestro trabajo, no observaron diferencias significativas en ninguno de los parámetros productivos. Por otra parte, Scheideler y Froning (1996) observaron como los tratamientos que incluían aceite de linaza daban lugar a menores pesos de huevo y menor consumo de pienso respecto a aquellos tratamientos con aceite de pescado.

COMPOSICIÓN LIPÍDICA DEL HUEVO

El contenido de materia seca y de grasa presente en la porción comestible de los huevos frescos, cocidos y revueltos se presenta en la Tabla 3. Cuando se sometieron los huevos a los diferentes procesos térmicos (cocido y revuelto) se observó una pérdida de agua del orden de 1,3% para el cocido y 6,6% para el revuelto. Paralelamente, y debido al efecto producido por esta pérdida de agua, estos últimos presentaron mayores proporciones de grasa que los huevos frescos y cocidos.

En general, el factor que modificó de forma más importante la composición en AG del huevo fue el tipo de aceite añadido. Tal y como se observa en la Tabla 4 el perfil lipídico de los huevos de los

TABLA 3. PROPORCIÓN DE MASA, MATERIA SECA Y GRASA BRUTA DEL HUEVO FRESCO Y TRAS SOMETERLO A VARIOS PROCESOS DE COCINADO.

	Masa de huevo (%) ¹	Materia Seca (%)	Grasa bruta (%)
Frescos	100,0	23,3 ^c	9,68 ^b
Cocidos	97,8	24,3 ^b	10,06 ^b
Revueltos	86,1	28,04 ^a	11,4 ^a
EEM		0,239	0,223
P		0,0001	0,001

¹ Proporción de masa respecto a la masa de huevo fresco.

^{a, b, c}: Superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$) para materia seca y grasa bruta.

TABLA 4. EFECTO DEL ACEITE AÑADIDO Y LA SUPLEMENTACIÓN CON ACETATO DE A-TOCOFEROL SOBRE LA COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DEL HUEVO FRESCO, EXPRESADO COMO NORMALIZACIÓN DIRECTA DE ÁREA (%).

Ácidos grasos ¹	Aceite			Acetato de α -tocoferol (mg/kg)			P Aceite \times α -TA	EEM
	Linaza (n=12)	Pescado (n=12)	P	0 (n=12)	100 (n=12)	P		
AGS	30,82	36,57	0,0001	33,99	33,39	0,4617	0,1789	0,802
AGMI	41,22	39,48	0,0299	39,39	41,31	0,0179	0,6593	0,745
AGPI	27,97	23,95	0,0001	26,62	25,30	0,0097	0,1051	0,461
$\omega 6$	17,92	15,60	0,0001	17,08	16,44	0,0599	0,1160	0,318
$\omega 3$	10,05	8,35	0,0001	9,54	8,86	0,0275	0,3775	0,288
$\omega 3$ CML	1,75	7,62	0,0001	4,82	4,56	0,2090	0,9739	0,198
C 16:0	22,14	28,19	0,0001	25,40	24,93	0,4287	0,1403	0,573
C 16:1 $\omega 7$	2,39	3,09	0,0001	2,73	2,76	0,8027	0,6575	0,118
C 18:0	8,67	8,38	0,3358	8,60	8,46	0,6333	0,4193	0,289
C 18:1 $\omega 9$	38,52	36,36	0,0061	36,49	38,39	0,0137	0,5571	0,706
C 18:2 $\omega 6$	16,91	14,82	0,0001	16,16	15,58	0,0993	0,0645	0,336
C 18:3 $\omega 3$	8,30	0,97	0,0001	4,80	4,46	0,0351	0,0388	0,152
C 20:4 $\omega 6$	1,10	0,95	0,1769	1,02	1,04	0,8367	0,2194	0,107
C 20:5 $\omega 3$	ND	0,72	-	0,78	0,65	0,0217	-	0,029
C 22:6 $\omega 3$	1,75	7,21	0,0001	4,60	4,36	0,2101	0,8855	0,183
Índice de Peroxidabilidad	52,60	80,54	0,0001	68,38	64,75	0,0419	0,6666	1,668

¹ AGS: Ácidos grasos saturados totales; AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados totales; AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados totales; $\omega 3$: Ácidos grasos poliinsaturados $\omega 3$ totales; $\omega 6$: Ácidos grasos poliinsaturados $\omega 6$ totales; $\omega 3$ CML: Ácidos grasos poliinsaturados $\omega 3$ de 20 ó más carbonos.

ND: No detectado.

En negrita valores $P \leq 0,05$.

tratamientos con aceite de linaza refleja niveles inferiores de AGS y mayores de AGPI y AGMI que los tratamientos con aceite de pescado. Aunque la suplementación con ambos aceites dio lugar a huevos con altos niveles de AGPI $\omega 3$, estos niveles fueron mayores en los huevos de las dietas con linaza (10,05% vs. 8,35%, $P \leq 0,001$). En los tratamientos formulados con aceite de linaza, este nivel de AGPI $\omega 3$ se debió principalmente al LNA (82,6% del total de AGPI $\omega 3$), mientras que en los huevos procedentes

de los tratamientos a base de aceite pescado, a las altas proporciones de AGPI ω 3 CML (1,75% vs. 7,62%, $P \leq 0,0001$), en concreto DHA (86,3% del total de AGPI ω 3). Esto supuso que el índice de peroxidabilidad fuera claramente superior en aquellos huevos de los tratamientos con aceite de pescado (52,6 vs. 80,5, $P \leq 0,0001$). Estos resultados coinciden, en general, con los de otros autores que utilizaron aceites o semillas de linaza y/o aceites de pescado para obtener huevos enriquecidos con AG ω 3 (Hargis et al., 1991; Marshall et al., 1994; Cherian et al., 1996a,b; Baucells et al., 2000; Meluzzi et al., 2000; Galobart et al., 2001a,c,d).

El efecto de la suplementación con acetato de α -tocoferol sobre la composición en AG fue de menor magnitud que el efecto de la fuente grasa. Sin embargo, podemos destacar que la suplementación con 100 mg de α -TA/kg supuso un aumento en la proporción de AGMI y una reducción de los AGPI en relación a los tratamientos no suplementados. En concreto, el perfil lipídico de los huevos estudiados nos indica que la suplementación con 100 mg de α -TA/kg da lugar a una mayor proporción de oleico (36,5 % vs. 38,4 % $P \leq 0,05$), y una menor proporción de AG ω 3 (9,5 % vs. 8,9 %, $P \leq 0,05$), y en concreto de LNA (4,8 % vs. 4,5 %, $P \leq 0,05$) y EPA (0,78% vs. 0,65% $P \leq 0,05$) que las dietas sin suplementar. Esto supuso una reducción en el nivel de insaturación de los tratamientos suplementados con α -TA, reflejándose en un menor índice de peroxidabilidad al suplementar las dietas con 100 mg de α -TA/kg (68,4 vs 64,8, $P \leq 0,05$). Las diferencias relativas a la proporción de LNA debidas a la suplementación con α -TA fueron más evidentes en las dietas con linaza que en las de pescado (Ln: 8,63 % vs. 7,96 % y Ps: 0,97% vs. 0,96%, $P \leq 0,05$). Para el resto de los ácidos grasos no se observaron interacciones estadísticamente significativas.

Hay pocos trabajos que hayan estudiado el efecto de la suplementación con α -Toc sobre la composición en AG de los huevos, y los resultados obtenidos son controvertidos. Galobart et al. (2001a) observaron un contenido de un 11,1% y 13,3% menor de EPA y DHA, respectivamente, en huevos de gallinas alimentadas con dietas formuladas con 5% de aceite de linaza o girasol tras ser suplementadas con 200 mg α -TA/kg. De igual forma Meluzzi et al. (1999) observaron un menor contenido de AGPI ω 3 al suplementar con 200 mg de α -TA/kg una dieta con 3% de aceite de pescado o sebo. Estos autores sugieren que el α -tocoferol podría interferir en los mecanismos de absorción y transporte de algunos AG de cadena larga, reduciendo, de esta manera, su depósito en el huevo. En contraste con estos resultados, Cherian et al. (1996a,b) encontraron un mayor contenido de EPA y DHA en los huevos al adicionar 400 ppm de una mezcla de tocoferoles a una dieta con aceite de pescado. Ellos sugirieron que este incremento podría ser debido a un efecto protector de los tocoferoles frente a la oxidación de estos AG, o al hecho de que los tocoferoles podrían aumentar su síntesis actuando a través de la D-6 desaturasa. Por otro lado, otros autores no han encontrado ningún efecto de la suplementación con tocoferoles sobre el perfil de AG de huevos enriquecidos con AGPI ω 3 (Qi y Sim, 1998).

La variabilidad de resultados obtenidos entre los diferentes autores respecto al efecto de la suplementación con α -TA sobre la composición en AG podría deberse a que, por un lado el α -Toc actuaría como protector frente a los procesos de oxidación, previniendo por tanto la destrucción de los AGPI, y por otro lado podría interferir en la absorción a nivel intestinal de estos AGPI. El equilibrio entre estos dos mecanismos, protección e interferencia, sería el responsable de la falta de concordancia en los resultados referenciados.

De forma global, no se observa un efecto importante del tratamiento térmico sobre el perfil en AG de los huevos, si bien el trabajar con porcentajes dificulta su valoración precisa (Tabla 5).

En general, a partir de todos los datos y valorando únicamente el efecto del procesado observamos una reducción en el contenido de AGPI ω 3 de huevos revueltos al compararlos con los huevos frescos. Además esta reducción se observa más concretamente en el contenido de DHA de huevos revueltos de los tratamientos que contienen aceite de pescado. Existen pocos trabajos que hayan estudiado el

efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de AG de los huevos. Algunos autores observaron una reducción principalmente en los AGPI, al someter los huevos a procesos térmicos más agresivos, como atomización y conservación posterior durante 12 meses (Galobart, 2000), o yemas sometidas a microondas (Murcia et al., 1999). No obstante, Van Elswyk et al. (1992) no observaron diferencias tras someter los huevos de gallinas alimentadas con una dieta que contenía 3% de aceite de pescado a los mismos procesos térmicos que a los aquí expuestos, cocido y revuelto.

Las variaciones en el perfil de AG debidas a la suplementación dietética con α -TA y al procesado térmico son de baja magnitud, y la expresión de los valores en % (normalización de áreas) dificulta la interpretación. Por este motivo sería aconsejable la cuantificación de estos AG (mg/g) mediante la utilización de estándares internos, para poder establecer con mayor precisión el efecto real de estos factores sobre las variaciones de AG.

TABLA 5. EFECTO DEL PROCESADO TÉRMICO, EL ACEITE AÑADIDO Y LA SUPLEMENTACIÓN CON ACETATO DE A-TOCOFEROL SOBRE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DEL HUEVO FRESCO, COCIDO Y REVUELTO, EXPRESADO COMO NORMALIZACIÓN DIRECTA DE ÁREA (%).

Ácidos grasos ¹	Huevos				P				
	Frescos	Cocidos	Revueltos	EEM	Aceite	α -TA	Procesado	Aceite x Procesado	α -TA x Procesado
AGS	33,82	33,54	33,97	0,526	0,0001	0,2619	0,8548	0,7601	0,8079
AGMI	40,33	41,14	39,65	0,423	0,0003	0,0045	0,0594	0,5370	0,3415
AGPI	25,85 ^a	25,32 ^b	26,39 ^a	0,247	0,0001	0,0105	0,0152	0,0038	0,2893
$\omega 6$	16,82 ^b	16,16 ^c	17,83 ^a	0,168	0,0001	0,0163	0,0001	0,0001	0,5375
$\omega 3$	9,03 ^a	9,16 ^a	8,56 ^b	0,126	0,0001	0,0613	0,0038	0,6294	0,1703
$\omega 3$ CML	4,50 ^a	4,63 ^a	4,09 ^b	0,078	0,0001	0,3983	0,0001	0,0001	0,3374
C 16:0	25,26	24,73	24,95	0,349	0,0001	0,1088	0,5655	0,8987	0,8016
C 16:1 $\omega 7$	2,75 ^b	2,93 ^a	2,49 ^c	0,062	0,0001	0,3842	0,0001	0,1580	0,6538
C 18:0	8,56	8,82	9,01	0,201	0,0300	0,8890	0,2839	0,5052	0,7449
C 18:1 $\omega 9$	37,58	38,20	37,16	0,405	0,0001	0,0022	0,2119	0,6707	0,3232
C 18:2 $\omega 6$	15,93 ^b	15,32 ^c	16,78 ^a	0,162	0,0001	0,0504	0,0001	0,0001	0,4194
C 18:3 $\omega 3$	4,64	4,68	4,47	0,096	0,0001	0,1210	0,2381	0,2027	0,4736
C 20:4 $\omega 6$	1,03	1,00	1,05	0,048	0,9461	0,1105	0,7759	0,0627	0,4090
C 22:6 $\omega 3$	4,50 ^a	4,63 ^a	4,09 ^b	0,078	0,0001	0,3983	0,0001	0,0001	0,3374
Índice de Peroxidabilidad	65,58	65,78	63,63	0,769	0,0001	0,0518	0,1066	0,2847	0,2969

¹ AGS: Ácidos grasos saturados totales; AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados totales; AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados totales; $\omega 3$: Ácidos grasos poliinsaturados $\omega 3$ totales; $\omega 6$: Ácidos grasos poliinsaturados $\omega 6$ totales; $\omega 3$ CML: Ácidos grasos poliinsaturados $\omega 3$ de 20 ó más carbonos.
En negrita valores $P \leq 0,05$.

COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DEL HÍGADO

La composición en ácidos grasos del hígado para los diferentes tratamientos experimentales se muestra en la Tabla 6.

La fuente grasa de la dieta afectó al perfil lipídico de los hígados. De esta forma, los hígados procedentes de los tratamientos con linaza presentaron niveles inferiores de AGS, fundamentalmente palmítico, y mayores proporciones de AGMI, en concreto oleico, que los de los tratamientos con aceite de pescado. Aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de AGPI totales, los hígados del tratamiento con linaza presentaron niveles superiores de AGPI $\omega 6$, pero inferiores de $\omega 3$, en concreto $\omega 3$ CML, que los hígados de las dietas con pescado.

Al aportar a las gallinas una dieta rica en DHA (20,7%), este AG aparece depositado un 14,9% en el hígado de las aves. Por otro lado, las gallinas que consumen una dieta exenta de DHA pero con una alta proporción de su precursor, el LNA, también presentan este AG en el hígado aunque en menor

proporción (3,5%). De aquí se deduce una doble procedencia del DHA, de origen dietético como el observado en mayor medida en los tratamientos con aceite de pescado y de origen endógeno por los procesos de elongación y desaturación que se dan en este órgano a partir de precursores como el LNA en los tratamientos con linaza. Estos resultados coinciden con los observados por Christiansen et al. (1991), quienes estudiaron el metabolismo de los AGPI en hígados de ratas tras ofrecerles diferentes dietas formuladas con un 20% de aceite de linaza o pescado. Observaron como una gran cantidad de LNA era transformado a EPA y DHA en el hígado de las ratas alimentadas con aceite de linaza, debido principalmente a un aumento de la actividad de la D5 y, especialmente, D6 desaturasas (enzimas encargados de la elongación y desaturación de los AGPI). Esta misma transformación era un 50% inferior para las ratas alimentadas con los tratamientos con pescado, dado que los AGPI de cadena muy larga como el EPA y el DHA inhiben estos enzimas a través de un sistema *feed-back*.

TABLA 6. EFECTO DEL ACEITE AÑADIDO Y LA SUPLEMENTACIÓN CON ACETATO DE α -TOCOFEROL SOBRE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DEL HÍGADO, EXPRESADO COMO NORMALIZACIÓN DIRECTA DE ÁREA (%).

Ácidos grasos ¹	Aceite			Acetato de α -tocoferol (mg/kg)			P Aceite \times α -TA	EEM
	Linaza (n=10)	Pescado (n=10)	P	0 (n=10)	100 (n=10)	P		
AGS	36,12	39,16	0,0019	38,16	37,12	0,2135	0,5091	0,753
AGMI	34,97	28,47	0,0163	30,22	33,22	0,2293	0,8914	2,247
AGPI	28,91	32,38	0,1001	31,62	29,67	0,3388	0,6628	1,856
$\omega 6$	18,99	16,19	0,0046	18,38	16,80	0,0793	0,2295	0,786
$\omega 3$	9,92	16,19	0,0003	13,24	12,87	0,7841	0,8998	1,261
$\omega 3$ CML	3,99	16,02	0,0001	10,42	9,59	0,4513	0,7502	1,072
C16:0	21,30	25,63	0,0001	23,68	23,25	0,4893	0,1548	0,565
C16:1 $\omega 7$	1,67	1,88	0,3677	1,67	1,87	0,3767	0,3599	0,210
C18:0	14,82	13,53	0,0179	14,48	13,86	0,2214	0,4707	0,455
C18:1 $\omega 9$	33,30	26,59	0,0108	28,55	31,34	0,2420	0,9565	2,152
C18:2 $\omega 6$	15,75	13,23	0,0009	14,96	14,02	0,1417	0,2865	0,566
C18:3 $\omega 3$	5,93	0,60	0,0001	3,17	3,36	0,8081	0,9101	0,892
C20:4 $\omega 6$	3,24	2,96	0,3584	3,42	2,78	0,0507	0,2228	0,282
C20:5 $\omega 3$	0,68	0,85	0,0519	0,86	0,67	0,0320	0,4744	0,076
C22:6 $\omega 3$	3,45	14,92	0,0001	9,29	9,08	0,8410	0,8799	0,979
Índice de peroxidabilidad	91,51	165,92	0,0001	114,76	108,22	0,5009	0,8234	8,919

¹ AGS: Ácidos grasos saturados totales; AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados totales; AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados totales; $\omega 3$: Ácidos grasos poliinsaturados $\omega 3$ totales; $\omega 6$: Ácidos grasos poliinsaturados $\omega 6$ totales; $\omega 3$ CML: Ácidos grasos poliinsaturados $\omega 3$ de 20 ó más carbonos.

En negrita valores $P \leq 0,05$.

Al suplementar las dietas con 100 mg de α -TA/kg no se observaron diferencias significativas en el contenido de AG en el hígado, a excepción del EPA, del cual se encontraron proporciones inferiores en aquellos hígados de las dietas suplementadas con α -TA (0,86% vs. 0,67%, $P \leq 0,05$). Esto reafirmaría la hipótesis de la existencia de una interferencia entre los AGPI y α -Toc, anteriormente comentada en huevo fresco. En ningún caso se observaron interacciones estadísticamente significativas entre los dos factores estudiados.

CONTENIDO DE α -TOCOFEROL DEL HUEVO

El contenido de α -Toc de los huevos expresado en mg/g materia seca (M.S.) se muestra en la Tabla 7. Tanto la suplementación dietética con α -TA como el tipo de aceite añadido afectaron de forma estadísticamente significativa al contenido de α -Toc de huevos frescos y sometidos a las diferentes formas de procesado (cocido y revuelto).

El contenido de α -Toc del huevo aumentó de forma estadísticamente significativa al suplementar las dietas con 100 mg de α -TA/Kg (186,8 vs. 389,1 mg/g M.S., $P \leq 0,001$). En la bibliografía está bien establecida la relación lineal existente entre la suplementación dietética con α -Toc y la concentración de este compuesto en el huevo (Frigg et al., 1992; Jiang et al., 1994; Qi y Sim, 1998; Meluzzi et al., 1999; Galobart et al., 2001d). Sin embargo, existe gran variabilidad entre los valores del contenido de α -Toc en huevo obtenidos por los diferentes autores con niveles de suplementación dietéticos similares. Este hecho podría deberse, entre otros factores, a diferencias en las técnicas analíticas utilizadas, así como al hecho de que no siempre el nivel real de α -Toc presente en la dieta coincide con el nivel estimado a partir de la suplementación. Además, el uso de antioxidantes externos, como el BHT, puede proteger a los lípidos de los ingredientes, evitando de esta manera el gasto posterior de α -Toc.

TABLA 7. EFECTO DEL ACEITE AÑADIDO Y LA SUPLEMENTACIÓN CON ACETATO DE A-TOCOFEROL SOBRE EL CONTENIDO DE A-TOCOFEROL EN HUEVO FRESCO, COCIDO Y REVUELTO (EXPRESADO EN MG/G M.S.).

	Media global (n=20)	Aceite		Acetato de α -tocoferol (mg/kg)	
		Linaza (n=10)	Pescado (n=10)	0 (n=10)	100 (n=10)
Fresco	297,54	321,57 ^a	273,51 ^b	187,17	407,91.
Cocido	282,92	325,23 ^a	240,62 ^c	178,33	387,51
Revuelto	283,35	336,86 ^a	229,84 ^c	194,79	371,91
Media global		327,89	247,99	186,77	389,11
EEM	9,981				
P					
Aceite	0,0001	Aceite \times α -TA		0,9441	
α -TA	0,0001	Aceite \times Procesado		0,0170	
Procesado	0,2663	α -TA \times Procesado		0,1245	

^{a, b, c}: Superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas en la interacción Aceite \times Procesado.

α -TA: Acetato de α -tocoferol.

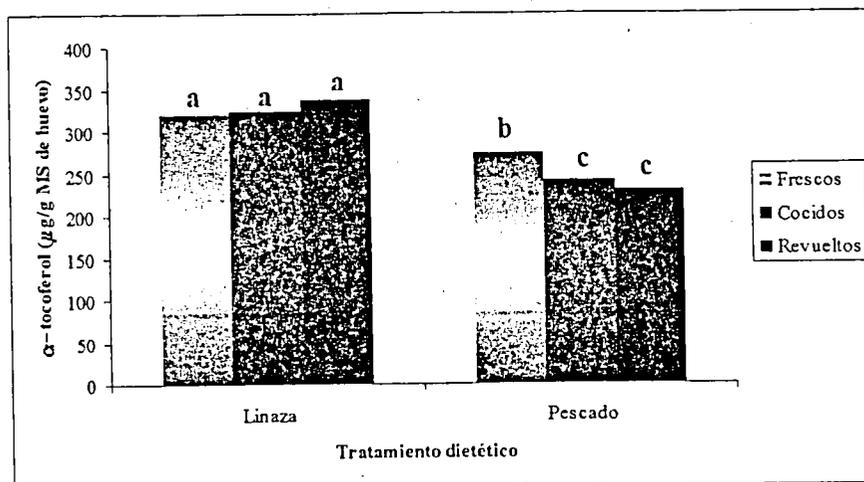
En negrita valores $P \leq 0,05$.

Pero quizás uno de los factores de mayor importancia sea el tipo y nivel de inclusión de grasa en la dieta. Así, en nuestro trabajo, la concentración de α -Toc en los huevos de los tratamientos con linaza fue superior al de los huevos de los tratamientos con pescado, tanto en huevo fresco como cocido y revuelto. Nuestros resultados están en concordancia con otros estudios de la bibliografía que han observado como el depósito de α -Toc disminuye a medida que aumenta el nivel de insaturación y con ello el índice de peroxidabilidad de la dieta, y por tanto de los huevos. Meluzzi et al. (2000) observaron un mayor contenido de α -Toc en los huevos procedentes de las dietas que contenían un 3% de sebo que aquellas que contenían 3% de aceite de linaza, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Así mismo, Galobart et al. (2001a) observó como el contenido de α -Toc de huevos enriquecidos en AGPI $\omega 6$ (procedentes de tratamientos con 5% de aceite de girasol con un índice de peroxidabilidad de 41,5) fue un 9,2% superior al de huevos enriquecidos con AGPI $\omega 3$ (procedentes de tratamientos con 5% de aceite de linaza con un índice de peroxidabilidad de 52,1). De igual forma, Miller y Huang (1993) observaron que el contenido de α -Toc de muslos y pechugas de pollos se reducía a medida que aumentaba el nivel de aceite de pescado, y con ello el nivel de insaturación.

Este efecto de los AGPI $\omega 3$ CML podría ser debido, tal y como se ha comentado anteriormente, a una interferencia entre los AGPI $\omega 3$ de cadena larga y el α -Toc a nivel de su absorción intestinal (Meluzzi et al., 1999). De hecho Gallo-torres (1970) observó como la presencia de AGPI a nivel intestinal

reducía la absorción de α -Toc en ratas. Por otro lado, el perfil lipídico de los huevos de los tratamientos con pescado, con un mayor nivel de AGPI ω 3 CML, conlleva un mayor índice de peroxidabilidad que favorecería el gasto de α -Toc para prevenir la oxidación de estos AG. Otro factor que podría explicar el mayor contenido de α -Toc en los tratamientos con linaza es que el aceite de linaza contiene componentes fenólicos con actividad antioxidante (Velioglu et al., 1998) que podrían ser absorbidos y depositados en el huevo, protegiendo a los lípidos de la oxidación, y por tanto, evitando el gasto de α -Toc.

FIGURA 1. INTERACCIÓN ENTRE EL ACEITE AÑADIDO Y EL PROCESADO TÉRMICO SOBRE EL CONTENIDO DE A-TOCOFEROL DE HUEVOS FRESCOS, COCIDOS Y REVUELTOS (EXPRESADO COMO MG/G DE M.S.)



^{a, b, c}: Superíndices indican diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$).

Al someter los huevos a un tratamiento térmico (cocido o revuelto) únicamente se observa una reducción significativa ($P \leq 0,05$) del contenido en α -Toc de los huevos del tratamiento con aceite de pescado (Figura 1). Esta reducción puede ser debida al mayor índice de peroxidabilidad de los huevos del tratamiento con pescado, que provoca un mayor gasto de α -Toc para prevenir la oxidación asociada a ésta. Hay pocos trabajos que hayan estudiado el efecto del procesado de los huevos sobre su contenido de α -Toc. Galobart et al. (2001d) al someter los huevos a un tratamiento más agresivo como es la atomización, observó una reducción de 30-48% en el contenido de α -Toc en aquellos huevos de los tratamientos que contienen un 5% de aceite de linaza. De igual forma, Murcia et al. (1999) observaron una reducción en el contenido de α -Toc de 19,7% tras someter yemas de huevo, con menores niveles de AGPI ω 3 que en nuestro estudio (1,2% vs. 9,2%), a procesos de cocción durante 3 y 10 minutos, y pérdidas de alrededor del 50% cuando las yemas se sometían a la elaboración de tortillas o a tratamientos por microondas. Sin embargo, en nuestro estudio observamos una reducción del 12-16% en los huevos enteros de los tratamientos a base de pescado. Esta diferencia puede ser debida en parte al mayor contenido de agua de nuestros huevos respecto a la yema utilizada en el trabajo de Murcia et al. (1999). La mayor proporción de agua podría proteger a los triglicéridos de la oxidación durante los procesos térmicos (Yoshida y Kajimoto, 1988). Las pérdidas de α -Toc en el huevo dependen fundamentalmente del tipo de procesado, así como del nivel de AGPI ω 3 CML y de la cantidad de agua presente en los huevos durante el procesado.

OXIDACIÓN LIPÍDICA

En la Tabla 8 se muestran los valores de TBA de las muestras de huevos (ng MDA/g), y en la Tabla 9 los correspondientes al hígado (ng MDA/g), y al plasma (mmol MDA/L).

En huevos frescos no se observaron diferencias en los valores de oxidación para ninguno de los factores estudiados (aceite añadido y nivel de α -TA), obteniéndose valores bajos comprendidos entre

TABLA 8. EFECTO DEL ACEITE AÑADIDO, LA SUPLEMENTACIÓN CON ACETATO DE α -TOCOFEROL Y EL PROCESADO TÉRMICO SOBRE EL VALOR DE TBA (EXPRESADO COMO NG DE MDA/G DE HUEVO) EN HUEVOS FRESCOS, COCIDOS Y REVUELTOS

Tratamiento	Procesado térmico		
	Fresco	Cocido	Revuelto
Ln	31,45	129,44	101,49
Ln + α -TA	32,45	98,89	94,19
Ps	30,59	289,19	231,36
Ps + α -TA	34,58	173,30	127,36
EEM	27,128		
Aceite	α -TA	Procesado	
Linaza 80,96	0 mg/kg	135,62	Frescos 32,26 ^c
Pescado 148,02	100 mg/kg	93,63	Cocidos 172,15 ^a
P 0,0001	P	0,0001	Revueltos 139,06 ^b
			P 0,0001
Interacciones			
Aceite \times α -TA	0,0001		
Aceite \times Procesado	0,0001		
α -TA \times Procesado	0,0002		

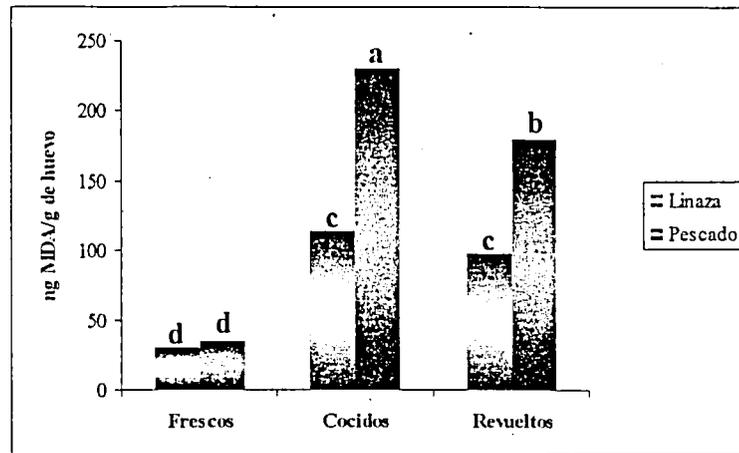
Ln: Aceite de linaza, Ps: Aceite de pescado; α -TA: Acetato de α -tocoferol.
^{a, b, c}: Superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas.

30 y 35 ng MDA/g de huevo. Estas observaciones coinciden con las de otros investigadores (Aymond y Van Elswyk, 1995; Chérian et al., 1996; Galobart et al., 2001a, d). De hecho el huevo fresco entero es muy resistente a la oxidación lipídica debido a que posee componentes antioxidantes naturales como los tocoferoles, la avidina, la fosvitina y la propia estructura de los gránulos lipídicos (Pike y Peng, 1985; Scheideler et al., 1997; Ternes y Leitsch, 1997).

Cuando se sometieron los huevos a los procesos térmicos (cocido y revuelto) se observó un aumento de los valores de oxidación del orden de 3 a 9 veces los valores obtenidos en huevo fresco. Además, se observaron diferencias significativas debidas al tipo de aceite dietético, a la suplementación con α -TA y al procesado térmico. En cuanto al efecto de la fuente grasa añadida se observó como los valores de TBA en los huevos cocidos y revueltos de los tratamientos con pescado fueron un 102% y un 82% superiores, respectivamente, que los de los tratamientos con linaza (Figura 2). Esta mayor susceptibilidad a la oxidación de los huevos con aceite de pescado puede deberse a su mayor contenido en AGPI ω 3 CML, y por tanto, a su mayor índice de peroxidabilidad (Tabla 4). Otros autores han demostrado como el nivel de insaturación de los huevos afecta a su estabilidad oxidativa. Así, Galobart et al. (2001a) observaron como los valores de TBA en huevos atomizados procedentes de tratamientos suplementados con 5% de linaza, fueron un 27% superiores que en los huevos del tratamiento que contenía 5% de girasol. Otros investigadores como Marshall et al. (1994) observaron mayores valores de TBA en yemas de huevos frescos de aquellos tratamientos suplementados con 1,5% de aceite de pescado, respecto a aquellos sin suplementación. De igual forma, Grashorn y Steinhilber (1999) al utilizar dietas con diferentes proporciones de AGPI ω 6/ ω 3 observaron unos valores de TBA superiores en aquellos huevos frescos cuyo contenido de AG ω 3 era superior.

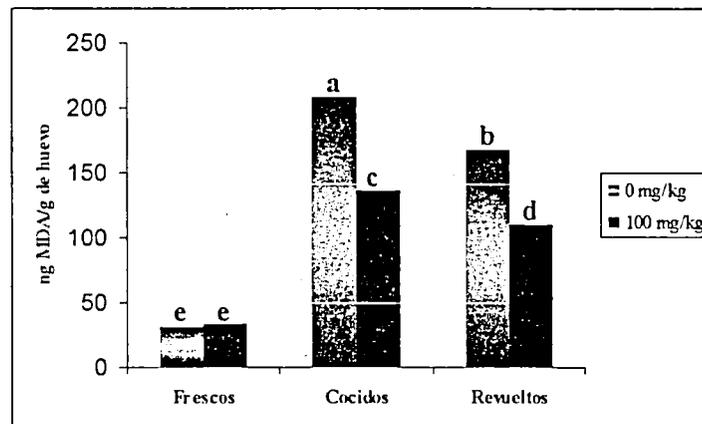
La suplementación con 100 mg de α -TA/kg supuso una reducción significativa de los valores de TBA (135,6 vs 93,6 ng MDA/g huevo, P £ 0,001). Sin embargo, mientras en huevo fresco la suplementación con α -TA no supuso ninguna modificación de los valores de TBA, cuando estos huevos se sometieron a cocido y revuelto, la suplementación con 100 mg de α -TA/kg provocó una reducción de un 35,0 % y 33,7 % de estos valores, respectivamente (Figura 3).

FIGURA 2. INTERACCIÓN ENTRE EL ACEITE AÑADIDO Y EL TIPO DE PROCESADO SOBRE LOS VALORES DE TBA (EXPRESADO COMO NG DE MALONDIALDEHIDO/G DE HUEVO) EN HUEVOS FRESCOS, COCIDOS Y REVUELTOS.



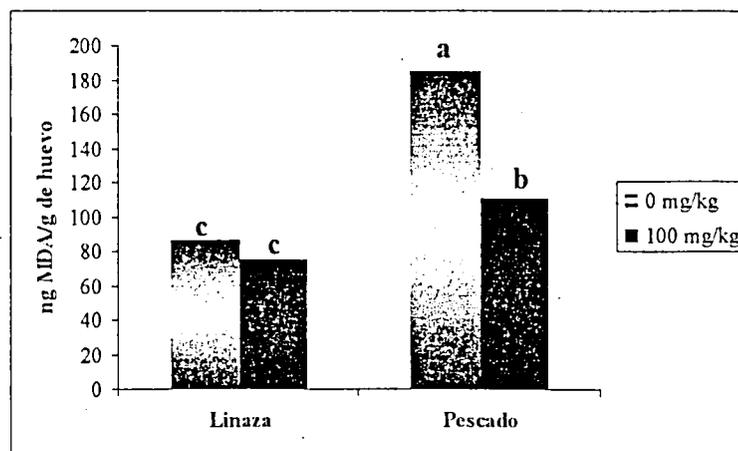
a, b, c, d: Superíndices indican diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$).

FIGURA 3. INTERACCIÓN ENTRE LA SUPLEMENTACIÓN CON ACETATO A-TOCOFEROL Y EL TIPO DE PROCESADO SOBRE LOS VALORES DE TBA (EXPRESADO COMO NG DE MALONDIALDEHIDO/G DE HUEVO) EN HUEVOS FRESCOS, COCIDOS Y REVUELTOS.



a, b, c, d, e: Superíndices indican diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$).

FIGURA 4. INTERACCIÓN ENTRE EL ACEITE AÑADIDO Y LA SUPLEMENTACIÓN CON ACETATO A-TOCOFEROL SOBRE LOS VALORES DE TBA (EXPRESADO COMO NG DE MDA/G DE HUEVO) EN HUEVOS FRESCOS, COCIDOS Y REVUELTOS.



a, b, c: Superíndices indican diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$).

También se observó una interacción entre la suplementación con α -TA y el aceite dietético, en el sentido que la suplementación con 100 mg de α -TA/kg fue más eficiente en la prevención de la oxidación en los huevos de los tratamientos con pescado (Figura 4). Esto confirma, una vez más, que los huevos de las dietas formuladas con aceite de pescado, debido a su contenido más elevado en AGPI ω 3 CML, son más sensibles a la oxidación y por tanto, el α -Toc es más susceptible de mostrar su poder antioxidante. Este hecho se confirma con la reducción observada en el depósito de α -Toc en los huevos cocidos y revueltos del tratamiento con aceite de pescado, anteriormente comentada. Otros investigadores (Galobart et al., 2001a) observaron que la suplementación con 200 mg de α -TA/kg provocaba una reducción de los valores de TBA en huevo atomizado superior en aquellos tratamientos con un 5% de aceite de linaza (con un mayor contenido en AGPI ω 3 de cadena larga) que en aquellos con 5% de girasol.

Como se ha comentado anteriormente, el procesado térmico de los huevos incrementa los valores de TBA. Asimismo, los huevos cocidos, en términos generales, mostraron valores de TBA superiores a los huevos revueltos. En la bibliografía hay pocos trabajos en los que se haya estudiado el nivel de oxidación en huevos sometidos a diferentes procesados térmicos. Está bien establecido que los tratamientos térmicos agresivos como el proceso de atomización aumentan el nivel de oxidación (Caboni et al., 1999; Galobart et al., 2001a,c,d). Sin embargo, existen escasos trabajos que hayan valorado el efecto de tratamientos más suaves sobre los niveles oxidativos.

El hecho de que los valores de TBA que observamos en huevos cocidos sean superiores a los observados en huevo revuelto podría ser debido a las condiciones de procesado. De manera que en el caso de los huevos cocidos, estos se mantuvieron a una temperatura muy próxima a 100°C durante 30 minutos, mientras que los revueltos alcanzaron temperaturas internas de 80°C durante un periodo de 15 segundos. Aunque se podría pensar que el batido previo al procesado del huevo revuelto rompe su fase micelar, y es más agresivo desde el punto de vista de la oxidación, parece que son la temperatura y la duración del tratamiento térmico los factores que afectan de forma más directa a los niveles de oxidación.

Los valores de TBA en las muestras de hígado estuvieron comprendidos entre 210 y 255 ng MDA/g (Tabla 9), observándose los mayores niveles de oxidación en los hígados de los tratamientos con aceite de pescado sin suplementar con α -TA (Figura 5).

TABLA 9. EFECTO DEL ACEITE AÑADIDO Y LA SUPLEMENTACIÓN CON ACETATO DE α -TOCOFEROL SOBRE LOS VALORES DE TBA EN HÍGADO Y PLASMA (EXPRESADO COMO NG DE MALONDIALDEHIDO/G DE HÍGADO Y COMO MMOL DE MDA/L DE PLASMA) DE GALLINAS PONEDORAS.

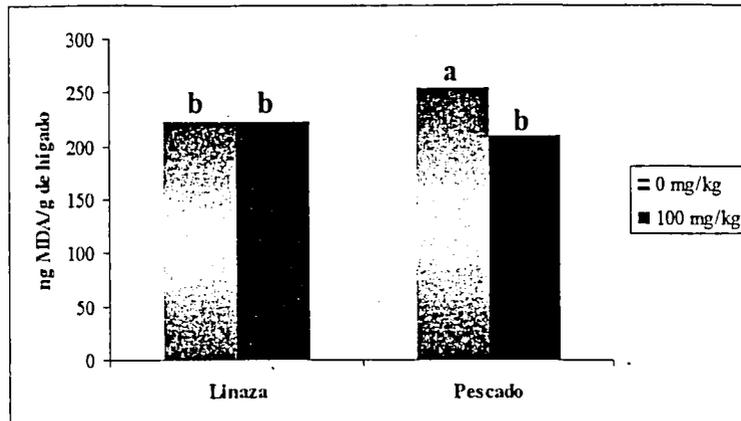
	Aceite			Acetato de α -tocoferol(mg/kg)			P Aceite \times α -TA	EEM
	Linaza	Pescado	P	0	100	P		
Hígado	223,35	232,42	0,3705	238,88	216,90	0,0410	0,0348	21,316
Plasma	1,58	2,06	0,0376	2,04	1,60	0,0614	0,9816	0,461

α -TA: Acetato de α -tocoferol.

En negrita valores $P \leq 0,05$.

Pocos trabajos han estudiado el efecto de la composición de la dieta sobre la estabilidad oxidativa del hígado de gallinas. Saito et al. (1996) observaron como a partir de un 4,4% de incorporación de DHA en la dieta aumentaban significativamente los niveles de oxidación en hígados de ratas. El hecho de que en nuestro estudio las dietas con aceite de pescado presentasen un 20,7% de DHA podría explicar la mayor susceptibilidad a la oxidación (reflejada en un mayor índice de peroxidabilidad) de los hígados de estos tratamientos, debido principalmente a la mayor proporción de AGPI ω 3 CML que los hígados de los tratamientos con linaza. Por otro lado, al igual que en los huevos procesados, la prevención de la oxidación al suplementar con 100 mg de α -TA/kg fue únicamente evidente en los hígados

FIGURA 5. INTERACCIÓN ENTRE EL ACEITE AÑADIDO Y LA SUPLEMENTACIÓN CON ACETATO α -TOCOFEROL SOBRE LOS VALORES DE TBA (EXPRESADO COMO NG DE MDA/G DE HÍGADO) EN HÍGADO.



procedentes del tratamiento con pescado. Cherian et al. (1996b) estudiaron el efecto de la suplementación con 400 ppm de una mezcla de tocoferoles sobre los valores de TBA en hígados de gallinas alimentadas con 3,5% de aceite de linaza o pescado. Observaron como la inclusión de tocoferoles provocó una reducción de 21,1% en los valores de TBA en los hígados, independientemente del tipo de aceite dietético. En nuestro caso la suplementación con 100 mg α -TA/kg fue suficiente para reducir en un 17,6% los procesos oxidativos en los hígados de los tratamientos con pescado.

En cuanto a los valores de TBA en plasma, aquellas muestras de los tratamientos con pescado presentaron valores de oxidación superiores a aquellas con aceite de linaza (1,58 vs. 2,06 mmol/L de plasma, $P \leq 0,05$) (Tabla 9). Al suplementar las dietas con 100 mg de α -TA/kg los valores de TBA en plasma tendieron a reducirse ($P = 0,0614$). No se observó interacción significativa para los efectos estudiados. Existen escasos trabajos que hayan estudiado los procesos oxidativos en plasma. Saito et al. (1996) estudiaron los niveles de oxidación en plasma de ratas, y observaron que se requerían niveles de inclusión de DHA en la dieta superiores al 15,6% para observar un aumento en los niveles de oxidación del plasma. Además hay estudios que han demostrado que las lipoproteínas de muy baja densidad del plasma de las aves son muy similares a las lipoproteínas de baja densidad del huevo (Burley y Vadehra, 1989), y estas últimas poseen una configuración que excluye el oxígeno de su interior dificultando, así, la oxidación de los lípidos que transportan. Si tenemos en cuenta, por una lado el parecido entre estas proteínas y las presentes en el plasma, y por otro lado, que el oxígeno presente en la sangre se encuentra ligado a la hemoglobina, podemos pensar que los procesos oxidativos de los lípidos en la sangre son reducidos. Además es posible que la mayoría de los compuestos oxidados que encontramos en el plasma procedan mayoritariamente de la dieta, los cuales serían absorbidos como tales y transportados a través de las lipoproteínas junto al resto de los lípidos. Este hecho explicaría que en nuestro caso al suplementar con 100 mg de α -TA/kg únicamente se observe una tendencia a reducirse los niveles de oxidación, ya que la baja actividad oxidativa impediría observar claramente el efecto de la suplementación con α -TA.

CONCLUSIONES

De los resultados expuestos en el presente trabajo de investigación se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- 1- El enriquecimiento en ácidos grasos ω 3 de cadena muy larga conlleva un menor depósito de α -tocopherol en el huevo que el enriquecimiento con ácido linolénico.

- 2- El procesado térmico de los huevos con una elevada proporción de ácidos grasos w3 de cadena muy larga provoca pérdidas de hasta un 16% en su contenido de a-tocoferol. Por el contrario, dicho contenido no se ve afectado en los huevos enriquecidos con ácido linolénico.
- 3- El enriquecimiento de los huevos con ácidos grasos w3 de cadena muy larga supone una mayor susceptibilidad a la oxidación que el enriquecimiento con ácido linolénico.
- 4- Los tratamientos térmicos de cocido y revuelto incrementan la degradación oxidativa de los huevos enriquecidos en ácidos grasos w3.
- 5- La suplementación con 100 mg de acetato de a-tocoferol/kg es más eficiente en la prevención de la oxidación asociada al tratamiento térmico cuanto mayor es el nivel de ácidos grasos w3 de cadena muy larga de los huevos.
- 6- El depósito de ácidos grasos w3 de cadena muy larga en el hígado es mayor cuando la gallina consume dichos ácidos grasos de forma directa, en comparación a cuando ingiere altas proporciones de su precursor (ácido linolénico). Esto conlleva a una mayor susceptibilidad a la oxidación que es prevenida a través de la suplementación con 100 mg de acetato de a-tocoferol/kg.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdollahi, A.; Rosenhóltz, N. S.; Garwin, J. L. Tocopherol micro-extraction method with application to quantitative analysis of lipophilic nutrients. *J. Food Sci.* 1993, 58, 663-666.
- AOAC. *Official Methods of Analysis (15th Ed.)*. Association of Analytical Chemists, Ed. Washington DC, EUA. 1990, 963-964.
- Aymond, W. M.; Van Elswyk, M. E. Yolk Thiobarbituric acid reactive substances and n-3 fatty acids in response to whole and ground flaxseed. *Poult. Sci.* 1995, 74, 1388-1394.
- Baucells, M. D.; Crespo, N.; Barroeta, A. C.; López-Ferrer, S.; Grashorn, M. A. Incorporation of different polyunsaturated fatty acids into eggs. *Poult. Sci.* 2000, 79, 51-59.
- Botsoglou, N. A.; Fletouris, D. J.; Papageorgiou, G. E.; Vassilopoulos, V. N.; Mantis, A. J.; Trakatellis, A. G. Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food and feedstuff samples. *J. Agric. Food Chem.* 1994, 42, 1931-1937.
- Burley, R. W.; Vadehra, D. V. *The Avian Egg. Chemistry and biology*. Wiley-Interscience: New York, EUA. 1989.
- Caboni, M. F.; Rodriguez-Estrada, M. T.; Boselli, E.; Tallarico, N.; Franchini, A.; Lercker, G. Oxidative problems of food based on egg ingredient. *Proceedings of the VIII European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products*. Bolonia, Italia. 1999, 345-349.
- Cherian, G.; Wolfe, F. W.; Sim, J. S. Feeding dietary oils with tocopherols: effects on internal qualities of eggs during storage. *J. Food Sci.* 1996a, 61, 15-18.
- Cherian, G.; Wolfe, F. W.; Sim, J. S. Dietary oils with added tocopherols: effects on egg or tissue tocopherols, fatty acids and oxidative stability. *Poult. Sci.* 1996b, 75, 423-431.
- Christiansen, E. N.; Lund, J. S.; Rortveit, T.; Rustan, A. C. Effect of dietary n-3 and n-6 fatty acids on fatty acid desaturation in rat liver. *Biochim. Biophys. Acta.* 1991, 1082, 57-62.
- Drotleff, A. M.; Ternes, W. Cis/trans isomers of tocotrienols-occurrence and bioavailability. *Eur. Food Res. Technol.* 1999, 210, 1-8.
- Folch, J.; Lees, M.; Slaone-Stanley, G. N. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957, 226, 497-509.
- Frigg, M.; Whitehead, C. C.; Weber, S. Absence of effects of dietary a-tocopherol on egg yolk pigmentation. *Br. Poult. Sci.* 1992, 33, 347-353.
- Gallo-Torres, R. Obligatory role of bile for the intestinal absorption of vitamin E. *Lipids.* 1970, 5, 379-384.
- Galobart, J. Millora de l'estabilitat oxidativa d'ous i ovoproductes enriquits amb àcids grassos poliinsaturats: a-tocoferol, cantaxantina i extracte de romaní. Tesis doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona. Facultat de Veterinària. 2000.
- Galobart, J.; Barroeta, A. C.; Baucells, M. D.; Guardiola, F. Lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with w3 and w6 polyunsaturated fatty acids during storage as affected by dietary vitamin E and canthaxanthin supplementation. *Poult. Sci.* 2001a, 80, 327-337.

- Galobart, J.; Barroeta, A. C.; Baucells, M. D.; Codony, R.; Ternes, W. Effect of dietary supplementation with rosemary extract and α -tocopheryl acetate on lipid oxidation in eggs enriched with ω -3 fatty acids. *Poult. Sci.* **2001b**, *80*, 460-467.
- Galobart, J.; Guardiola, F.; Barroeta, A. C.; López-Ferrer, S.; Baucells, M. D. Influence of dietary supplementation with α -tocopheryl acetate and cathaxanthin on cholesterol oxidation in ω -3 and ω -6 fatty acid-enriched spray-dried eggs. *J. Food Sci.* **2001c**, *In press*.
- Galobart, J.; Barroeta, A. C.; Baucells, M. D.; Cortinas, L.; Guardiola, F. α -Tocopherol transfer efficiency and lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with ω -3-polyunsaturated fatty acids during storage. *Poult. Sci.* **2001d**, *In press*.
- Grashorn, M. A.; Steinhilber, S. Effect of dietary fat with different relations between omega-6 and omega-3 fatty acids on egg quality. *Proceedings of the VIII European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products*. Bologna, Italia. **1999**, 95-100.
- Hargis, P. S.; Van Elswyk, M. E.; Hargis, B. M. Dietary modification of yolk lipid with menhaden oil. *Poult. Sci.* **1991**, *70*, 874-883.
- Irmiter, T. F.; Dawson, L. E.; Reagan, J. G. Methods of preparing hard cooked eggs. *Poult. Sci.* **1970**, *49*, 1232-1236.
- Jentsch, A. M.; Bachmann, H.; Fürst, P.; Biesalski, H. K. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radical. Biol. Med.* **1996**, *20*, 251-256.
- Jiang, Y. H.; McGeachin, R. B.; Bailey, C. A. α -tocopherol, β -carotene, and retinol enrichment of chicken eggs. *Poult. Sci.* **1994**, *73*, 1137-1143.
- Manz, U.; Philipp, K. A method for the routine determination of tocopherols in animal feed and human foodstuffs with the aid of high performance liquid chromatography. *Int. J. Vit. and Nutr. Res.* **1981**, *51*, 342-348.
- Marshall, A. C.; Sams, A. R.; Van Elswyk, M. E. Oxidative stability and sensory quality of stored eggs from hens fed 1.5% menhaden oil. *J. Food Sci.* **1994**, *59*, 561-563.
- Meluzzi, A.; Sirri, F.; Tallarico, N.; Vandi, L. Dietary vitamin E in producing eggs enriched with n-3 fatty acids. *Proceedings of the VIII European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products*. Bologna, Italia. **1999**, 153-159.
- Meluzzi, A.; Sirri, F.; Manfreda, G.; Tallarico, N.; Franchini, A. Effects of dietary vitamin E on the quality of table eggs enriched with n-3 long-chain fatty acids. *Poult. Sci.* **2000**, *79*, 539-545.
- Miller, E. L.; Huang, Y. X. Improving the nutritional value of broiler meat through increased n-3 fatty acid and vitamin E content. *11th European Symposium on the Quality of Poultry Meat*. Tours, Francia. **1993**, 404-411.
- Morrison, W. R.; Smith, M. L. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetats from lipid with boron trifluoride methanol. *J. Lipid Res.* **1964**, *5*, 600-608.
- Murcia, M. A.; Martínez-Tomé, M.; del Cerro, I.; Sotillo, F.; Ramírez, A. Proximate composition and vitamin E levels in egg yolk: Losses by cooking in a microwave oven. *J. Sci. Food Agric.* **1999**, *79*, 1550-1556.
- National Research Council. *Nutrient Requirement for Poultry*. 9th rev. ed. National Academy Press. Washington DC, EUA. **1994**.
- Pike, O. A.; Peng, I. C. Stability of shell egg and liquid yolk to lipid oxidation. *Poult. Sci.* **1985**, *64*, 1470-1475.
- Qi, G.-H.; Sim, J. S. Natural tocopherol enrichment and its effect in n-3 fatty acid modified chicken eggs. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 1920-1926.
- Saito, M.; Kubo, K.; Ikegami, S. An assessment of docosahexaenoic acid (DHA) intake with special reference to lipid metabolism in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **1996**, *42*, 195-207.
- SAS Institute. SAS[®]. SAS Institute, Inc. Cary, NC, EUA. **1996**.
- Scheideler, S. E.; Froning, G. W. The combined influence of dietary flaxseed variety, level, form and storage conditions on egg production and composition among vitamin E-supplemented hens. *Poult. Sci.* **1996**, *75*, 1221-1226.
- Scheideler, S. E.; Froning, G. W.; Cuppert, S. L. Studies of consumer acceptance of high omega-3 fatty acid-enriched eggs. *J. Appl. Poult. Res.* **1997**, *6*, 137-146.
- Ternes, W.; Leitsch, S. Chemistry of egg yolk. *Proceedings of the VII European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products*. Poznan, Polonia. **1997**, 127-144.
- Van Elswyk, M. E.; Sams, A. R.; Hargis, P. S. Composition, functionality, and sensory evaluation of eggs from hens fed dietary menhaden oil. *J. Food Sci.* **1992**, *57*, 342-344.
- Velioglu, Y. S.; Mazza, G.; Gao, L.; Oomah, B. D. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 4113-4117.
- Witting, L. A.; Horwitt, M. K. Effect of degree of fatty acid unsaturation in tocopherol deficiency-induced creatinuria. *J. Nutr.* **1964**, *82*, 19-33.
- Yoshida, H.; Kajimoto, G. Effects of microwave treatment on the trypsin inhibitor and molecular species of triglycerides in soybeans. *J. Food Sci.* **1988**, *53*, 1756-1760.