

## SUPLEMENTO DE LA DIETA DE GALLINAS PONEDORAS CON ÁCIDOS GRASOS DE LA SERIE OMEGA 3 (n-3) Y SU INCORPORACIÓN EN LOS FOSFOLÍPIDOS DE LA YEMA DE HUEVO (Trabajo preliminar)

### DIETARY SUPPLEMENT OF FATTY ACIDS OMEGA 3 SERIES (N -3) IN LAYING HENS AND THEIR INCORPORATION IN PHOSPHOLIPIDS OF THE EGG YOLK

GOLFETTO SANDRA<sup>1</sup>, GOLFETTO IVAN<sup>2</sup>, MISKIEWICZ ANA MARIA<sup>3</sup>, GOLFETTO, IVANNA.CAROLINA<sup>4</sup>, GOLFETTO, ANDREA<sup>1</sup>, GARCIA NINOSKA<sup>2</sup>, BOSCH, VIRGILIO<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad Central de Venezuela. Facultad de Medicina. Escuela de José María Vargas. Estudiante de Medicina. sandragolfettom@hotmail.com; andreagolfettom@hotmail.com

<sup>2</sup> Universidad Central de Venezuela. Facultad de Medicina. Instituto de Medicina Experimental (IME). Sección de Lipidología. ivangolfetto@hotmail.com ninogs@hotmail.com virgiliobosch@gmail.com

<sup>3</sup> Hospital Militar “Dr. Carlos Arvelo”. Servicio Endocrinología, ammiskiew@hotmail.com

<sup>4</sup> Hospital Militar “Dr. Carlos Arvelo”. Servicio Medicina Interna. Golfettom3@gmail.com

### Resumen

El consumo de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) de la serie n-3 (ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA)), han demostrado reducir el riesgo de morbi-mortalidad cardiovascular. **Objetivo:** Demostrar incorporación de los AGPI (n-3) a los fosfolípidos de la yema de huevo al enriquecer la dieta de gallinas ponedoras con dichos suplementos, aportando un valor agregado a los huevos, alimento de alto valor biológico, versátil y excelente relación calidad-precio. **Metodología:** alimentación inicial de 6 gallinas ponedoras con alimento comercial (ponarina) y posterior asociación de aceite de pescado. Se realizó separación de lípidos totales de la yema de huevo (método de Folch), extracción de la fase clorofórmica, rotoevaporación y metilación de ácidos grasos (AG) de los fosfolípidos e identificación por cromatografía de gases. **Resultados y conclusiones:** Aumento de EPA (33 veces) y DHA (4,76 veces) demostró la incorporación de la serie n – 3 en los fosfolípidos de yema de huevo. Hubo disminución de los productos de la serie n-6 y aumento de su precursor, ácido linoleico además del aumento del precursor de la serie n-3, ácido linolénico. Las gallinas no presentaron efectos secundarios deletéreos observables, y se apreció un aumento del peso de los huevos en 12,62%.

**Palabras clave:** Huevo; ácidos grasos poliinsaturados; EPA; DHA; valor agregado.

### Abstract

Consumption of polyunsaturated fatty acids (PUFA) of the n-3 series (eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA)) has shown to reduce the risk of cardiovascular morbi-mortality. Objective: demonstrate incorporation of PUFA (n-3) into the phospholipids

of egg yolk when laying hens food is enriched with such supplements, providing added value to eggs. Eggs are versatile, of high biological value, and excellent value-price food. **Methodology:** Initial feeding of 6 laying hens with commercial food (ponarina) and subsequent association of fish oil. Separation of total lipids of egg yolk (Folch method), extraction of the chloroform phase, rotoevaporation and methylation of fatty acid (FA) of the phospholipids and identification by gas chromatography was conducted. **Results and conclusions:** Increase of EPA (33 times) and DHA (4.76 times) demonstrated the incorporation of n-3 series FA in phospholipids of egg yolk. Declining n-6 series products and increased precursor (linoleic acid) in addition to increased precursor of the n-3 (linolenic acid) was observed. Chickens showed no observable deleterious side-effects. Additionally, eggs' weight increased 12.62%.

**Keywords:** Eggs, polyunsaturated fatty acids, EPA, DHA, added value.

## Introducción

En la era moderna, el hombre se ha convertido en más sedentario gracias a las nuevas tecnologías y ha modificado su alimentación, de una dieta más sana, rica en alimentos de origen natural como la carne magra, así como, pescado y vegetales (fuentes de ácidos grasos n-3), a una comida con un mayor consumo de colorantes, aceites saturados, ácidos grasos (AG) n-6 y trans, además de reducir la ingesta de alimentos ricos en n-3. Estudios epidemiológicos y experimentales han demostrado que los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), tipo ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA), tienen efectos beneficiosos en la prevención de enfermedades cardiovasculares (Nordoy *et al.* 1999), de arritmias fatales (Leaf *et al.* 1999) y en la disminución del riesgo de muerte súbita (Harris *et al.* 2004), Además, disminuyen los triglicéridos séricos y la agregación plaquetaria, y tienen efecto hipotensor e antiinflamatorio (Massaro *et al.* 2008). A nivel celular y bioquímico tenemos que el DHA activa la expresión de Cu/Zn superóxido dismutasa y el AA activa el Mn superóxido dismutasa (Phylactos *et al.* 1994; Hesketh *et al.* 1998).

El huevo es un alimento de gran valor nutritivo, rico en proteínas de alto valor biológico (Champe *et al.* 2008), de fácil distribución y bajo costo, esto lo convierte en un excelente vehículo para la administración de AG n-3 a la población. Debido a la importancia de los AG n-3 en la nutrición humana, se planteó su incorporación a través de la administración de AG n-3 al alimento de gallinas ponedoras con la finalidad de otorgarle un valor agregado a dichos huevos. Esto crearía, un método alternativo para el aporte de n-3 mejorando la dieta y salud del ser humano.

## Objetivos

Demostrar la incorporación de los ácidos grasos n-3 en los fosfolípidos de las yemas de huevo de gallinas ponedoras posterior a la suplementación del alimento con estos ácidos grasos.

## Diseño experimental

Todos los análisis de laboratorio se llevaron a cabo en la Sección de Lipidología del Instituto de Medicina Experimental de la Universidad Central de Venezuela.

### PREPARACIÓN DE LOS ANIMALES

Se alimentaron 6 gallinas ponedoras con 1 Kg diario de alimento para aves (ponarina) colocado en un recipiente, siguiendo el siguiente esquema:

Las gallinas ponedoras fueron alimentadas con su dieta habitual (ponarina) por un periodo de 15 días, antes del inicio del experimento ( $T_0$ ). El contenido total de grasa en el alimento era del 4%. Luego se suplementó dicha dieta, con 6% de aceite de pescado (20 ml) para un total de 10% de grasa suministrada. Esta suplementación se continuó por un periodo de 15 días ( $T_1$ ).

### SEPARACIÓN DE LÍPIDOS TOTALES POR FOLCH

El reactivo de Folch se usa para separar los lípidos de cualquier tejido o muestra de alimento. Consiste en una mezcla de Cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ ) y Metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) en una relación 2:1 v/v y BHT (Butilato Hidroxitolueno) como antioxidante.

Se evaluó el peso de los huevos y yemas y se determinó el contenido de lípidos totales y su perfil en ácidos grasos. Se procedió a analizar los lípidos totales contenidos en la fase clorofórmica del reactivo de Folch, tanto en la albúmina como en la yema de los seis huevos, en los tiempos  $T_0$ ,  $T_1$ .

Los fosfolípidos se separaron utilizando cromatografía en capa fina, los ácidos grasos de los fosfolípidos fueron metilados y luego identificados y cuantificados utilizando cromatografía de gases.

### Resultados

Se demostró la incorporación de ácidos grasos n-3 en los fosfolípidos de la yema de huevo (ver tabla 1): Incrementaron: 0,021% a 0,7% EPA y 0,88 % a 4,91% DHA respectivamente, ácido alfa linolenico 0,33% a 0,90%, Ácido linoleico 11,85% a 18,44 %. Disminuyeron ácido  $\gamma$  linolénico ( $\text{A}\gamma\text{LN}$ ) 0,13% a 0,07%, ácido eicosatrienoico (ETE) 0,16% a 0,08%, ácido araquidónico (AA) 2,15% a 0,68%.

**Tabla 1.** Magnitud de los cambios antes y después de la administración de aceite de pescado.

Ácido graso	Huevo control $T_0$ (%)	Huevo post aceite de pescado $T_1$ (%)	Magnitud de aumento o disminución (número de veces)
Ácido $\alpha$ linolénico (ALN)	0,33	0,9	+2,73
Ácido eicosapentaenoico (EPA)	0,021	0,7	+33,33
Ácido docosahexaenoico (DHA)	0,88	4,19	+4,76
Ácido linoleico (AL)	11,85	18,44	+1,56
Ácido $\gamma$ linolénico ( $\text{A}\gamma\text{LN}$ )	0,13	0,07	- 1,86
Ácido eicosatrienoico (ETE)	0,16	0,08	- 2
Ácido araquidónico (AA)	2,15	0,68	- 3,16

## Análisis de resultados

Se observó un aumento importante del ácido alfa linolénico (precursor de la serie n-3) y de los productos finales de la síntesis de la serie n-3 (EPA y DHA) en los fosfolípidos de la yema de huevo de gallinas alimentadas con aceite de pescado. Los productos de la síntesis de la serie n-6 (gamma linolénico, eicosatrienoico y ácido araquidónico) disminuyeron en cantidad, mientras que el ácido linoleico aumentó. La disminución de un AG tan importante como el ácido araquidónico, plantea una reflexión en cuanto a que las dosis de aceite de pescado, pudieran reducirse, para evitar niveles muy bajos de AA. Por otro lado, el descenso de la concentración de AA, pudiera reducir manifestaciones inflamatorias. La disminución de la serie n-6 se explica al enriquecimiento de la dieta con aceite de pescado (serie n-3), debido a un desplazamiento de los ácidos grasos n-6 que estaban esterificados a fosfolípidos, triglicéridos y ésteres de colesterol, por ácidos grasos n-3. El análisis de la albúmina arrojó como dato interesante, que previo a la administración de aceite de pescado, existían pequeñas cantidades de grasa, que probablemente eran ácidos grasos libres, que eran transportados por la albúmina. Los cambios en la composición de AG en la albúmina son semejantes a los que ocurren en la yema de en los huevos suplementados. Se evidenció un aumento del peso de los huevos después de la suplementación, de aproximadamente 12,62%. (Gráfico 1).

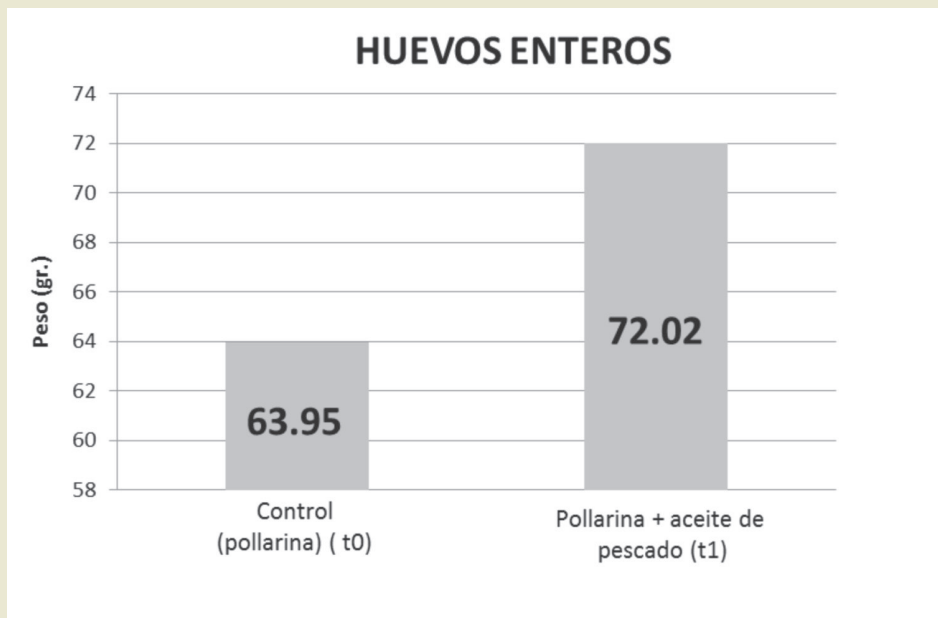


Gráfico 1. Peso de huevos enteros.

## Conclusiones

Se demostró en la yema de huevo, la incorporación los ácidos grasos de la serie n-3 provenientes de la dieta de las gallinas ponedoras. El ácido graso que principalmente se incorpora en la yema de huevo es el ácido eicosapentaenoico (EPA), y en segundo lugar el ácido docosahexaenoico (DHA). La incorporación de los AG n-3 conlleva a una disminución importante de los AG de la serie n-6 entre ellos el ácido araquidónico. La cantidad de aceite de pescado en las dosis utilizadas es suficiente para producir cambios importantes a corto plazo, sirviendo de referencia para futuros trabajos donde se pudieran utilizar cantidades menores. Con las cantidades de aceite de pescado y tiempo de administración, no se vieron efectos secundarios en los animales. Hasta donde tenemos conocimiento, en la literatura el enriquecimiento de los alimentos con omega3 se hace a expensas de precursores como el ácido alfa linolénico y no con EPA y/o DHA.

## Referencias

- CHAMPE P. C., HARVEY, R., and FERRIER, D (2008). *“Bioquímica”*. Editorial McGraw-Hill; 3ra Edición. D.F., México.
- HARRIS, W.S., VON SCHACHY, C. (2004). *“The omega-3 index: a new risk factor for death from coronary heart disease?”* Prev. Med., 39, 212-220.
- HESKETH, J. E., VASCONCELOS, M. H. AND BERMANO, G. (1998). *“Regulatory signals in Messenger RNA: determinants of nutrient-gene interaction and metabolic compartmentalization”*. B J Nut., 80:307-321.
- LEAF, A., KANG, J. X., XIAO, Y,-F., BILLMAN, G. E. AND VOSKUYL, R. A. (1999). *“The antiarrhythmic and anticonvulsant effects of dietary N-3 fatty acids”*. J Membr Biol., 172,1-11.
- MASSARO, M., SCODITTI, E., CARLUCCIO, M.A. AND DE CATERINA, R. (2008). *“Basic mechanisms behind the effect of n-3 fatty acids on cardiovascular disease”*. Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids 79:109-115.
- NORDOY, A (1999). *“Dietary fatty acids and coronary heart disease. Lipids”*. 34, S19-S22.
- PHYLACTOS, A., HARBIGE, L. S. AND CRAWFORD, M. A. (1994). *“Essential fatty acids alter the activity of manganese-superoxide dismutase in rat heart”*. Lipids., 29:111-115.