

*INFLUENCIA DEL ACIDO ASCORBICO EN LA CALCIFICACION Y  
PROPIEDADES FISICAS DE LA CASCARA DE HUEVO EN GALLINAS  
TRATADAS CON SULFAMETAZINA*

RODOLFO PEROTTI (1)  
EUSEBIA ANGULO (2)  
FRANCISCO VERINO (3)  
VIRGINIA E. GRILLO (4)

*RESUMEN*

Los autores utilizan gallinas de raza Leghorn Blanca de 30 semanas de edad, en condiciones homogéneas de temperatura, humedad y fotoperíodo (14 hs. luz y 10 hs. oscuridad). Se analizan las distintas variables en 2 lotes: animales tratados con sulfametazina y sulfametazina más agregado de ácido ascórbico a la dieta detallándose los procedimientos. Los resultados indican que el efecto benéfico del ácido ascórbico no es tan importante como para justificar su incorporación en este tipo de tratamiento.

*INFLUENCE OF ASCORBIC ACID ON THE CALCIFICATION AND PHYSICS  
QUALITIES OF THE EGG SHELL IN HENS WITH  
SULFAMETAZINE TREATMENT.*

*SUMMARY*

The authors used White Leghorn hens of 30 week old under control conditions of temperature, humidity and photoperiod (14 hs light - 10 hs to 0). Different variables were studied in two groups; one were animals treated with sulfametazine and other with sulfametazine plus ascorbic acid included in the feed. Procedures are described and results shows that the benefic effect of ascorbic acid were not so important to consider its inclusion on similar treatments.

- 
- (1) Profesor Titular de la Cátedra de Zootecnia 3 (aves y pilíferos), Fac. C. Vet. de La Plata.
  - (2) Profesor Titular de la Cátedra de Histología y Embriología de la Fac. C. Vet. de La Plata.
  - (3) Doctor en Ciencias Veterinarias (Investigador).
  - (4) Jefe de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Zootecnia 3 (aves y pilíferos), Fac. C. Vet. de La Plata.

## INTRODUCCION

En la primera parte de nuestra investigación: "ACCION DE LA SULFAMETOTERAPIA SOBRE LA POSTURA, TEXTURA Y ESPESOR DE LA CASCARA, FERTILIDAD E INCUBABILIDAD DEL HUEVO DE GALLINA", se detallaron las técnicas y resultados obtenidos en las experiencias realizadas tendientes a comprobar el grado de toxicidad de los compuestos farmacológicos que poseen como grupo básico al núcleo para-aminobenceno-sulfamida: sulfametazina; sulfaquinoxalina; sulfacolorpiracina y sulfadimetoxina. Para ello se usaron como parámetros: la intensidad de postura y las cualidades físicas del huevo (peso del huevo, resistencia a la fractura, peso y espesor de la cáscara. En base a los resultados obtenidos se concluyó que, la sulfametazina fue la droga de efectos más tóxicos.

La enorme pérdida económica que en la práctica significa la administración de sulfas en las gallinas en postura por la disminución en el espesor y resistencia de la cáscara, justifica que se intente toda posibilidad de corregirlo.

Es un hecho bien conocido que las aves sintetizan su propio ácido ascórbico en cantidades suficientes para satisfacer sus propias necesidades. Del mismo modo, no podemos ignorar tampoco —por las pruebas concluyentes que existen al respecto— (16 y otros) que frente a fenómenos de stress como puede ocurrir en

casos de altas temperaturas —tal es el caso del verano—; frente a enfermedades infecciosas; alimentación desbalanceada; crecimiento muy rápido; administración de antibióticos, etc. las aves sufren sus efectos de un modo muy marcado. Al parecer ellos son debidos, sea a una disminución en la síntesis de Vitamina C, o bien a una mayor exigencia en el consumo por parte del organismo. En todos estos casos ese déficit es contrarrestado con el agregado de Vitamina C al alimento.

Simultáneamente con las grandes variaciones que sufre el tenor de ácido ascórbico en la sangre, numerosos autores (4) han demostrado que el nivel de calcio en sangre es también sumamente fluctuante. Conrad ha constatado que la calcemia baja también en relación con el aumento de la temperatura, ocasionando una disminución en el espesor y fragilidad de la cáscara. Estos hechos postulan la hipótesis de que existe una estrecha relación entre los metabolismos del calcio y del ácido ascórbico en el organismo. Por otra parte no debe extrañar tal comportamiento, desde que conocemos perfectamente la decidida incidencia que la presencia del ácido ascórbico tiene en los procesos de calcificación.

Basados en los numerosos estudios realizados sobre el efecto benéfico que posee el ácido ascórbico (vitamina C) en la calidad del huevo, especialmente en lo re-

ferente a la calidad de la cáscara (7) hemos creído necesario indagar en esta parte de nuestras experiencias, la posible acción benéfica de dicha vitamina en la calidad del huevo de aquellos animales tratados con sulfas, por cierto tan deteriorada.

En las presentes investigaciones comparamos los parámetros físicos: intensidad de postura, peso del huevo, peso de la cáscara y resistencia a la fractura en relación a la calcemia.

### MATERIAL Y METODOS

La población de análisis estuvo constituida por 2 grupos (A y B) de 10 gallinas cada uno pertenecientes a la estirpe Leghorn blanca de 30 semanas de edad, alojadas en jaulas bajo condiciones homogéneas de temperatura (21°C de máxima y 12°C de mínima), humedad y un fotoperíodo de 14 horas luz y 10 horas de oscuridad. Se las alimentó con una ración convencional en harina para ponedoras y con un consumo de agua a voluntad.

La experiencia se llevó a cabo en 2 etapas:

#### 1<sup>o</sup> Etapa

Se controló a cada grupo A y B durante una semana en las siguientes variables: I.P.; P.H.; R.F.; P.C.; E.C. y Ca sanguíneo. Los resultados obtenidos constituyeron lo que se denominó como Grupo Control o Pre-tratamiento como lo indica la TABLA Nro. 1.

#### 2<sup>o</sup> Etapa

Al primer grupo (A) se le administró en el agua de bebida sulfamotazina sódica al 0,2 0/0 durante 5 días. Al segundo grupo (B) se le administró sulfameta-zina en la misma forma y cantidad

que al anterior, suplementándose además la ración con Ascorbato de Sodio a razón de 40 mg. x kg. de alimento durante 5 días consecutivos. En esta etapa y en ambos grupos se controlaron diariamente las variables antes mencionadas según lo indica la TABLA Nro. 1.

#### *Variables en estudio*

Se tuvieron en cuenta las siguientes variables:

#### *Intensidad de postura*

Se recogieron diariamente los huevos de los animales en estudio durante las 2 etapas de la prueba, consignándose los respectivos promedios como intensidad de postura (I.P.).

#### *Peso del huevo (P.H.)*

Se determinó sobre los huevos estacionados durante 24 horas en óptimas condiciones de temperatura y humedad mediante pesada con balanza de precisión (diez milésimo de gramo). El pesaje fue realizado en forma individual y los datos consignados representan el promedio de cada uno de los grupos (A y B) y en cada una de las etapas (1<sup>o</sup> y 2<sup>o</sup>).

### *Resistencia de la cáscara a la fractura (R.F.).*

Se constató midiendo la presión ejercida sobre el ecuador del huevo en el momento de su ruptura (expresada en kilogramos por  $\text{mm}^2$ ) mediante una prensa mecánica cuyo punto de apoyo es puntual y accionada por el desplazamiento de esferas metálicas superpuestas hasta lograr su fractura.

### *Peso de la cáscara (P.C.).*

Las cáscaras fueron extraídas luego de 24 horas de estacionamiento del huevo. Previo lavado con agua destilada para arrastrar la albúmina y evitar errores se secaron en estufa a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas, pesándose luego con balanza de precisión. Para la consignación de los datos obtenidos se sacaron los promedios en igual forma que en las variables anteriores.

### *Espesor de la cáscara (E.C.).*

Para determinar esta variable se utilizó un calibre de comparación de espesores sensible al 0,01 mm. La técnica consistió en extraer 5 pequeños trozos de cáscara de la región del ecuador, de cuyas sumas fueron obtenidos los promedios y expresados en micras. Los datos se consignaron en la misma forma que para las otras variables.

### *Calcemia (Ca. S.)*

Dada las grandes variaciones que fisiológicamente presenta el tenor de Ca en sangre, no solamente durante la calcificación del huevo, sino también con respecto a las distintas horas del día, en nuestras experiencias hemos optado por observar cuida-

dosamente el momento adecuado, extrayéndose la sangre inmediatamente de la oviposición.

La sangre se extrajo de la vena cubital del ala cada 24 horas (heparinizada) utilizando agujas de platino 15/15 de bisel corto para evitar hemorragias. Las muestras se centrifugaron en tubos de hemólisis altos para separar el plasma conservándolo en heladera a  $5^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su determinación. Todo el material utilizado para este procesado fue previamente heparinizado.

La valoración del Ca se efectuó por el método complexométrico de Galimberti modificado ligeramente por nosotros. Por razones de necesidad ya que la obtención de sangre diaria de la gallina resulta dificultosa dosamos el Ca en plasma y no en suero como lo indica el autor. El resultado se expresa en mg. Ca  $^{\circ}/\text{o}$ .

### *Dosaje de Ca en cáscara (Ca. C)*

Para la determinación de Ca en cáscara nos hemos visto obligados a utilizar una combinación de técnicas de dosaje de Ca en otros líquidos (6) y el de Galimberti (5), adaptados por nosotros de acuerdo a las necesidades. Con el fin de lograr una mineralización de la cáscara se siguió el método de Guillaumin utilizando la mezcla perclórica hasta su completa calcinación partiendo de 1 gr. de cáscara exactamente pesado. Obtenidas las cenizas se diluyeron primeramente al 1/10 con 9 ml. de agua destilada y 1 ml. de la solución 1/10 se colocó en matraz aforado de 50 ml agregándose agua destilada hasta el enrase. Sobre 0,5 ml. de esta última dilución se determinó el Ca por el método de Ga-



limberti utilizado anteriormente para plasma. La sol. de EDTA se empleó al 0,001 M en lugar de 0,005 M que utiliza el autor.

#### *Cálculo*

Multiplicando los ml. de EDTA gastados x 0,040 x 2 x 500 y por el peso de la cáscara se tiene — grs. Ca en la cáscara estudiada.

### RESULTADOS

Los resultados promedios obtenidos en las diferentes variables que se han analizado se hallan resumidos en las tablas 1 y 2.

En la 1<sup>o</sup> etapa o de pre-tratamiento, tal como puede apreciarse en la tabla Nro. 1, las distintas variables (I.P.; P.H.; R.F.; P.C.; E.C.; Ca. C) muestran ya diferencias en ambos grupos (A y B) que se consideran inherentes a factores individuales debido a que los lotes de animales fueron seleccionados al azar.

En la 2<sup>o</sup> etapa (c-t), en los animales tratados exclusivamente con sulfametazina las variables estudiadas sufrieron una disminución en relación a los resultados obtenidos en la primera etapa (s-t). (Ver tablas 1 y 2).

En esta misma etapa, con tratamiento de sulfametazina más

el agregado de ácido ascórbico, las variables I.P. y R.F. aumentaron con relación a los resultados obtenidos en los animales del mismo grupo en el pretratamiento. Las otras variables, por el contrario, disminuyeron pero sin alcanzar un valor estadísticamente significativo. No obstante, se puede observar una mejoría en el grupo que recibió ácido ascórbico con la dieta y tratado con sulfametazina, en relación al que se le administró exclusivamente sulfametazina.

Otro valor que llamó la atención es la caída de la calcemia en ambos grupos (sulfametazina y sulfametazina más ácido ascórbico) siendo levemente menor la disminución en el grupo que recibió ácido ascórbico. (Ver tablas 1 y 2).

### CONCLUSIONES

De estos resultados, consideramos que el agregado de ácido ascórbico a la dieta no demuestra tener un efecto tan beneficioso en

los animales sometidos a la sulfamidoterapia que justifique su incorporación en este tipo de tratamiento.

TABLA Nro. 1

2da ETAPA (Tratamiento) \*\*

1a ETAPA (Pre—Tratamiento o control)\*

VARIABLES	Grupo A	Grupo B	o/o	Diferencias	Grupo A	Grupo B	o/o	Diferencias
I.P.	5,9	5,5	6,7	A B: 0,4	5,1	5,8	12	B > A: 0,7
P.H.	56,3937 grs.	58,0472 grs.	2,8	B A: 1,6535 grs.	56,0771 grs.	57,8381 grs.	3	B > A: 1,7610
R.F.	3,215	3,337	3,65	B A: 0,122	3,093	3,508	11,8	B > A: 0,415
E.C.	348 u	358 u	2,7	B A: 10	335 u	348 u	2	B > A: 7
Ca. S.	25	26	0	—	15	17	11,7	B > A: 2,01
Ca. C.	1,8786	1,9310	7,71	B A: 0,0524	1,6961	1,7873	0,51	B > A: 0,091

## REFERENCIAS:

- I.P.: Intensidad de postura.  
P.H.: Peso del huevo (expresado en grs.)  
R.F.: Resistencia a la fractura (expresada en grs/mm<sup>2</sup>)  
P.C.: Peso de la cáscara (expresado en grs.)  
E.C.: Espesor de la cáscara (expresado en u micras)  
Ca. S.: Calcio en sangre (expresado en mgs./100 ml)  
Ca. C.: Calcio en cáscara (expresado en grs.)

## LOS RESULTADOS ANOTADOS REPRESENTAN LOS PROMEDIOS EN TODAS LAS VARIABLES

\* 1a ETAPA o Pre—Tratamiento: sin tratamiento alguno.

\*\* 2da ETAPA o Tratamiento:

Grupo A: animales tratados con sulfametazina.

Grupo B: animales tratados con sulfametazina y ácido ascórbico

TABLA No. 2

RESULTADOS PROMEDIOS COMPARATIVOS ENTRE LOS GRUPOS A Y B ENTRE SI

1a ETAPA		2da ETAPA		1a ETAPA		2da ETAPA	
Grupo A (Pre. T)*	Grupo A (T)** o/o	Diferencias	Grupo B(Pre. T) *	Grupo B (T) ** o/o	Diferencias		
I.P. 5,9	5,1	13,5 s/t>c/t: 0,8	5,5	5,8	5,17 c/t>s/t: 0,3		
P.H. 56,3937 grs.	56,0771 grs.	0,56 s/t>c/t: 0,3166	58,0472	57,8381	0,36 s/t>c/t: 0,2091		
R.F. 3,215	3,093	5,03 s/t>c/t: 0,122	3,337	3,508	4,87 c/t>s/t: 0,171		
P.C. 5,0252	4,7143	6,18 s/t>c/t: 0,3109	5,3876	5,1774	3,90 s/t>c/t: 0,2102		
E.C. 348 u	335 u	3,73 s/t>c/t:13	358 u	348 u	2,79 s/t>c/t:10		
Ca.S. 25	15	40 s/t>c/t:10	25	17	32 s/t>c/t: 8		
Ca.S. 1,8786	1,6961	9,71 s/t>c/t:01825	1,9310	1,7873	7,44 s/t>c/t: 0,1437		

REFERENCIAS:

- I.P. Intensidad de postura.
- P.H. Peso del huevo (expresado en grs.)
- R.F. Resistencia a la fractura (expresada en kg/mm<sup>2</sup>).
- P.C. Peso de la cáscara (expresado en grs.)
- E.C. Espesor de la cáscara (expresado en u micras).
- Ca.S. Calcio en sangre (expresado en mgs./100 ml).
- Ca.C. Calcio en cáscara (expresado en grs.)

LOS RESULTADOS ANOTADOS REPRESENTAN LOS PROMEDIOS EN TODAS LAS VARIABLES

\* 1a ETAPA o Pre-Tratamiento: sin tratamiento alguno.  
 \*\* 2da ETAPA o Tratamiento: Grupo A: animales tratados con sulfametazina.  
 Grupo B: animales tratados con sulfametazina y ácido ascórbico.

## AGRADECIMIENTO:

Los autores agradecen muy especialmente a los Dres. Celani—Barry, Rafael, Sarmiento Malaquías, F y Sra. Pilar G. de Hedo su valiosa colaboración, al igual que a las firmas comerciales I.N.S.A. CARGILL S.R.L. y ARBOR ACRES que han proporcionado el alimento y los animales respectivamente sin cargo.

Para realizar este trabajo se contó con un subsidio acordado por C.A.F.P.T.A. a la profesora Dra. Eusebia Angulo.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 BOUSHY, A.R.; SIMONS, P.C.M., WIERTZ, E. "Structure and ultra-Structure of the hen's Egg Shell as Influenced by Environmental Temperature, Humidity and Vitamin C addition". *Poultry Sci*, 47 (2): 456; 1968.
- 2 CARTE, H. "The hen's egg affecting the shearing strength of shell material". *Brit. Poultry Sci* 11: 433; 1970.
- 3 CELANI—BARRY, Rafael. Comunicación personal. 1977.
- 4 CONRAD, R.M. "The effect of hig temperature on the blood calcium of the laying hen". *Poultry Sci* 18: 327; 1939.
- 5 GALIMBERTI, B. *Rev. Asoc. Bioq. Arg.* 263; 1965.
- 6 GUILLAUMIN, Ch. O. *Bioquímica Analítica Cuantitativa*. Marenzi A. D. y otros. pág. 730. Ed. 1947.
- 7 HUNT J.R. AITKEN, J.R. "Studies on the influence of Ascorbic Acid on Shell Quality". *Poultry Sci* 41 (1): 219; 1962.
- 8 ROCHE—VITAMINAS. "Importancia de la Vitamina C. en la nutrición de las aves de corral". *Separata*.
- 9 ROE, J.H. and KUETHER C.A. "The determination of Ascorbic Acid in whole blood and urine through the 2—4 dinitrophenol—hydrazine derivative of dehydroascorbic acid. *J. Biol. Chem.* 147: 309; 1943.
- 10 SCOTT, H.E. and IUNHEN J. "Effect of feeding Sulphamides to the laying fowl" *Poultry Sci* 23 (3): 446; 1944.
- 11 THORTON P.A. and MORENG, R.E. "The efecce of Ascorbic Acid on Egg Quality Factors". *Poultry Sci* 37 (3): 691; 1958.
- 12 THORTON P.A. and MORENG, R.E. "Fhurder Evidence on the value of Ascorbic Acid for maintenance of shell quality in warm enviromental temperature" *Poultry Sci* 38: 594; 1959.
- 13 THORTON, P.A. and DEEB, S.S. "The influence of Thyroid Regulators on Blodd Ascorbic Acid levels in the chicken". *Poultry Sci* 40 (4): 1063; 1961.
- 14 THORTON, P.A. "The influence of dietary protein levelon the response of S.C. White Leghorn to suplementary Ascorbic Acid". *Poultry Sci* 39 (5): 1072; 1960.
- 15 VINCENT, C. M. and Smith A. H. "Changes in Plasma Calcium Concentration During Egg Formation". *Poultry Sci* 37 (3): 509; 1958.
- 16 WARREN, D.C. and SCHNEPEL, R.L. "The effect of air temperatures on egg shell thickness in the fowl". *Poultry Sci* 19: 246; 1940.