



Universidad Nacional de la Plata



Tesis:

Desarrollo de huevo fortificado con selenio y ácidos grasos omega Ω 3.

Hernan Ignacio Schneider

Veterinario.

Director: MV. MS. Gabriel Mallo

La Plata, Buenos Aires, 2015

Agradecimientos:

- A mi esposa e hijos
- GRUPOCEM a través de Agroservicios Humboldt S.A. (Avigan) y Granjas Carnave S.A.
- M.V. Miguel Muller, Titular de la cátedra producción de aves, Facultad de Ciencias Veterinaria, Univ. Nacional del Litoral, Esperanza.
- Ing. Agr. Mariano Batalle, a través de Alltech Argentina y la Universidad Nacional de Lujan.
- Sr. Carlos Ordogsti a través de DSM Argentina.
- Sr. Jose Carlos Muller, Jefe planta producción Agroservicios Humboldt s.a.
- M.V. Gabriel Mallo. Departamento de Tecnología, Universidad Nacional de Lujan.
- Dr. Alejandro Relling, Director de la Especialización en Nutrición Animal, UNLP.
- M.V. Ayelen Chiarle, Especialización en Nutrición Animal, UNLP.

Índice

	Pag
1. Resumen.....	5
2. Introducción.....	6
a. Definición huevo fresco.....	7
b. Estructura interna.....	8
c. Composición química.....	9
d. Definición huevos funcionales.....	10
e. Definición huevos fortificado.....	10
f. Clasificación ácidos grasos.....	10
g. Beneficios sobre salud humana de los ácidos grasos omega $\Omega 3 - \Omega 6$	11
h. Metabolismo lipídico	13
i. Oxidación lipídica.....	15
j. Fuentes de ácidos grasos omega $\Omega 3$	15
k. Beneficios sobre salud humana del selenio.....	16
l. Selenoproteínas y funciones biológicas del selenio.....	16
m. Origen y fuentes de selenio.....	17
n. Formas químicas.....	17
o. Metabolismo del selenio.....	18
3. Hipótesis.....	22
4. Objetivos.....	23
a. Objetivo específico.....	23
5. Materiales y métodos.....	24

6. Resultados de las pruebas preliminares.....	38
7. Materiales y métodos de la experiencia de validación.....	48
8. Resultados de la experiencia de validación.....	52
9. Conclusiones	59
10. Bibliografía	61

Resumen

Modificando la dieta de las aves de postura podemos concentrar nutrientes en huevos generando productos funcionales que ayuden a una alimentación más saludable para la humanidad. El objetivo de este trabajo es desarrollar un producto diferencial, huevos fortificados con ácidos grasos omega 3 y selenio orgánico, mediante la demostración práctica comercial y en un esquema de validación de caso tratado versus caso control repetible en el tiempo que permita la certificación de origen. Las evaluaciones se realizaron con dos lotes de gallinas ponedoras en situación de campo comercial ubicadas en galpones convencionales dentro de la dinámica normal de trabajo del establecimiento. Se simularon dietas isonutricionales con ingredientes alternativos como fuente de ácidos grasos de acuerdo su matriz nutricional y a su precio relativo. Se realizaron 3 ensayos preliminares para definir la inclusión de ingredientes evaluando el producto final obtenido. A posteriori se realizó la validación de los resultados preliminares. Para ello, se evaluaron dos dietas en gallinas de 29 semanas de vida de la línea Lohmann Brown formuladas en base a las materias primas seleccionadas siguiendo las indicaciones del manual de la línea genética. Como control, tratamiento 1, se utilizó una dieta comercial estándar y al tratamiento 2, dieta fortificada, se formuló con adición de 2,5 % de aceite de lino y 0,37 ppm de selenio orgánico. Se realizaron controles seriados del producto obtenido a partir de los 21, 50 Y 90 días de iniciada la alimentación experimental. La suplementación generó un aumento en los valores de ácidos grasos omega n- 3, con incrementos para el ácido alfa linolénico de 1,27 % a 5,4 % y de DHA (Docosahexanoico) de 0,99 % a 1,63 %. El EPA (Docosapentaenoico) aumento pero en poca cuantía. Los valores de selenio total en huevo casi se duplicaron, aumentando de concentraciones de 1,6 mg/kg a 3 mg/kg. Los parámetros productivos tanto de % postura, mortandad, consumo no se vieron aparentemente afectados con estos niveles de inclusión (aceite de lino y selenio metionina). Se podría inferir que las futuras evaluaciones de producto sean aprobadas en auditorías internas y externas de calidad diferenciada.

Palabras claves: huevo fortificado, ácido alfa linolénico, selenio, omega 3.

INTRODUCCIÓN

Introducción

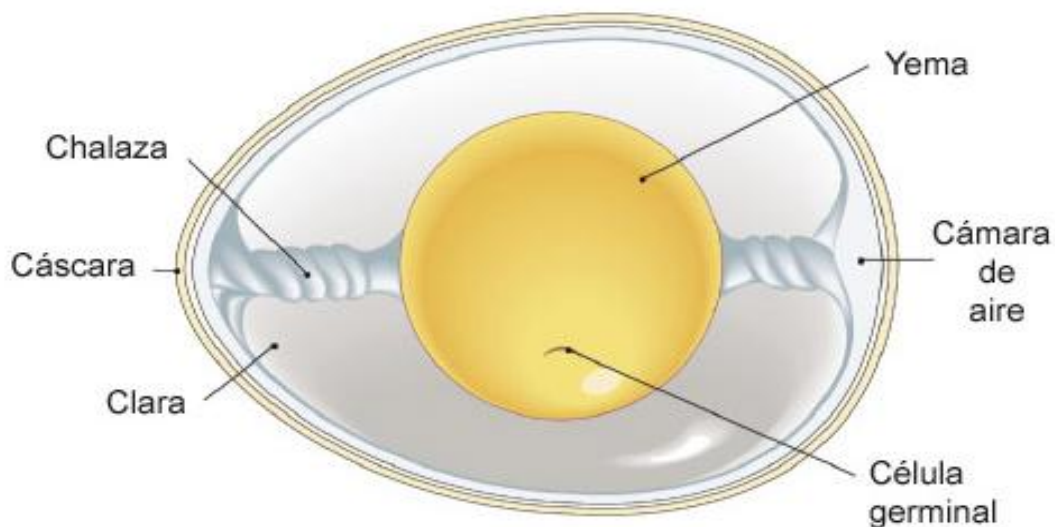
Durante la última década ha surgido un aumento en el interés de los consumidores en búsqueda de mejorar su calidad de vida a través de una nutrición más saludable. Uno de estos intereses son los alimentos funcionales, tanto fortificados como enriquecidos, pudiendo ser uno de ellos los huevos de mesa fortificados con ácidos grasos esenciales y/o selenio.

Huevo Fresco:

Se entiende por huevo fresco al que no ha sido sometido a ningún procedimiento de conservación, con excepción de la climatización del ambiente a temperatura entre 8 y 15 grados centígrados y humedad relativa comprendida entre 70 y 90 por ciento, y libre de olores y sabores extraños. El huevo perderá su condición de fresco si ha sido sometido intencionalmente a temperaturas inferiores a los 8 grados centígrados. (C.A.A .1988).

Estructura interna

Figura 1 - Estructura interna del huevo



Fuente: Sayar 2012

Composición química

Tabla 1: Composición química del huevo entero y sus componentes.

	Huevo entero	Clara	Yema
Calorias (Kcal)	72	17	55
Proteínas (g)	6.3	3.6	2.7
Carbohidratos (g)	0.36	0.24	0.61
Grasas tot. (g)	4.8	0.06	4.5
Grasas monoinsaturadas (g)	1.8	0	2
Grasas Poliinsaturadas (g)	1	0	0.72
Grasas Saturadas (g)	1.6	0	1.6
Grasas Trans (g)	0.02	0	0.02
Colesterol (mg)	186	0	184
Colina (mg)	126	0.4	116
Riboflavina (mg)	0.2	0.15	0.09
Vitamina B 12 (mcg)	0.45	0.03	0.33
Folatos (mcg)	24	1	25
Vitamina D (IU)	41	0	37
Vitamina A (IU)	270	0	245
Vitamina B 6 (mg)	0.09	0	0.06
Tiamina (mg)	0.02	0	0.03
Vitamina E (mg)	0.5	0	0.44
Selenio (mcg)	15.4	6.6	9.5
Fósforo (mg)	99	5	66
Hierro (mg)	0.88	0.03	0.46
Zinc (mg)	0.65	0.01	0.39
Calcio (mg)	28	2	22
Sodio (mg)	71	55	8
Potasio (mg)	69	54	19
Magnesio (mg)	6	4	1

Fuente: United States Department of Agriculture

Definición huevos funcionales:

Para ser considerado funcional, el alimento debe cumplir con las siguientes condiciones:

- Que se le haya añadido un componente beneficioso, con un efecto terapéutico probado.
- Que se le haya potenciado algún ingrediente para hacerlo más saludable.
- Que se le haya quitado total o parcialmente algún elemento nocivo o tóxico.

Definición alimento fortificado:

Se entiende por alimentos fortificados aquellos alimentos en los cuales la proporción de proteínas y/o aminoácidos y/o vitaminas y/o sustancias minerales y/o ácidos grasos esenciales es superior a la del contenido natural medio del alimento corriente, por haber sido suplementado significativamente. (Artículo 1363 – (resolución conjunta SPyRS y SAGPyA número 118/2008 y número 474/2008)).

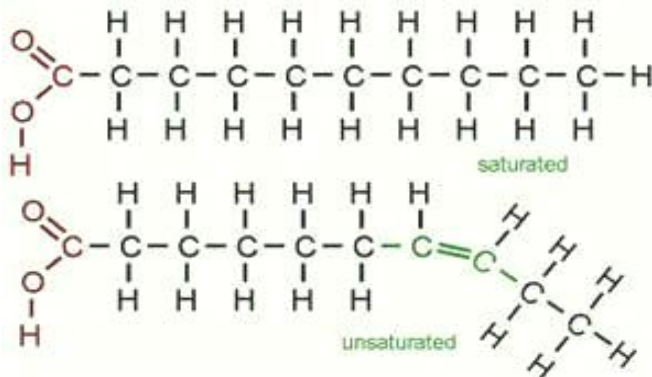
Clasificación ácidos grasos:

La clasificación clásica tradicional de los ácidos grasos se realiza en función de su composición química. Así pues, los podemos dividir en:

- A. Saturados: no contienen dobles enlaces
- B. Monoinsaturados: contiene un doble enlace.
- C. Poli insaturados: contienen 2 o más dobles enlaces.
 - a. Poli insaturados de cadena larga: contienen 20 o más carbonos en la cadena carbonada y 3 o más dobles enlaces.
 - b. Poli insaturados de cadena media: contienen 18 carbonos en la cadena carbonada y 2 o más dobles enlaces

Fuente: Jesse Trushenski 2013

Figura 2: Clasificación de los Ácidos Grasos de acuerdo al tipo de unión de los carbonos.



Fuente: Jesse Trushenski 2013

Figura 3: Clasificación de ácidos grasos de acuerdo a la posición de las dobles ligaduras entre carbonos (omega 3 y omega 6).

FIG. 1 OMEGA-3 AND OMEGA-6 FATTY ACIDS	
<p>HO-C(=O)-[CH₂]₇-CH=CH-CH₂-CH=CH-CH₂-CH=CH-CH₃ (Methyl end)</p>	Alpha-linolenic acid (ALA, C18:3, omega-3)
<p>HO-C(=O)-[CH₂]₅-CH=CH-CH₂-CH=CH-CH₂-CH=CH-CH₂-CH=CH-CH₃ (Methyl end)</p>	Eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5, omega-3)
<p>HO-C(=O)-[CH₂]₃-CH=CH-CH₂-CH=CH-CH₂-CH=CH-CH₂-CH=CH-CH₂-CH=CH-CH₃ (Methyl end)</p>	Docosahexaenoic acid (DHA, C22:6, omega-3)
<p>HO-C(=O)-[CH₂]₇-CH=CH-CH₂-CH=CH-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃ (Methyl end)</p>	Linoleic acid (LA, C18:2, omega-6)
<p>HO-C(=O)-[CH₂]₄-CH=CH-CH₂-CH=CH-CH₂-CH=CH-CH₂-CH=CH-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃ (Methyl end)</p>	Arachidonic acid (AA, C20:4, omega-6)

Fuente: Jesse Trushenski 2013

Beneficios sobre la salud humana de los ácidos omega ($\Omega 3$ y $\Omega 6$)

Las dietas occidentales contienen alta proporción de ácidos grasos $\Omega 6$ y, durante los últimos tiempos se ha revalorizado la relación entre los $\Omega 3$ y $\Omega 6$. Se ha probado que los ácidos grasos (AG) omega 3 están relacionados en el beneficio en la salud humana específicamente en enfermedades cardiovasculares (arritmias), carcinogénicas, en la visión, en la función y desarrollo cerebral en niños y adultos (inclusive desde la vida fetal), disminuye la depresión y la hipertensión, mejora la coagulación sanguínea, trombosis e inflamación (Simopoulos, 1999, 2000, Nelson y col., 2000, Valenzuela y Nieto 2001, Antruejo 2010). Por otro lado, los ácidos grasos $\Omega 6$ cumplen roles importantes a nivel tisular y metabólico. Influyen sobre la fluidez de las membranas celulares, funciones enzimáticas, receptores celulares, mediadores biológicos (prostaglandinas), transmisión de impulsos nerviosos, control de presión sanguínea, entre otros. Los ácidos $\Omega 6$ y $\Omega 3$ compiten por las mismas enzimas pero tienen diferentes roles biológicos e incluso opuestos por lo que su correcto balance es de suma importancia.

Actualmente se considera que el 45 % de los AG en las membranas sinápticas neuronales son AG esenciales. Además en el sistema nervioso central uno de cada tres AG es poli insaturado (Yehda y col. 1999, Bruinsma y Taren, 2000, Bourre y Galea, 2006).

Las recomendaciones de la FAO/OMS (1993) establecen que la relación dietaria ideal entre ácidos grasos saturados, ácidos mono insaturados y ácidos grasos poliinsaturados debería estar una proporción 33-33-33 respectivamente. Inclusive la relación dentro de los ácidos poli insaturados $\Omega 6$ - $\Omega 3$ debería estar en una relación 5:1 a 10:1.

Tanto los omega 6 como los omega 3 son considerados ácidos grasos esenciales en tanto que el araquidónico se lo considera semi esencial (Debido a que se genera a partir de del omega $\Omega 6$ (Antruejo, 2010).

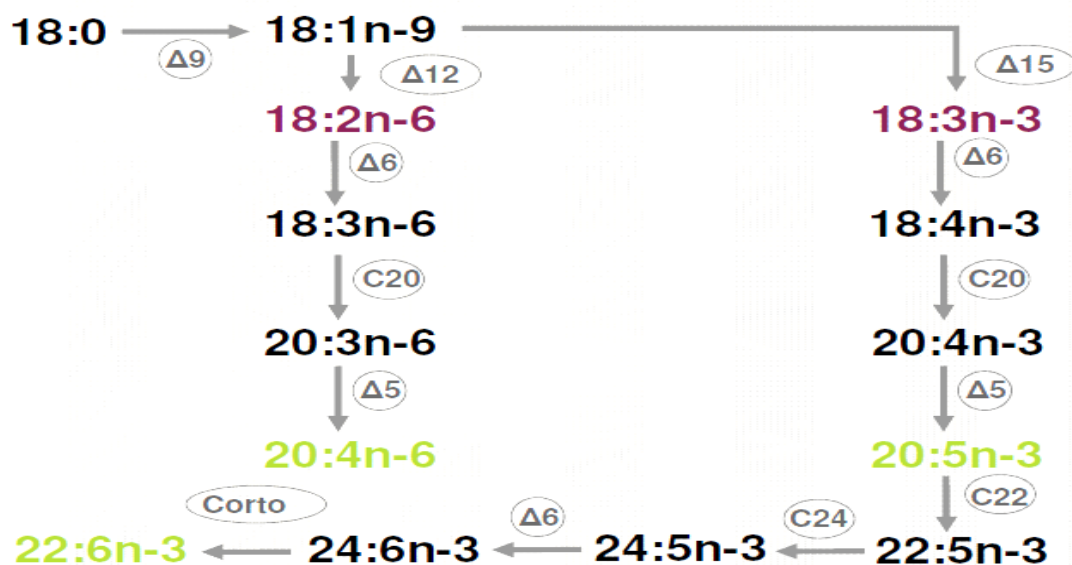
Los ácidos grasos omega $\Omega 6$ (linoleico) y omega n 3 (linolénico) se consideran los compuestos progenitores de la familia entera de otros AGE $\Omega 3$ y $\Omega 6$ de importantes funciones en la función normal tisular. El ácido eicosapentanoico (EPA) y el decosahexaenoico (DHA) pueden formarse a partir de ácido alfa linolénico (ALA) (Anturejo, 2010).

Por lo tanto a través de la nutrición en aves de postura podemos generar productos diferenciados en AGE que ayuden a la regulación de la relación $\Omega 6$: $\Omega 3$ mediante el aporte de mayores niveles de omega 3.

Metabolismo lipídico

Los animales pueden elongar al carboxilo final de los AGE progenitores $\Omega 6$ y $\Omega 3$ pero no al omega (Ω). Así, no pueden sintetizar AG linoleico ni linolénico de otros componentes de la dieta, denominándolos por esta causa dietéticamente esenciales (Antruejo, 2010). En la figura 4 podemos observar las vías metabólicas implicadas en la elongación de las cadenas carbonadas de los ácidos grasos.

Figura 4: metabolismo Lipídico



Fuente: Jesse Trushenski 2013

Las aves depositan 6 gramos aproximadamente de ácidos grasos a través de la yema durante el periodo de máxima producción (Antruejo, 2010, Mine y Kovacs-Nolan, 2004) Las aves pueden sintetizar AG hasta 18 carbonos e introducir dobles enlaces en posición 7 y 9 por acción enzimática (9 desaturasa), pero no pueden insertar dobles enlaces entre el carbono 9 y el grupo metilo terminal, por dicha razón deben incorporar AGE (Enser, 1994).

Los lípidos de la yema, no son sintetizados por el ovario, sino que se movilizan desde el hígado. Una vez sintetizados, los triglicéridos son incorporados a lipoproteínas de baja densidad (proteínas de transporte) y llevadas hacia tejidos extra-hepáticos (Escribano, 1991). El ovario no está involucrado en el metabolismo de los AG, solo en la transferencia desde la sangre-plasma a la yema (Moran, 1996). Por lo tanto, si bien el porcentaje de los lípidos en huevo es constante

de acuerdo a línea genética y estatus fisiológico, la composición de lípidos en yema depende en gran parte de la dieta, pudiendo ser modificada a través de la alimentación (Mateos, 1991).

Los AGS de más de 14 átomos de carbono son depositados en la yema. Niveles elevados de AGS en la dieta modifican escasamente el perfil de AG en el huevo. Los AG de cadena corta (caprílico c8:0; cáprico c10:0; láurico c12:0) suministrados en la dieta son catabolizados o convertidos en AG de cadena más larga y no se depositan o lo hacen en muy baja porcentaje en el huevo (Sim y Bragg, 1978). El incremento de los AGPI en la dieta aumenta la proporción en la yema del huevo, siendo el proceso metabólico no bien conocido hasta ahora. La incorporación de aceites vegetales ricos en $\Omega 6$ o en $\Omega 3$ (ALA) genera un aumento en la concentración de ambos en la yema del huevo generando una disminución del oleico (Sell, 1968). Las variaciones en los contenidos de ácidos grasos de la yema no son uniformes entre los distintos tipos de grasa de la yema. Cuando hay un exceso de $\Omega 6$, se utiliza más enzimas para la conversión a ácido araquidónico y deja menos enzimas disponible para la conversión de ALA a EPA y DHA y viceversa cuando hay mucha ALA en la dieta. Esto es debido a que se utiliza en mismo sistema enzimático para los procesos de elongación y desaturación (Grobias y Mateos, 1996). La incorporación de AGPI de cadena larga en la dieta (c20-22) o de nivel sus precursores también se refleja en un aumento de los mismos en la yema del huevo. Sin embargo, el aumento de deposición de ácidos grasos de cadena larga $\Omega 3$ desde ALA (ácido alfa linolénico) es limitada en aves (Noble y Cocchi1990). El nivel dietario de ácidos grasos saturados y mono insaturados tienen menores efectos en el perfil de ácidos grasos siendo los ácidos poli-insaturados los que causan mayores cambios en el perfil de ácidos grasos en huevo. Por lo tanto, mayor proporción de $\Omega 6$ dietarios generara más araquidónico en huevo y mayor inclusión de ALA en el alimento generará mayores niveles de EPA y DHA (Jiang y col., 1991).

Los animales vertebrados tienen una baja eficiencia de transformación de ALA a EPA – DHA. Además no todos los $\Omega 3$ de la dieta son biológicamente equivalentes por ejemplo el EPA y DHA provenientes de la conversión de ALA son metabólicamente menos activos para humanos que cuando son incorporados directamente como EPA y DHA. Por lo tanto sería importante considerar no solo el total de AG de la familia $\Omega 3$ sino además los AG específicos (Gonzales-Esquerra y Leeson, 2001)

Se ha demostrado que una pequeña porción de EPA cuando se adiciona en la dieta, es retenido como tal, siendo la mayor parte convertido a DPA y DHA aunque con un menor eficiencia que cuando se adiciona DHA directamente desde el alimento (Cachaldora y col., 2007). Esto nos permite deducir que desde el punto de vista económico, la adición de EPA y DHA desde la dieta en baja dosis puede generar niveles aceptables de AG $\Omega 3$ en huevos para su enriquecimiento estimándose que la deposición de DHA presenta una eficacia aproximada del 42 a 55 % desde la dieta (Gonzales-Esquerra y Leeson, 2001).

Se ha observado que las gallinas a lo largo de su vida modifican la transferencia de ácidos grasos de la dieta al huevo depositando las aves menores de 35 semanas entre un 25 a 50 % menos AG $\Omega 3$ que aves de mayor edad (Gonzales-Esquerria y Leeson, 2001; Scheideler y col., 1998^a). La línea genética puede influenciar hasta un 30 % en mayor o menor cantidad la deposición de ácidos grasos alfa ácido linolénico (Lesbamich y Noble, 1997). Las aves depositan más DHA que EPA, debido a la conversión de EPA a DHA siendo la incorporación de AG $\Omega 3$ un proceso gradual llegando a su máxima concentración dentro de los 14 días desde el inicio de la alimentación con fuentes de omega $\Omega 3$ (Gonzales-esquerria y Leeson, 2001; Yu y Sim, 1987).

Oxidación lipídica

EPA, DHA y otros ácidos grasos pueden verse afectados en su función benéfica cuando la protección anti-oxidativa no es suficiente para minimizar el riesgo del daño oxidativo de los tejidos lipídicos. Por lo cual cuando aumentamos los AGPI en los huevos se incrementa el potencial de oxidación de los lípidos. Al aumentarse el potencial de oxidación de los lípidos puede generar el desarrollo de sabores y olores no deseables, pérdidas de AGPI y baja aceptación del consumidor. El rol de las moléculas antioxidantes juega un rol importante en el control de estas reacciones indeseables. La vitamina E presenta un rol importante en el huevo por su acción antioxidante en relación con los ácidos grasos omega 3, aunque algunos autores sugieren que no logra mejorar la calidad sensorial del huevo. La inclusión de vitamina E resulta en una significativa reducción de TBARS (sustancia reactiva ácido tiobarbitúrico) en la yema de los huevos. El contenido de vitamina E en el huevo se eleva en forma logarítmica con el nivel de vitamina E en la dieta. El riesgo de oxidación lipídica es mayor en huevos enriquecidos con ácidos grasos de cadena larga $\Omega 3$ que con huevos enriquecidos con ácido grasos alfa linolénico. (Gonzales y Esquerria y Leeson, 2001; Cachadora y col., 2007)

El selenio tiene un efecto protector o de ahorro de vitamina E, por lo cual la suplementación de selenio puede aumentar los niveles de vitamina E en la yema de los huevos (Surai, 2000).

Fuentes de ácidos grasos omega $\Omega 3$

Las plantas tanto terrestres como marinas son las únicas que producen AG $\Omega 6$ y AG $\Omega 3$. Las fuentes de EPA y DHA más ricas son los aceites de pescados, harina de pescado, moluscos, crustáceos, y algas. Los peces y otras formas de vida marina son fuentes ricas en AGPI especialmente EPA y DHA. Ellos obtienen sus AGPI $\Omega 3$ del fitoplancton. Las fuentes marinas ofrecen el beneficio de la incorporación directa de ácidos grasos poliinsaturados de cadena

larga en el huevo, las cuales son más importantes o activas metabólicamente que el ácido graso linolénico (ALA) en humanos (Antruejo, 2010)

Dentro de las materias primas más utilizadas de origen vegetal las de mayor concentración de ALA $\Omega 3$ son la chía (60 %) y el lino (53 %). Otras de menor concentración son la colza/canola (10 %), soja y nueces (Antruejo 2010; Fedna, 2015). Un resumen del aporte de ácidos grasos de diferentes aceites utilizados como ingredientes en aves se presenta en la tabla 2.

Tabla 2.- Perfil de ácidos grasos de aceites de diferentes orígenes

Perfil de ácidos grasos		Aceite de				
		Lino	Maíz	Soja	Colza canola	Chia
Palmítico	C _{16:0}	6	10.7	9.5	5	6.6
Esteárico	C _{18:0}	4.5	2.4	4	2.2	3
Oleico	C _{18:1}	19	26	22	57	5.3
Linoleico	C _{18:2}	16	56	54	20.5	19.7
Linolénico	C _{18:3}	54	1	7.3	9	64

Adaptado de Antruejo, 2010, Azcona 2011, Filli 2012 y Fundación Fedna, 2015

Beneficios sobre salud humana del selenio

Desde 1950, investigadores han encontrado evidencias de la importancia del selenio en la salud humana. El selenio, es un micro mineral (traza) el cual puede transferirse a los diferentes tejidos animales como ser carne, leche y huevos. El selenio presenta varios roles importantes en el organismo, relacionándose con el sistema antioxidante (glutatión peroxidasa), como catalizador en la producción de hormonas tiroideas, en el sistema inmunológico, actividad cardiaca, prevención de cáncer, principalmente de próstata y de fertilidad (motilidad espermática y reducción de aborto espontaneo) (Clark y col., 1998; Rayman, 2005; Farrell Fao). Incluso, Jaques en el año 2006 hace inferencias de la relación inversa entre la incidencia de HIV-sida y los países donde el suelo presenta alto contenido de selenio.

Se ha informado que entre el 30 al 80 % de selenio en el cuerpo se encuentra en forma de selenocisteína (Hawkes y col., 1985) actuando como una fuente de almacenamiento reversible de selenio en los tejidos y órganos (Lyons y Jacques, 2004). Las funciones biológicas de las selenio proteínas más importantes del organismo son según Lyons y Jacques (2004):

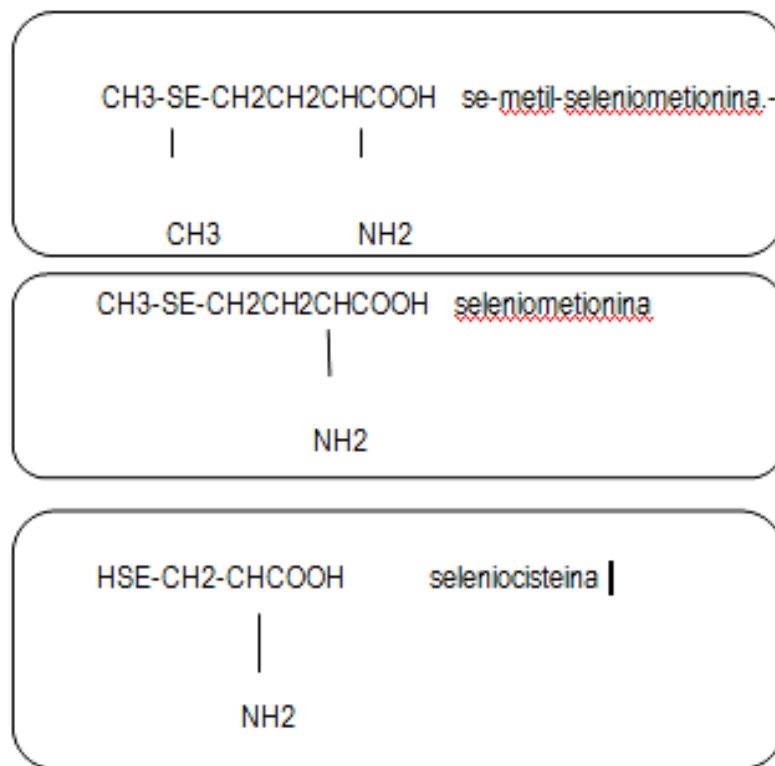
- *Yodotironina deiodinasas*: metabolismo Tiroide (enzima convertidora de tiroxina (t4) en la forma activa T3)
- *Glutación peroxidasa*s: Propiedades antioxidantes en todo el organismo
- *Selenio proteína P*: Proteína transportadora de selenio y funciones antioxidantes
- *Selenioproteína W*: Propiedades antioxidantes, presente en el musculo cardiaco y esquelético.
- *Selenioproteínas de la capsula espermática*: Componente principal de la capsula espermática
- *Tioredoxina reductasa*: Estructura Espermática - motilidad espermática, fertilidad (regula el potencial redox de los grupos bisulfuros expuestos).
- *Proteínas ligantes de selenio*: la función fisiológica de estas proteínas no es conocida actualmente.

Origen y fuentes de Selenio

EL contenido de selenio en los alimentos, varía considerablemente de acuerdo al nivel de este mineral traza en el suelo. El selenio se presenta desde la forma más reducida de selenuro (valencia -2) hasta estados oxidados de + 4 (selenito) o + 6 (selenato). Las formas de selenio utilizadas para alimentación humana y animal son estados de mayor oxidación del selenio mientras que los metabolitos de selenio presentes en las plantas contienen el selenio en su estado reducido (Lyons y Jacques 2004).

Las plantas absorben el selenio desde su forma inorgánica y lo transforman en una forma orgánica (Seleniometionina - selenocisteína). Algunas plantas y microorganismos tienen la capacidad de reemplazar un azufre en cistina o en metionina por selenio, produciendo selenocisteína, selenometionina, seleniometilmetionina. Estos pueden constituir entre el 50 al 80 % del total del selenio en plantas y granos (Olson y Palmer 1976, Hawks y col., 1985). Los animales no pueden sintetizar selenio metionina directamente desde formas de selenio inorgánico como informaron Cummings y Martin (1967) y Lyon y Jacques (2010). En la figura 5 podemos observar la estructura química de las principales selenio-aminoácidos.

Figura 5: Formas químicas de selenio-aminoácidos.



El selenio está frecuentemente asociado con azufre en compuestos orgánicos e inorgánicos, en algunos reemplazando azufre y en otros asociados con azufre por uniones covalentes (Leeson 2001). Dentro de las fuentes de selenio, podemos citar 2 fuentes, una orgánica (seleniocistina, selenio metionina, HMSEBA 2hydroxy4methylselenobutanoic acid) y otra inorgánica (selenito de sodio, selenato) (Lesson, 2001; JIali, 2013). En las aves hay una cantidad máxima de selenio que puede transmitirse de la dieta, pero la transferencia es eficiente a bajos niveles de inclusión. El huevo es un vehículo ideal para el selenio. Las fuentes comúnmente utilizadas como materias primas como ser cereales, harina de pescado, harinas de aves, harinas de carne, contienen selenio casi exclusivamente como componentes orgánicos (selenoaminoácidos) (Lyons y Jacques 2004).

Metabolismo del selenio

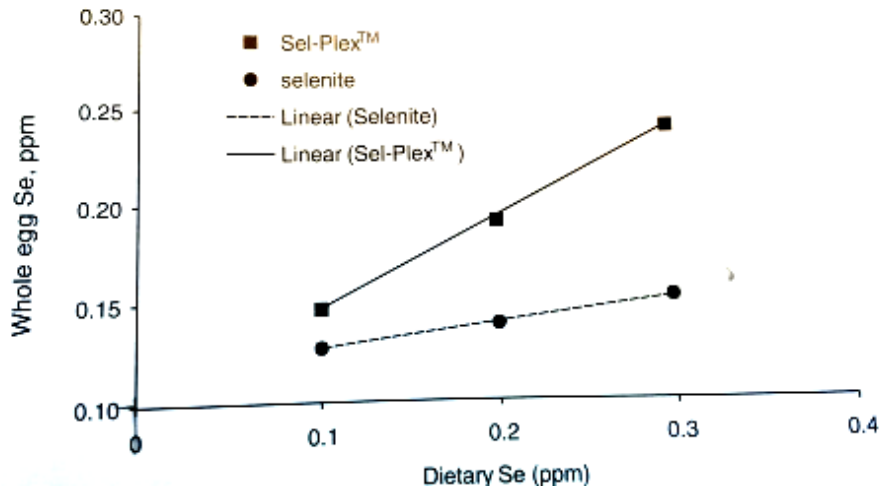
La absorción intestinal de selenio desde los ingredientes varía por especie y la biodisponibilidad varía según la sal ingerida. Las formas inorgánicas como el selenito de sodio se absorbe por difusión pasiva mientras que la formas orgánicas como la selenometionina se absorbe por transporte activo dependiente de sodio (Schrauzer 2001; Lyons y Jacques, 2010). La absorción de selenio puede verse afectada por la interacción con otros minerales como ser cobre o zinc. Las diferentes formas de selenio ingresan en la vía metabólica donde son convertidos en seleniuros (Leeson, 2001). La seleniometionina derivada de la dieta o por catabolismo proteico es convertida en selenocisteína vía trans-sulfuración. La selenio cisteína, derivada de la selenio metionina, la dieta o el catabolismo de selenoproteínas se convierte en seleniuros vía selenio cisteína-b-liasas. Por otro lado, el selenio inorgánico reacciona con glutatión para formar seleniuro. A partir de aquí el seleniuro toma diversos destinos. Las formas inorgánicas de selenio pueden conducir a la producción de selenocisteína, la cual es incorporada específicamente en selenoproteínas, pero no a la síntesis de selenometionina. Proteínas ligantes de selenio se encuentran en el plasma siendo la más importante la glutatión peroxidasa (Lyons y Jacques 2010). Otras proteína selenio ligante está presente en asociación con la fracción lipoproteica del plasma. El exceso de ingesta de selenio es metilado por esta proteína, el cual se realiza en 2 pasos. Por la conversión a selenuro de dimetilo y por su posterior conversión a trimetil selenio ion, el cual es soluble en agua y representa el producto de excreción normal cuando hay exceso de ingesta de selenio. Cuando el exceso de selenio supera la habilidad del cuerpo para convertir el selenio en trimetil selenio ion, este comienza a volatilizarse y es excretado por vía respiratoria generando un olor a ajo. El nivel tóxico de selenio se encuentra entre 10 a 20 ppm. Aproximadamente 100 veces mayor que los requerimientos nutricionales para selenio (Leeson 201; Hawkes y col., 1985).

El selenio es encontrado tanto en la yema como en la albumina y el sitio de depósito depende de la forma de selenio adicionado o presente a la dieta. Tanto el selenito de sodio como la selenocisteína se depositan con mayor cantidad en la yema. La selenio metionina se deposita en mayor cantidad en la albumina; esto podría explicar la mejor calidad de albumen en los huevos almacenados cuando se adiciona seleniometionina (Lyons y Jacques 2002).

La diferencia de las fuentes orgánicas y las fuentes inorgánicas para aumentar la concentración de selenio en el huevo dependería del uso de diferentes vías metabólicas. Las fuentes de selenio inorgánicas como el selenito o selenato en el alimento tienen una baja eficiencia de transferencia al huevo. Las fuentes orgánicas como el selenio metionina si presentan una alta transferencia al huevo. La eficiencia de selenio desde la concentración en la dieta al huevo presenta un rango entre 56 al 76,26 % dependiendo de la fuente de selenio orgánico si la

expresamos como el porcentaje de selenio de la dieta retenido en huevo (Lyons y Jacques 2002, Figura 6).

Figura 6: Contenido de selenio según aporte dietario y tipo de fuente.



Fuente: .- (Lyons y Jacques 2002)

Se ha demostrado que 0.4 mg/kg de selenio orgánico en las dietas generan un aumento significativo de selenio en el huevo.

Tabla 3: Selenio en huevo según contenido de selenio orgánico en la dieta

Se orgánico añadido al alimento balanceado (ppm)	Selenio por huevo (microgramos)
0	7.10
0.2	18.04
0.4	30.67
0.8	43.35

Fuente: adaptado de Surai (2000b)

Tabla 4: Efecto del suministro de selenio (0.3 ppm) sobre cantidad de selenio en huevo.-

	Sin selenio	Con selenio inorgánico (selenito de sodio)	Con selenio orgánico (levaduras)
Selenio en yema (mg/kg)	0.33 a	0.62 b	1.335 c

Adaptado de British Poultry Science, vol 49; 4 julio 2008; p.482-486

Las formas orgánicas provenientes de levaduras o HMseBa pueden ser direccionadas para la producción de selenometionina tanto como para selenocisteína. El HMseBA presenta una biodisponibilidad superior a las fuentes de selenio provenientes de levaduras, mostrando una diferencia de un 28 %. La molécula pura (99%) de HMseBa actúa como un precursor de selenometionina dando una mayor eficiencia en la incorporación dentro de las proteínas tanto en huevos como en músculo. Esto se debe a que las fuentes orgánicas de levaduras presenta entre un 54 % - 74 % solamente de selenio como selenometionina. Estudios complementario deben ser establecidos para aclarar vías metabólicas de HMseBA y como se incorpora en huevos y músculo (Jlali 2013).

La seleniometionina es incorporada a la proteína corporal en lugar de la metionina. La propiedad de la seleniometionina es que no se comparte con otros selenoaminoácidos, marcando una función fisiológica específica de la seleniometionina (Lyon and Jacques 2010).

El almacenamiento de formas de selenio orgánico como seleniometionina está en un estado no funcional. el selenio como selenometionina es mejor retenido que el selenio inorgánico, el último paso metabólico del selenio orgánico es la liberación de selenuro que ingresa en vías metabólicas para síntesis de selenocisteína, para incorporarse dentro de selenoproteínas funcionales. Por lo tanto en tiempos de stress oxidativo, las proteínas corporales son degradadas rápidamente, aportando selenio orgánico que puede ser usado para la síntesis de selenoproteínas específicas. (Lyons y Jacques 2010)

El selenito de sodio ha sido documentado con actividad pro oxidante. Este es debido a que tanto el selenito como el selenato pueden formar uniones trisulfuro (-s-se-s-), las cuales están sujetas a rápida oxidación y liberación de las proteínas. Las uniones trisulfuro no se forman con selenometionina. (Leeson 2001, Terrada 1999, Ilian y Whanger, 1989).

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis

Es posible desarrollar huevos de mesa fortificados con ácidos grasos omega $\Omega 3$ y selenio a partir de fuentes de aceites vegetales ricos en omega 3 y fuentes de selenio orgánico disponibles en la República Argentina,.

Objetivo

Desarrollar un huevo fortificado con omega $\Omega 3$ (ALA: ácido alfa linoleico) y selenio orgánico utilizando aceite vegetales y selenio orgánico en la dieta de gallinas ponedoras.

Objetivo específico

- Simular dietas para gallinas con diferentes fuentes de aceites vegetales ricos en $\Omega 3$.
- Evaluar alternativas para el fortalecimiento de huevo con selenio y su transferencia desde la dieta.
- Validar en situación productiva comercial la transferencia de omega $\Omega 3$ y selenio de las dietas al huevo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales y métodos

Se diseñó el siguiente cronograma de acciones:

1. Elección de ingredientes para la formulación de las dietas.
2. Evaluación de dietas suplementadas con diferentes niveles de $\Omega 3$ y selenio y comparación con lotes hermanos (control).
3. Validación con repeticiones en el tiempo de una dieta suplementada versus una control.

Elección de ingredientes como fuente de $\Omega 3$.

Para la elección de la fuente de omega3 se formuló con diferentes opciones de materias primas disponibles ponderadas por su precio en fórmulas típicas argentinas teniendo en cuenta el aporte de $\Omega 3$ y la relación $\Omega 3:\Omega 6$ de la fórmula final a mínimo costo. Adicionalmente a la evaluación de fuentes vegetales de $\Omega 3$ se formularon alternativas con aceite de pescado pero se descartaron por el posicionamiento del producto.

Se utilizó el programa Nutrition (DAPP). La base de datos de ingredientes se generó a partir de los resultados de laboratorio de control de calidad (química húmeda, análisis proximal). Para la estimación de la concentración de aminoácidos totales y digestibles se utilizaron ecuaciones de regresión en función de la concentración de proteína cruda de cada materia prima (Mallo, 2012). La energía del alimento (EMAn) se estimó por ecuaciones de predicción (Rostagno, 2011). Para el resto de los nutrientes (vitaminas y minerales) se utilizó una base de datos condensada de diferentes orígenes bibliográficos y analíticos. La matriz de aporte de ácidos grasos se generó con los datos de la Tabla 2 dado que coincidía con los valores mínimos garantizados por los proveedores de los aceites.

Se evaluó las alternativas de aceite de lino, semilla de lino, aceite de chía, aceite de canola. El aceite de pescado se formuló solo a manera comparativa para validar las matrices nutricionales.

En la tabla 5 se presenta la composición porcentual de la dietas formuladas con diferente origen de $\Omega 3$ y en la tabla 6 el respectivo aporte nutricional.

Tabla 5: Dietas formuladas para cubrir el perfil nutricional deseado con diferentes alternativas de ingredientes.

<i>Nombre</i>	<i>Raciones</i>				
	<i>Aceite de lino</i>	<i>Aceite de chia</i>	<i>Aceite de canola y chia</i>	<i>Aceite de pescado</i>	<i>Semilla de Lino</i>
Maíz	47.456	48.781	39.710	42.788	46.761
aceite de chía		2.051	1.591		
aceite de canola			3.932		
aceite de lino	2.667				
aceite de pescado				5.462	
Girasol Harina	14.394	13.607	15.931	15.885	9.654
Lino semilla					7.907
Harina de Carne	2.077	2.143	1.940	1.354	2.258
Conchilla	8.553	8.534	10.000	8.679	8.473
trigo afrechillo	10.000	9.184	10.000	10.000	9.759
Fosfato Bicalcico	0.000	0.000	0.000	0.174	0.000
Sal	0.302	0.302	0.422	0.310	0.292
Allzyme vegpro	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050
Selplex	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015
Biolis CEM	0.087	0.084	0.000	0.000	0.104
Colina liquida 75%	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035
Soja Expeller	7.950	10.817	0.000	0.000	13.899
Soja Harina 45%	5.973	3.953	15.970	14.832	0.338
núcleo vit-mineral	0.205	0.205	0.205	0.205	0.205
Fitasa	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010
Metionina	0.136	0.138	0.100	0.112	0.150
bicarbonato de sodio	0.089	0.089	0.089	0.089	0.089
	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
costos	€1,617.84	€5,866.58	€5,554.23	€2,807.52	€1,660.54

Tabla 6: Perfil Nutricional de las dietas formuladas para cubrir el perfil nutricional deseado con diferentes alternativas de ingredientes.

Perfil nutricional	<i>Aceite de lino</i>	<i>Aceite de chia</i>	<i>Aceite de canola y chia</i>	<i>Aceite de pescado</i>	<i>Semilla de Lino</i>
Materia Seca	89.5352	89.5635	89.8189	89.6041	89.6211
Proteína	16.6000	16.6000	17.8269	17.2338	16.7644
Lípidos	6.1733	5.8512	8.0357	8.0000	6.7261
Fibra Cruda	5.0000	4.9196	5.0000	5.0000	5.0000
Ceniza	12.7343	12.7040	14.4095	12.9239	12.7263
Calcio	3.9000	3.9000	4.4458	3.9000	3.9000
P total	0.5679	0.5636	0.5676	0.5686	0.5757
Sodio	0.1700	0.1700	0.2169	0.1700	0.1700
Potasio	0.7574	0.7642	0.7741	0.7574	0.7688
Lisina Dig Ave	0.6900	0.6900	0.7355	0.6989	0.6900
Metionina Dig Ave	0.3896	0.3899	0.3735	0.3804	0.3902
Met+Cis Dig Ave	0.6209	0.6200	0.6211	0.6236	0.6200
Triptofano Dig Ave	0.1732	0.1722	0.1939	0.1876	0.1531
Treonina Dig Ave	0.5042	0.5031	0.5582	0.5393	0.4916
Arginina Dig Ave	1.0432	1.0377	1.1576	1.1122	1.0543
Valina Dig Ave	0.6592	0.6564	0.7258	0.7022	0.6392
Isoleucina Dig Ave	0.5567	0.5555	0.6235	0.6017	0.5400
P Disp	0.4000	0.4000	0.4000	0.4000	0.4000
Se Selenio	0.3700	0.3700	0.3700	0.3700	0.3700
Ac. Linoleico	1.8083	2.0000	2.0000	1.1097	2.0000
18:3 Ac. Linolénico	1.4500	1.4500	1.4500	1.4500	1.4500
Relac 18:3 / 18:6	80.19%	72.50%	72.50%	130.67%	72.50%
Energía Bruta	3,756.4866	3,742.0063	3,814.9030	3,856.8777	3,791.8795
EMA Calc Rstgn	2,800.0000	2,800.0000	2,810.4441	2,869.2211	2,800.0000

La fórmula que incluyó solo colza/canola no se puede confeccionar para cubrir la totalidad de los requerimientos de una gallina de postura comercial. Por este motivo se combinó aceite de colza/canola con aceite de chia.

La opción con aceite de lino resultó la fórmula más económica que cumplía con la especificación nutricional deseada con los precios actuales (base BCR menos flete). Para validar la sustentabilidad de las fórmulas en el tiempo se varió los precios de los macroingredientes maíz y soja a valores FOB Chicago y a precios históricos corroborándose esas diferencias.

En la tabla 7 se presenta el nivel mínimo sugerido como requerimiento para la formulación de dietas para generar huevos fortificados con $\Omega 3$ (ALA) y selenio.

Tabla 7: Valores mínimos deseados para la dieta fortificada.

<i>perfil deseado - Nombre</i>		<i>Aceite Lino</i>
Materia Seca	Min	88,00
Proteína	Min	16,60
Lípidos	Min	6,10
Fibra Cruda	Max	5,00
Ceniza	Max	13,00
Calcio	Min	3,90
P total	Min	0,56
Sodio	Min	0,17
Lisina Dig Ave	Min	0,69
Metionina Dig Ave	Min	0,34
Met+Cis Dig Ave	Min	0,62
Triptofano Dig Ave	Min	0,14
Treonina Dig Ave	Min	0,48
Arginina Dig Ave	Min	0,71
Valina Dig Ave	Min	0,60
Isoleucina Dig Ave	Min	0,54
P Disp	Min	0,40
Se Selenio	Min	0,37
Ac. Linoleico	Max	2,00
18:3 Ac. Linolénico	Min	1,45
Energia Bruta	Min	3,750.00
EMA Calc Rstgn	Min	2,800.00

Con el programa Nutrition (DAPP) se evaluó con la dieta más económica (opción de aceite de lino) los niveles de inclusión de las restantes alternativas a diferentes precios de mercado (Figura 7; 8; 9 y 10). Esta previsión permitiría evaluar alternativas según las modificaciones del precio de mercado.

Figura 7: Análisis de sensibilidad cuando a la dieta con aceite de lino se le oferta aceite de chia.

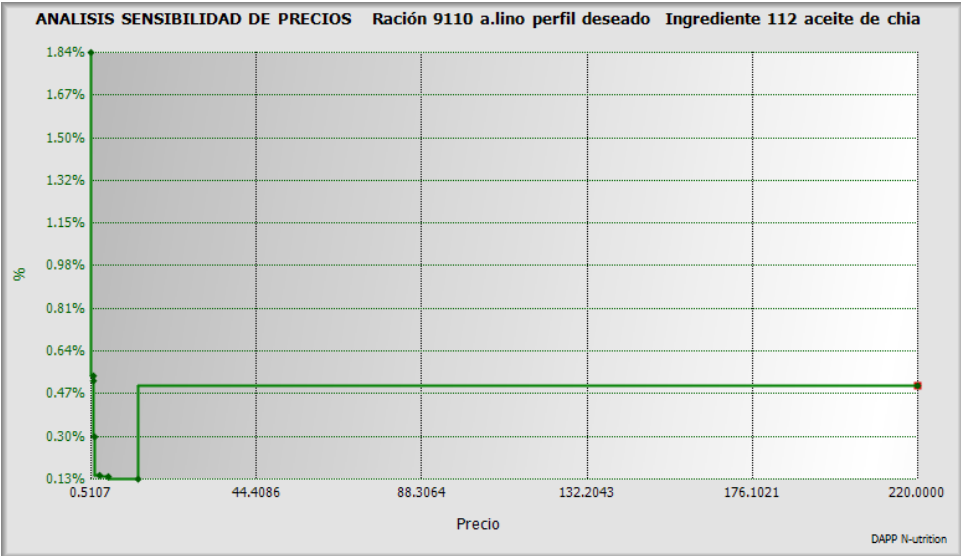


Figura 8: Análisis de sensibilidad cuando a la dieta con aceite de lino se le oferta aceite de canola.



Figura 9: Análisis de sensibilidad cuando a la dieta con aceite de lino se le oferta aceite de aceite de pescado.

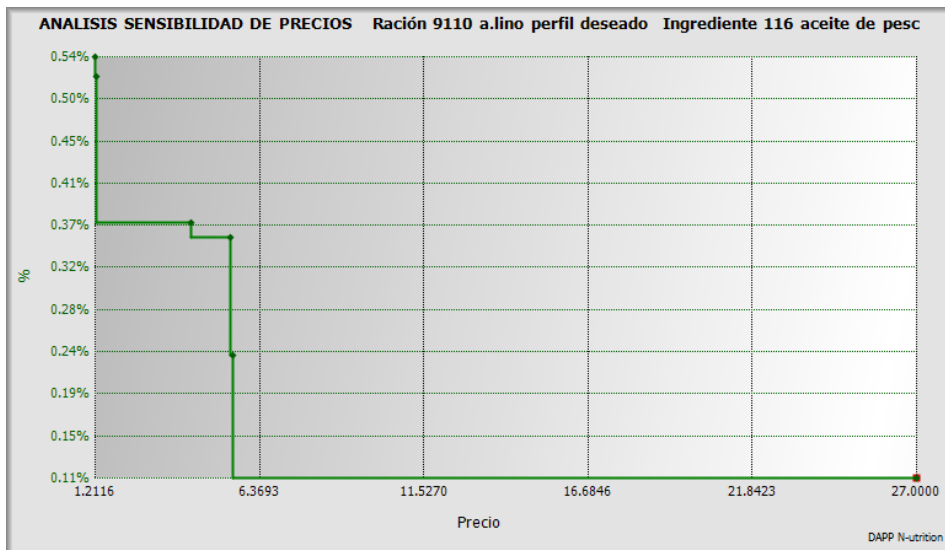
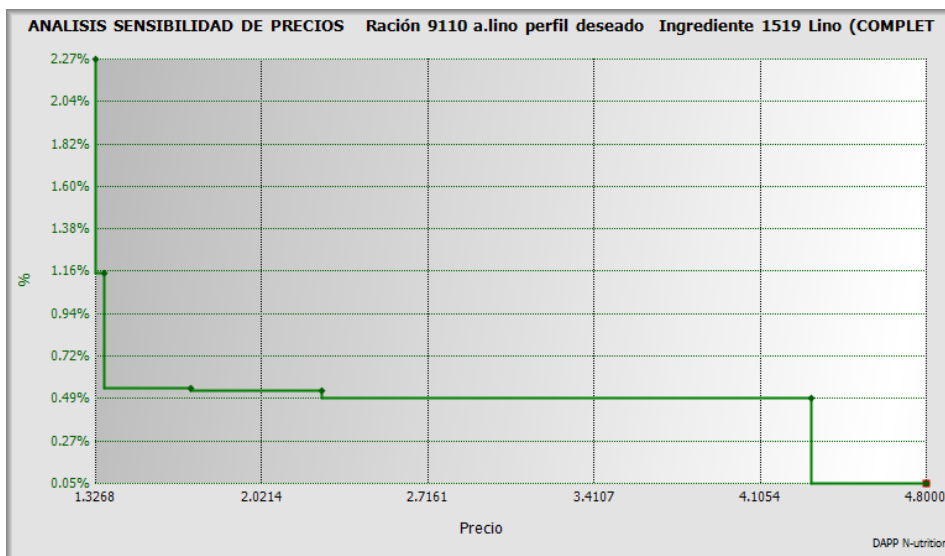


Figura 10: Análisis de sensibilidad cuando a la dieta con aceite de lino se le oferta semilla de lino.



Alojamiento y animales:

La evaluación se realizó en 2 galpones convencionales de la empresa Granjas Carnave S.A. ubicada en la localidad de Humboldt, Santa Fe, Argentina. Los galpones están orientados en dirección oeste a este. Cada galpón contiene jaulas piramidales dispuestas en 2 hileras con pasillo central y el alojamiento se realiza para generar un espacio por ave aves de 350 cm². El sistema de alimentación es semiautomático y el agua de bebida se realiza con un sistema de niple ubicado sobre el centro del techo de la jaula. La capacidad de cada galpón es de 12.000 aves totales. Las condiciones del ambiente por ser un galpón convencional están reguladas por las condiciones ambientales y de manejo por parte del personal a cargo.

Figura 11: Imagen de a granja utilizada, Granjas Carnave

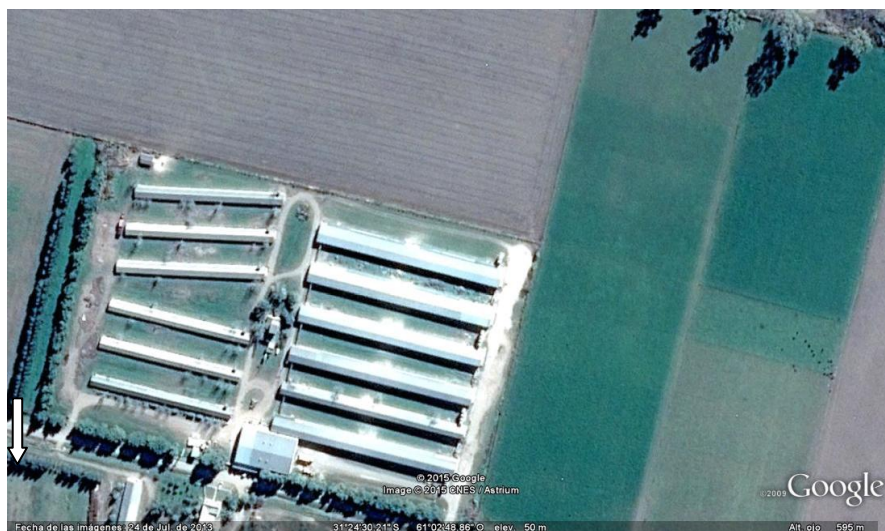


Figura 12: galpón imagen externa



figura 13: galpón imagen interna



Para validar que el incremento de los niveles de selenio y el perfil de ácidos grasos en huevo se mantendrían en los valores deseados en diferentes situaciones productivas y en diferentes tipos de gallinas se remitió el mismo alimento que se estaba evaluando en Granjas Carnave a la unidad demostrativa avícola de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Univ. Nac. del Litoral en la ciudad de Esperanza, provincia de Santa Fe. Ahí se utilizó una instalación convencional con dos pirámides de jaulas y con capacidad de 500 aves (figuras 14 y 15), donde se alojaban 250 gallinas blancas y 250 gallinas coloradas pertenecientes a las líneas hy-line w 36 y hy-line brown de 30 semanas de vida.

Figura 14 y 15: Imagen de los galpones utilizados, FAVE, Univ. Del Litoral.



Las gallinas utilizadas en las diferentes pruebas se detallan en la tabla 8

Tabla 8

Prueba	Dieta Control	Dieta Experimental
1 (lote 35)	Hy Line w 36, 60 semanas de vida	
2 (lote 35)	Hy Line w 36, 70 semanas de vida	
3 (lote 42)	Lohmann Brown, 62 semanas de vida	
4 (lote 50)	Lohmann Brown, 29 semanas vida	
Experimental UNL FAVE (solo tratamiento experimental)	Hy-line w 36 y hy-line color, 30 semanas de vida	

Cronograma

La semana detallada en la tabla 8 corresponde a la edad de la gallina al comienzo de cada experiencia. Luego de una adaptación de tres semanas (el día 21 de inicio de la prueba) se realizó el muestreo de la calidad interna y externa de los huevos así como la composición de ácidos grasos y selenio.

En la experiencia 4 de validación se utilizó el mismo cronograma peros se repitió en el tiempo las mediciones (día 21; 50 y 90 de iniciada la alimentación experimental con tratamiento y control).

Cronograma de las evaluaciones:

1. Comienzo de la alimentación
2. Comienzo de la evaluación de la calidad interna y externa de huevos.

	/-----/-----/-----/			
Mediciones	0	1	2	3
Días	<hr/>			
Prueba 1	0	21		
Prueba 2	0	21		
Prueba 3	0	21		
Prueba 4 (validación)	0	21	50	90

Técnicas analíticas

Parámetros productivos:

Para realizar el seguimiento de los resultados productivos de los lotes tratados y control se generó una planilla de Excel. En columnas se incluyó edad de vida, edad de producción, cantidad de aves, huevos ave días, porcentaje de mortandad, alimento semana, gramos consumo aves, conversión kilogramos por docena, se graficó el porcentaje de postura, mortandad, consumo de alimento. Se muestra formato de control como ejemplo utilizado.

Tabla 9: Formato planilla control

Semana Edad	semana produc	produc Aves	huevo ave día	% mort.	alimento semana	gramos ave	Conversión kg/docena	
21	1	12922	9.8	0.7	1.4	6030	0.063	30.7
22	2	12921	39.6	3.5	1.4	7990	0.068	6.6
23	3	12916	68.2	8.2	1.4	7750	0.077	3.1
24	4	12911	62.1	12.6	1.4	8400	0.083	2.2
25	5	12902	89.8	18.8	1.5	6130	0.084	1.5
26	6	12885	89.7	25.1	1.6	10310	0.090	1.4
27	7	12856	93.2	31.6	1.9	8850	0.094	1.3
28	8	12836	94.1	38.2	2.0	10500	0.100	1.3
29	9	12812	95.7	44.9	2.2	8530	0.106	1.4
30	10	12788	94.6	51.5	2.4	10080	0.106	1.3
31	11	12725	94.1	58.1	2.9	8110	0.104	1.3
32	12	12698	94.3	64.7	3.1	8550	0.099	1.3
33	13	12671	92.3	71.2	3.3	10040	0.104	1.3
34	14	12499	92.0	77.6	4.6	7220	0.097	1.2
35	15	12384	79.0	83.1	5.5	10600	0.105	1.4
36	16	12351	84.2	89.0	5.7	10000	0.081	1.1
37	17	12303	80.2	94.6	6.1	11450	0.085	1.2
38	18	12266	82.2	100.4	6.4	9880	0.093	1.4
39	19	12214	85.8	106.4	6.8	6100	0.080	1.2

Calidad interna y externa de huevos:

Se tomaron aleatoriamente 30 huevos de la recolección diaria dentro de las 24 horas de puesta realizándose las determinaciones sobre ellos. La composición de ácidos grasos y selenio se realizó sobre el pool de los mismos.

La medición de selenio se realizó por espectrofotometría de emisión atómica tecnología (IPC-OES). Los ácidos grasos se midieron como cromatografía gaseosa de alta definición y se expresaron como % de ésteres metílicos.

La calidad externa se midió por peso del huevo, el grosor de la cáscara, resistencia al quebrado. Para evaluar la calidad interna se midió las unidades Haugh y pigmentación de yema utilizando un equipamiento automático ecotester.

Figura 16: imagen equipo ecotester para evaluar calidad interna y externa de huevos.



Se realizó control de calidad sensorial para evaluar en la cocción típica hogareña en forma frita o hervido con consumidores finales en un modelo de panel no entrenado tomando como unidad experimental el hogar. Para tal fin se entregaron 6 huevos tratados a 8 familias para que los cocinaran como habitualmente cocinan huevos para el consumo. No se especificó qué tipo de olor o sabor podían encontrar como referencia, solo si podían detectar alguna característica diferencial alguno de los integrantes del grupo familiar y que lo detallen.

Pruebas experimentales

Se realizaron 4 pruebas de galpón control versus galpón tratado.

En las tres primeras se evaluó la mejor alternativa de uso en la dieta para el aporte de omega 3 y selenio con mínima inclusión de aceite de lino y selenio orgánico.

La prueba final se realizó para validar los datos obtenidos de las tres pruebas anteriores en tres oportunidades separadas en el tiempo.

Prueba preliminar 1

Se evaluaron dos dietas. Tratamiento 1 (T1), control, sin adición de aceite de lino y el tratamiento 2 (T2) con adición de 1,2 % de aceite de lino y el agregado de selenio orgánico a una dosis de 50 gramos por tonelada. Como fuente de selenio inorgánico se utilizó selenito de sodio y para obtener selenio de una fuente orgánica el producto comercial Selplex®. Para el para el tratamiento control se utilizó selenito de sodio y en el tratamiento experimental se utilizó una combinación de selenio orgánico e inorgánico para que la concentración final de la dieta sea de 0,05 y 0,22 mg/kg respectivamente (Tabla 10).

Tabla 10: Tratamientos dietarios de la prueba 1

dieta		T1	T2; T3 y T4
Aceite de lino	%	0	1,2
Selenio inorgánico	ppm	0.15	0.22
Selenio orgánico	ppm	-	0.05

T1: dieta control, lugar Carnave; T2: dieta tratamiento, lugar Carnave;
T3 y T4: igual T2, lugar FAVE.

Prueba preliminar 2

Se desarrollarlo la segunda prueba con niveles de aceite de lino de 2,0 % de inclusión y una combinación de selenio orgánico e inorgánico utilizando en una concentración de 0,1 mg/kg y 0,22 mg/kg respectivamente para el tratamiento experimental. Se utilizó en el tratamiento 1 (control) una formula con núcleo comercial con una concentración de selenio inorgánico de 0,25 ppm. Para la dieta de control externo en FAVE se utilizó la misma dieta experimental sin la adición del aceite de lino (Tabla 11).

Tabla 11: *Tratamientos dietarios de la prueba 2*

dieta		T1	T2	T3 y T4
aceite de lino	%	0	2,0	0
Se inorgánico	ppm	0,25	0,22	0,22
Se orgánico	ppm	-	0,10	0,10

T1: dieta control, lugar Carnave; T2: dieta tratamiento, lugar Carnave;
T3 y T4: sin aceite de lino, igual T2 en selenio, lugar FAVE.

Prueba preliminar 3

Se evaluaron dos dietas. Tratamiento 1 (T1), control, sin adición de aceite de lino y tratamiento 2 (T2) con adición de 2,0 % de lino. Como fuente de selenio, para el tratamiento control se utilizó selenito de sodio. Para el tratamiento experimental se utilizó una combinación de selenio orgánico e inorgánico para que la concentración final de la dieta sea de 0,10 y 0,22 mg/kg respectivamente (Tabla 12).

Tabla 12: *Tratamientos dietarios de la prueba 3*

Dieta		T1	T2; T3 y T4
Aceite de lino	%	0	2,0
Se inorgánico	ppm	0,15	0,22
Se orgánico	ppm	-	0,10

T1: dieta control, lugar Carnave; T2: dieta tratamiento, lugar Carnave;
T3 y T4: igual T2, lugar FAVE.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS PRELIMINARES

Resultados pruebas preliminares 1; 2 y 3.

Análisis de huevos

Selenio:

Los resultados de la concentración de selenio en huevo de las tres pruebas preliminares se muestran en la tabla 14. Se observó que la suplementación con selenio orgánico sobre la base de selenio inorgánico, mejora la transferencia de este mineral al huevo en la experiencia 1 y 3, con una diferencia entre tratado y control de 10,53% y 29,41% respectivamente. Esta aparente diferencia entre los incrementos de selenio en huevo de la experiencia 1 y 3 podría deberse a la inclusión del doble de selenio orgánico en la experiencia 3 respecto a la experiencia 1.

Comparando los niveles de selenio inorgánico de los tratamientos control de las tres experiencias se observa que en la experiencia 2 fue mayor que los utilizados en las pruebas 1 y 3. Esto explica una parte de los diferenciales encontrados en el selenio en huevo entre tratados y control de las tres experiencias.

La otra parte de la diferencia se explica por la relación de Se Orgánico / Se Total de las tres pruebas.

La segunda prueba no presentó una diferencia ostensible entre control y dieta tratada debido a que para la confección de la dieta control se utilizó núcleo comercial magistral cuya concentración de selenio total fue similar entre tratados y control (0,25 vs 0,32). Aparentemente la adición de selenio orgánico a niveles de 10 ppm por sobre una diferencia de 0,25 a 0,22 ppm de selenio inorgánico no aportaría una mayor transferencia de este mineral al huevo.

En la primera experiencia el incremento de selenio en huevo fue de 11,76% debido a que la diferencia en el selenio total dietario fue de 80% con un 18,5% de Se orgánico.

En la tercer experiencia la diferencia entre los niveles dietarios de selenio (0,15 versus 0,32) con un diferencial de 213% en base a Se total y 31,25% de Se orgánico explican el incremento de 42% en la concentración de selenio en el huevo.

Tabla 14: Análisis composición química de huevos SELENIO.

Código	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
Concentración de Selenio en huevo (mg/kg)			
Dieta estándar	1,7	2,3	1,2
Dieta con adición de selenio orgánico	1,9	2,4	1,7

De las tres pruebas preliminares se concluyó que, para obtener los incrementos deseados de selenio en huevo, se debería implementar la adición de selenio en la dieta a utilizar en forma orgánica.

Perfil de ácidos grasos:

Se presentan 3 series de resultados, prueba 1; 2 y 3. Las pruebas están compuestas con 4 análisis:

- Control, que corresponde a tratamiento 1 (testigo)
- T2 , que corresponde al tratamiento 2
- T3 y T4, que corresponde al control paralelo realizado sobre las gallinas ubicadas en la unidad experimental de la FAVE, Universidad Nacional del Litoral.

Tabla 15: Perfil de ácidos grasos de la Prueba 1

A9.10.12.215	% ésteres metílicos			
Ácidos Grasos	Control	T2	T3	T4
Mirístico (C14:0)	0,18	ND	0,27	0,22
Palmítico (C16:0)	26,17	21,61	24,17	25,59
C17:0 ISO	0,55	0,64	0,55	0,49
Palmitoleico (C16:1)	1,74	1,17	2,29	2,37
Esteárico (C18:0)	9,07	8,89	8,54	7,98
Oleico (c9 C18:1)	38,69	35,83	32,69	34,33
c11-Octadecenoico (c11 C18:1)	8,94	8,27	7,70	6,58
Linoleico (c9,c12 C18:2)	13,17	19,78	18,17	17,85
Linolénico (c9,c12, c15 C18:3)	ND	2,20	2,37	2,54
Eicosatrienoico (c8,c11,c14 C 20:3)	ND	ND	0,13	ND
Araquidónico (C20:4)	1,08	0,95	1,25	1,09
Docosapentaenoico (C22:5) (EPA)	ND	ND	0,29	ND
Docosahexanoico (22:6) (DHA)	0,41	0,65	1,57	0,95

Tabla 16: Perfil de ácidos grasos de la Prueba 2.

A9.10.12.215	% ésteres metílicos			
Ácidos Grasos	control	T2	T3	T4
Mirístico (C14:0)	0.21	0.19	0.16	0.23
Palmítico (C16:0)	23.75	22.5	22	23.8
C17:0 ISO	0.55	0.76	0.54	0.55
Palmitoleico (C16:1)	1.51	1.87	1.55	1.99
Esteárico (C18:0)	8.76	7.29	7.17	7.87
Oleico (c9 C18:1)	30.68	35.8	32.2	31.7
c11-Octadecenoico (c11 C18:1)	6.35	6.34	6.44	6.8
Linoleico (c9,c12 C18:2)	24.06	20	23.2	20.5
Linolénico (c9,c12, c15 C18:3)	1.42	3.1	4.43	4.2
Eicosatrienoico (c8,c11,c14 C 20:3)	0.17	0.14	0.09	0.13
Araquidónico (C20:4)	1.3	1.04	1.03	1.11
Docosapentaenoico (C22:5) (EPA)	0.06	0.07	0.07	0.08
Docosahexanoico (22:6) (DHA)	0.59	0.81	0.92	1.02

Tabla 17: Perfil de ácidos grasos de la Prueba 3

A9.10.12.215 Ácidos Grasos	% ésteres metílicos			
	control	T2	T3	T4
Mirístico (C14:0)	0,25	ND*	0,24	0,25
Palmítico (C16:0)	25,08	22,12	25,26	26,28
C17:0 ISO	0,59	0,63	0,43	0,50
Palmitoleico (C16:1)	1,91	1,45	2,70	2,28
Esteárico (C18:0)	7,28	7,74	6,80	7,27
Oleico (c9 C18:1)	32,95	33,75	31,41	34,15
c11-Octadecenoico (c11 C18:1)	6,14	6,39	6,54	7,07
Linoleico (c9,c12 C18:2)	23,18	21,25	23,09	18,98
Linolénico (c9,c12, c15 C18:3)	1,02	4,55	1,41	1,00
Eicosatrienoico (c8,c11,c14 C 20:3)	ND*	0,13	0,10	0,14
Araquidónico (C20:4)	1,18	0,90	1,19	1,40
Docosapentaenoico (C22:5) (EPA)	ND*	0,11	0,10	ND*
Docosahexanoico (22:6) (DHA)	0,42	0,98	0,73	0,67

Se observó una transferencia al huevo de ácido alfa linolénico, la cual se incrementó al pasar de 1,2 % de inclusión de aceite de lino a 2,0 % de inclusión de aceite de lino en la dieta tratamiento 2. Conjuntamente se observó un aumento de DHA (docosahexanoico) siguiendo la misma relación que la transferencia de ácido alfa linoleico ($\Omega 3$) debido, probablemente, a la transformación de ALA en DHA.

Evaluación sensorial

Ninguno de los evaluadores que consumieron los huevos fortificados percibió alguna característica anormal a lo que ellos estaban acostumbrados.

Calidad externa e interna.

No se observaron diferencias en la calidad externa e interna entre los huevos tratados y controles internos (misma línea genética y diferente dieta) ni con controles externos (diferentes líneas genéticas y misma dieta). Los resultados se muestran en la figura 16 y 17.

Figura 16: Tratamiento UNL-FAVE vs ideal de línea genética.

Resumen variables analizadas

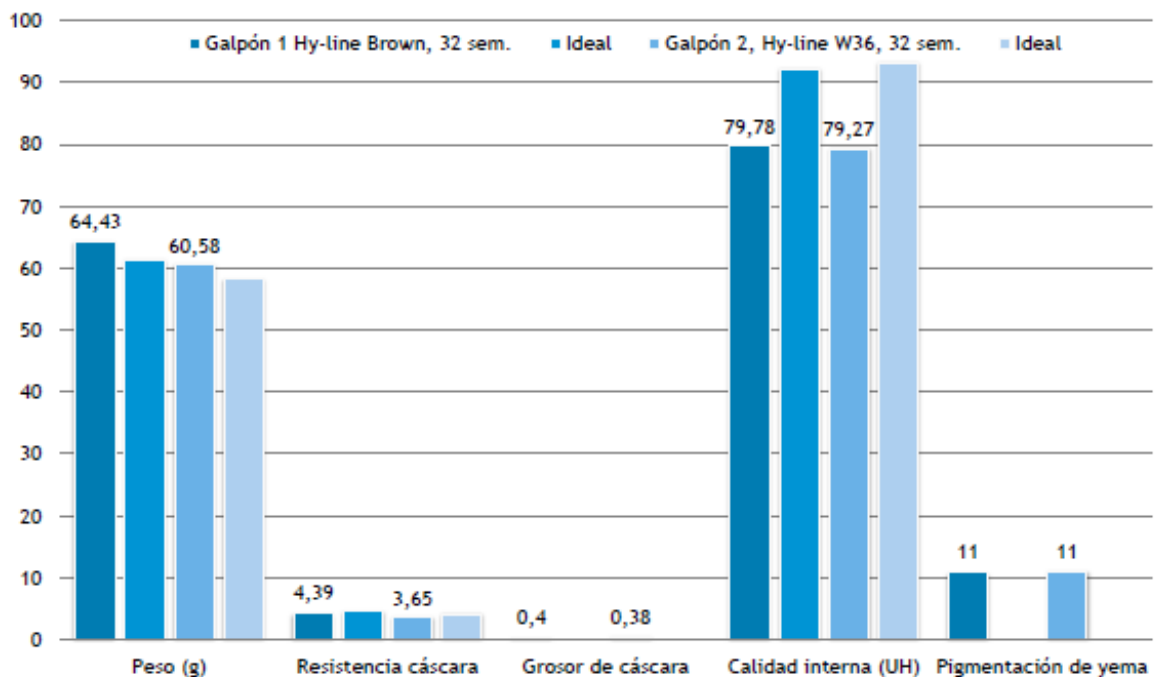
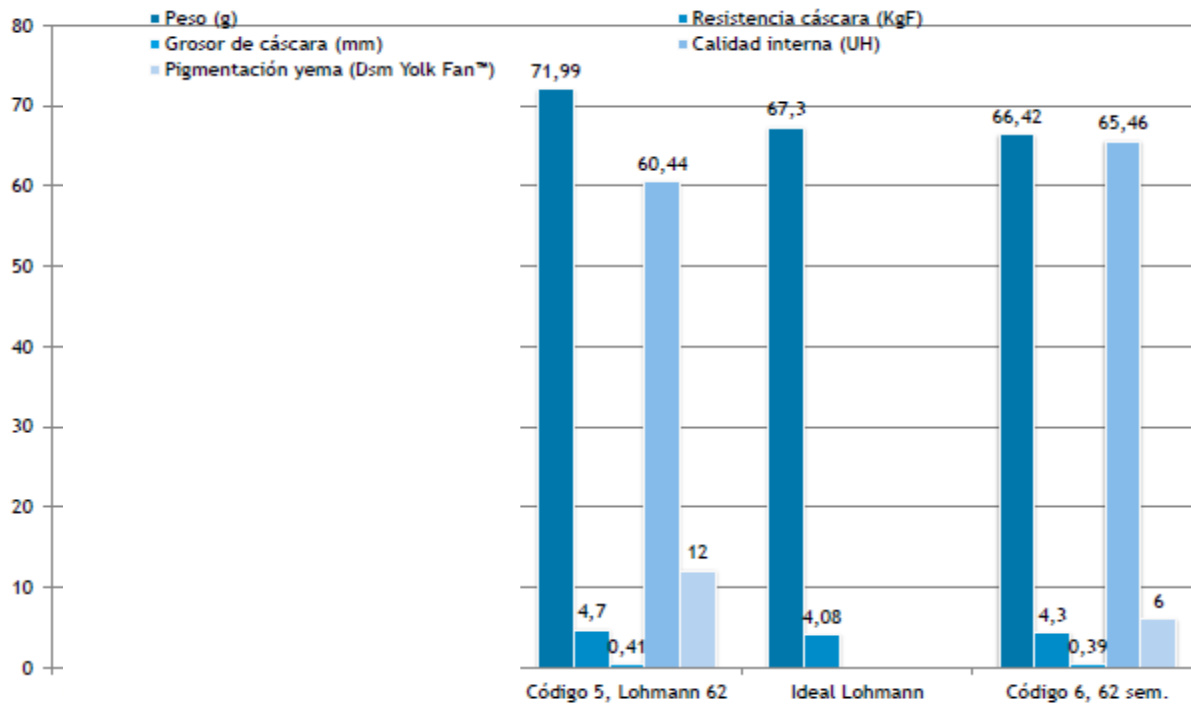


Figura 17: Tratamiento número 3. Gallinas tratamiento vs ideal línea genética.

Resumen variables analizadas



Parámetros productivos.

Se realizó el seguimiento de los resultados productivos en las pruebas 1 y 2 (lote 35). No se observaron tendencias en las variables productivas relacionadas a la incorporación de aceite de lino y selenio orgánico en lo que respecta % de postura, mortandad ni consumo. Por ser una evaluación de casos control y tratado no se utilizó un sistema estadístico de comparación. Asimismo se observan variaciones debido a situaciones de manejo, sanitarias y ambientes particulares de la granja de producción.

Figura 18: Porcentaje postura ave dia. X = semanas de vida, Y = % postura.

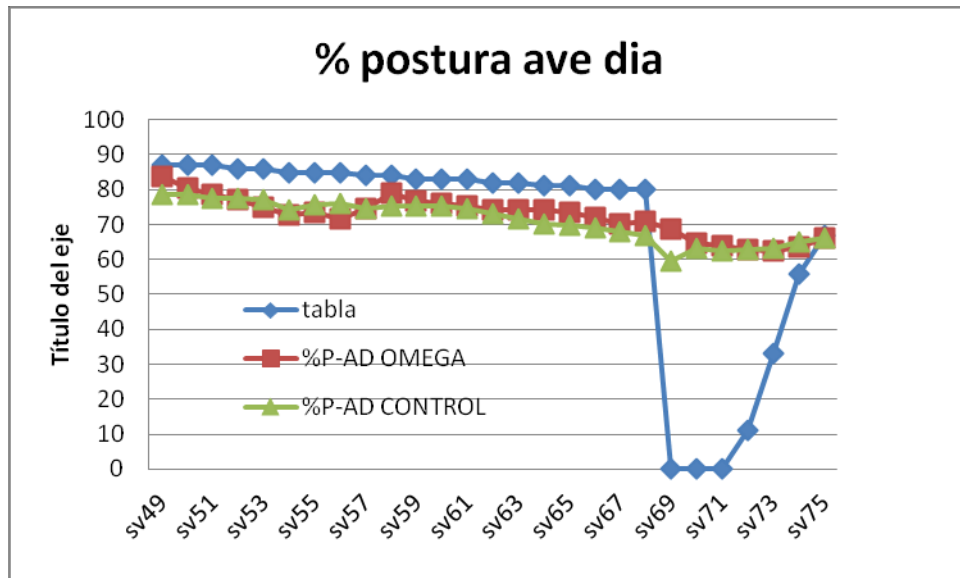


Figura 19: consumo promedio dia . X = semanas de vida, Y = kg alimento.

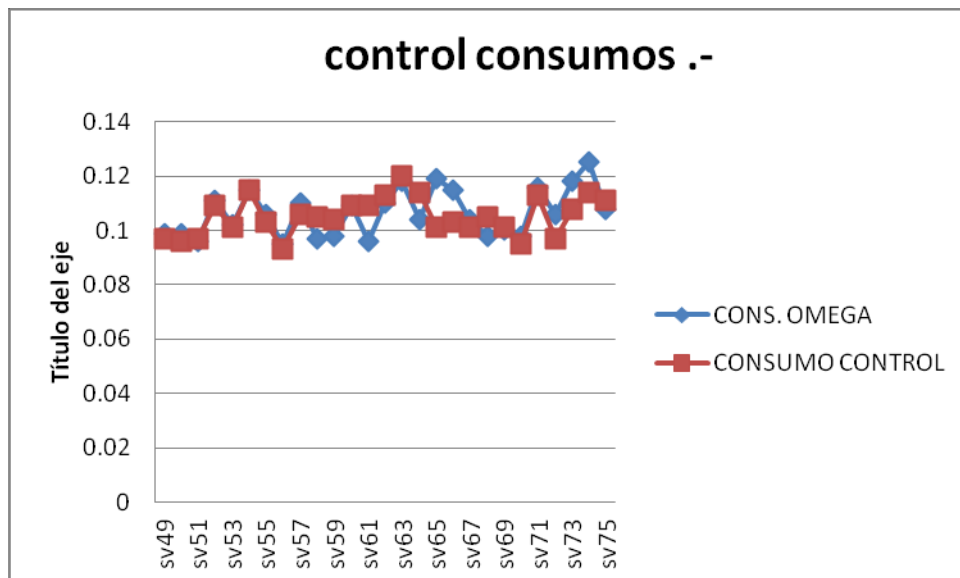
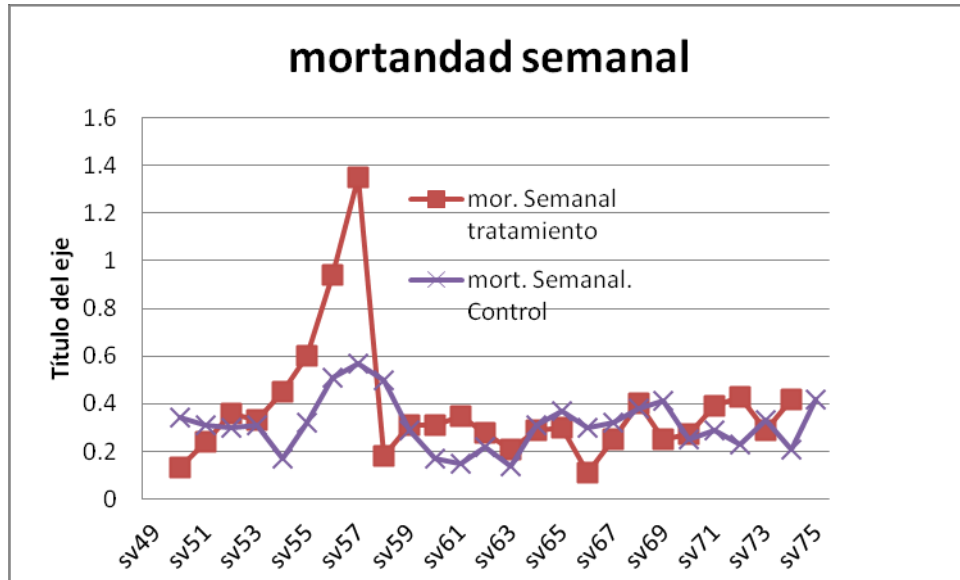


Figura 20: Mortandad promedio semana . X = semanas de vida, Y = % mortandad semana promedio.



MATERIALES Y MÉTODOS DE LA EXPERIENCIA 4 VALIDACIÓN

Prueba 4 (validación).

Después de realizar el análisis de los resultados preliminares se aplicó modificaciones finales en la estrategia de cumplir con el objetivo deseado.

Las mismas fueron:

1. El selenio se adicionó en el tratamiento experimental en forma totalmente orgánica.
2. Se ajustó la inclusión de aceite de lino a 25 kilos por tonelada de alimento.

Fueron evaluadas dos dietas (tablas 8):

- Tratamiento 1 (Control):

Dieta estándar comercial del establecimiento sin adición de aceite de lino y con núcleo vitamínico mineral aportando selenio en forma inorgánica (selenito de sodio al 1 %) y

- Tratamiento 2 (Experimental):

La dieta experimental se formuló con las materias primas disponibles en el molino más las seleccionadas para generar los productos fortificados. Se utilizó la matriz de precios de ese momento para confeccionar una dieta de mínimo costo. Se fijó la adición de 2.5 % de aceite de lino y selenio metionina a 0,37 ppm/kg logrando aportar el total del selenio en forma orgánica.

El perfil nutricional de las dietas se muestra en la tabla 9 siendo validadas como aptas para la línea genética a nutrir aunque, dada la situación comercial de la evaluación, el perfil de aminoácidos y energía metabolizable mostraron diferencias. Como no se pretendía obtener conclusiones más allá de la composición del producto no se consideró relevante generar dietas isonutricionales salvo en las características determinantes de la composición del huevo. Se controló estrictamente el perfil de ácidos grasos y de selenio de ambas dietas.

Tabla 18: Características diferenciales en las dietas de la experiencia 4 (validación)

Código	T 1 Control	Tratamiento 2
Aceite de lino inclusión	0 %	2,5 %
Selenio inorgánico (selenito de sodio)	0,15 ppm	0,00 ppm
Selenio orgánico (seleniometionina)	0,00 ppm	0,37 ppm

Tabla 19: Raciones utilizadas en la experiencia 4.

Nombre	Control	T1
Maíz	44.310	31.500
Aceite de lino		2.500
Girasol Harina	2.500	15.000
Soja Poroto	7.000	6.100
Soja Expeller	20.400	5.100
Harina de Carne	3.100	1.874
Conchilla	9.245	8.615
Trigo	12.000	16.652
Trigo afrechillo		10.000
Sal común	0.240	0.304
Metionina	0.170	0.265
Plumas Harina		1.000
Selplex		0.015
Biolis		0.241
Colina liquida 75%	0.035	0.035
premix ponedora *1		0.800
premix ponedora *2	1.000	
	100.000	100.000

***1** Composición por kilos de premix : núcleo vitamínico–mineral, bicarbonato de sodio, proteasa, taninos, carbonato de calcio, fitasa; nucleo vitaminico-mineral: Vit A: 1770 kui; Vit. D3: 666 kui ; Vit. E: 4444 kui ; Tiamina: 555mg/kg; Vit B2: 1.11mg/kg; Vit B6 : 4.4mg/kg; Ac. Pantoténico: 1.777mg/kg; Niacina: 6.666mg/kg; Ac. Fólico: 222mg/kg; Vit B12: 4.4mg/kg; Vit K3 :555mg/kg; microave mixgold Dsm (minerales orgánico): 250.000 mg/kg.- cantaxantina: 3.900 mg/kg .-

***2** Composición por kilos de premix : nucleo vitaminico –mineral, bicarbonato de sodio, proteasa, taninos , carbonato de calcio, fitasa; nucleo vita-mineral por 100 gramos de núcleo (Vit A: 8.000.000 ui; Vit D3: 2.000.000 ui; Vit E : 3.000 ui; Tiamina: 1 gr; Vit B2: 4 gr.; Vit B6: 2gr.; Ac. Pantoténico: 10 gr.; Niacina: 20 gr; Vit B12: 15mg; Zn: 30 g; Fe 16.4 g; Cu 5 gr; I: 0.45 g; Se 0.10 g.)

Tabla 20 : Aporte nutricional de las dietas utilizadas en la experiencia 4.

<i>Nombre</i>	<i>Control</i>	<i>T1</i>
Materia Seca	89.6289	89.7733
Proteína	17.3973	16.7540
Lípidos	5.8703	6.5812
Fibra Cruda	3.2504	5.1657
Ceniza	13.0142	12.5932
Materia Orgánica	75.9145	76.5826
Calcio	4.2237	3.9000
P total	0.5090	0.5641
Sodio	0.1230	0.1700
Potasio	0.7806	0.7199
Cloro	0.2004	0.2326
Balance Electrolítico	196.5999	192.4626
Lisina	0.8769	0.7946
Metionina	0.4336	0.6376
Met+Cis	0.7178	0.9464
Triptofano	0.1995	0.1906
Treonina	0.6395	0.5837
Arginina	1.1604	1.0877
Valina	0.8035	0.7744
Isoleucina	0.6969	0.6277
Leucina	1.3858	1.1974
Histidina	0.4473	0.3944
Fenilalanina	0.8318	0.7346
P Disp	0.4163	0.4000
FDN	12.6685	17.9751
FDA	6.1530	8.1721
EMA	2,870.5540	2,800.3460

RESULTADOS DE LA EXPERIENCIA 4 VALIDACIÓN

Resultados

Resultados Prueba Final

Análisis composición química de huevos.

Selenio

Se observó un aumento de los niveles de selenio total en huevo entero en la dieta experimental. Ese incremento fue de 187; 200 y 130 % respecto a los controles coetáneos para 21; 50 y 90 días. Si bien los resultados no se evaluaron estadísticamente se observa que hacia el final de la experiencia los animales con la dieta control presentaron una ingesta de alimento mayor que los que animales sometidos a la dieta experimental. Si se pudiera evaluar como variable independiente a la ingesta de selenio la diferencia en transferencia de este mineral al huevo posiblemente mostraría mayor similitud entre los resultados (Tabla 13 y Gráfico 15)

Tabla 21. Resultados selenio prueba validación

	21 días	50 días	90 días
	mg/kg		
Control	1.6	0.8	3.6
Experimental	3.0	1.6	4.7
Dif Control vs Experimental	187 %	200 %	130 %

Ácidos Grasos Omega Ω 3

Se observó que los niveles de ALA (ácido alfa linolénico Ω 3) en los huevos con adición de aceite de lino en un % del 2.5 % mantuvieron los niveles dentro de rangos estables en los sucesivos controles (tabla 14 -15-16) manteniendo la relación del tratamiento control (t1) sin aceite de lino versus el tratamiento experimental (t2-t3-t4). Asimismo se observó la misma tendencia pero con una variación más dispar para ácidos grasos Docosahexanoico, DHA. Los resultados no fueron evaluados bajo sistema estadístico.

Tabla 22: Concentración de ácidos grasos en huevos el día 21 de la experiencia 4.

PRUEBA 4 – 1 Ácidos Grasos	% ésteres metílicos			
	control	T2	T3	T4
Mirístico (C14:0)	0.19	0.11	0.13	0.1
Palmítico (C16:0)	24.36	21.2	21.1	23
C17:0 ISO	0.46	0.56	0.48	0.2
Palmitoleico (C16:1)	1.82	1.23	1.7	1.3
Esteárico (C18:0)	8.59	8.06	7.45	7.4
Oleico (c9 C18:1)	31.32	32.8	31.3	33
c11-Octadecenoico (c11 C18:1)	4.96	3.75	5.29	4.8
Linoleico (c9,c12 C18:2)	23.69	23.6	23.6	22
Linolénico (c9,c12, c15 C18:3)	1.27	5.46	5.89	5.2
Eicosatrienoico (c8,c11,c14 C 20:3)	0.15	0.11	ND	0.1
Araquidónico (C20:4)	1.95	1.25	1.14	1
Docosapentaenoico (C22:5) (EPA)	0.11	0.19	0.16	ND
Docosahexanoico (22:6) (DHA)	0.99	1.63	1.44	1.38

Tabla 23: Concentración de ácidos grasos en huevos el día 50 de la experiencia 4.

PRUEBA 4 -2 ácidos grasos	% ésteres metílicos			
	control	T1	T2	T3
Mirístico (C14:0)	0.2	0.17	0.2	0.18
Palmitico (C16:0)	23.68	21.5	21.9	22.3
C17:0 ISO	0.64	0.6	0.57	0.6
Palmitoleico (C16:1)	1.61	2.15	2.24	1.85
Esteárico (C18:0)	7.99	6.52	6.72	7.28
Oleico (c9 C18:1)	28.72	32.5	36	34.9
c11-Octadecenoico (c11 C18:1)	7.57	7.29	5.26	8.47
Linoleico (c9,c12 C18:2)	25.39	21.7	20.5	18.2
Linolénico (c9,c12, c15 C18:3)	1.26	5.92	4.93	4.64
Eicosatrienoico (c8,c11,c14 C20:3)	0.13	ND	ND	ND
Araquidónico (C20:4)	1.61	0.64	0.73	0.59
Docosapentaenoico (C22:5)	0.08	0.13	0.1	0.13
Docosahexanoico (22:6)	0.62	0.88	0.92	0.89

Tabla 24: Concentración de ácidos grasos en huevos el día 90 de la experiencia 4.

PRUEBA 4 -3 ácidos grasos	% ésteres metílicos			
	control	T1	T2	T3
Mirístico (C14:0)	0.2	0.15	0.12	0.11
Palmitico (C16:0)	23.92	21.5	20.3	22.9
C17:0 ISO	0.6	0.7	0.76	0.55
Palmitoleico (C16:1)	1.83	1.79	1.65	2.14
Esteárico (C18:0)	7.68	7.09	7.34	7.53
Oleico (c9 C18:1)	34.84	33	36.8	35.5
c11-Octadecenoico (c11 C18:1)	5.13	5.75	5.66	5.73
Linoleico (c9,c12 C18:2)	21.94	22.5	20.3	19.2
Linolénico (c9,c12, c15 C18:3)	0.92	4.87	4.42	3.96
Eicosatrienoico (c8,c11,c14 C20:3)	0.009	0.01	0.05	0.06
Araquidónico (C20:4)	1.57	1.15	0.96	1.05
Docosapentaenoico (C22:5)	0.009	0.14	0.22	0.1
Docosahecanoico (22:6)	0.76	1.03	1.23	1.05

Parámetros productivos.

No se observaron aparentemente variaciones productivas relacionadas a la incorporación de aceite de lino y selenio orgánico en lo que respecta % de postura, mortandad y consumo a pesar de no utilizar un sistema estadístico de comparación. Asimismo se observan variaciones debido a situaciones de manejo, sanitarias y ambientes particulares de la granja de producción detalladas en las figuras 21; 22 y 23.

Figura 21: Porcentaje de postura ave día línea genética (tabla), control y tratamiento. X= semanas de vida, Y = % postura.

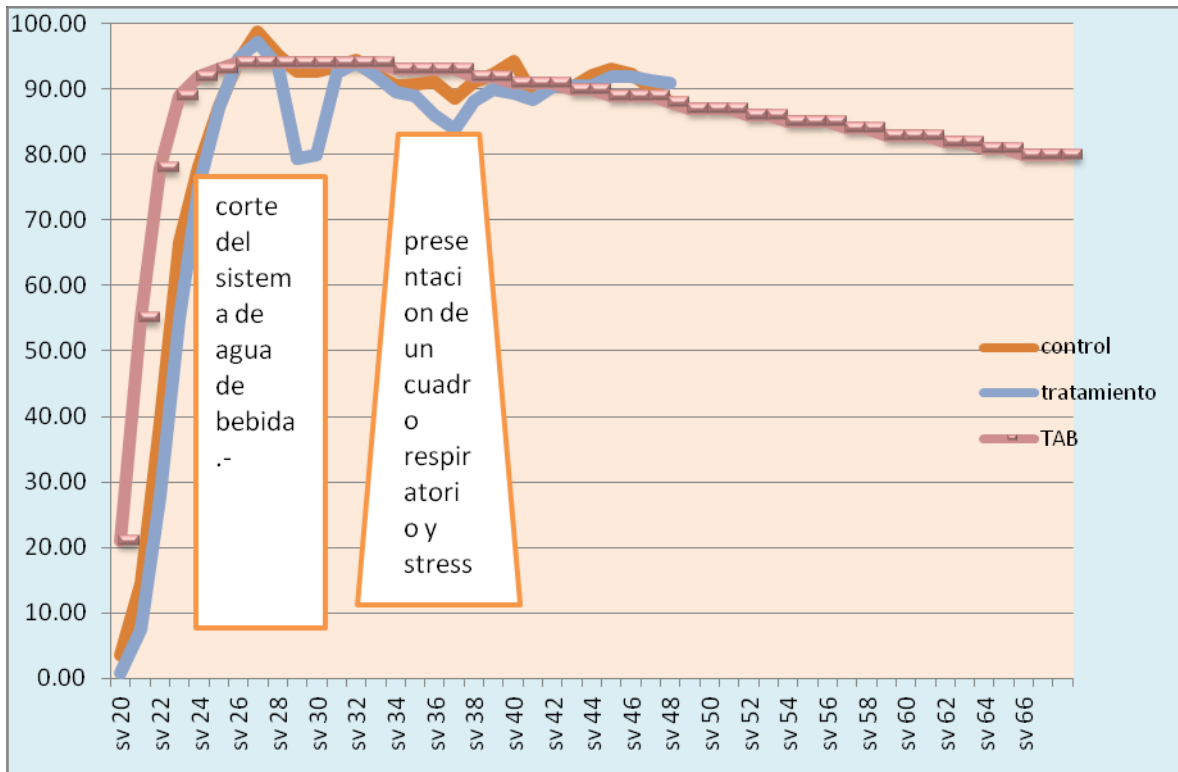


Figura 22: Consumo de alimento registrado como promedio semanal diario, X= semanas de vida, Y = kg promedio semanal por ave dia.-

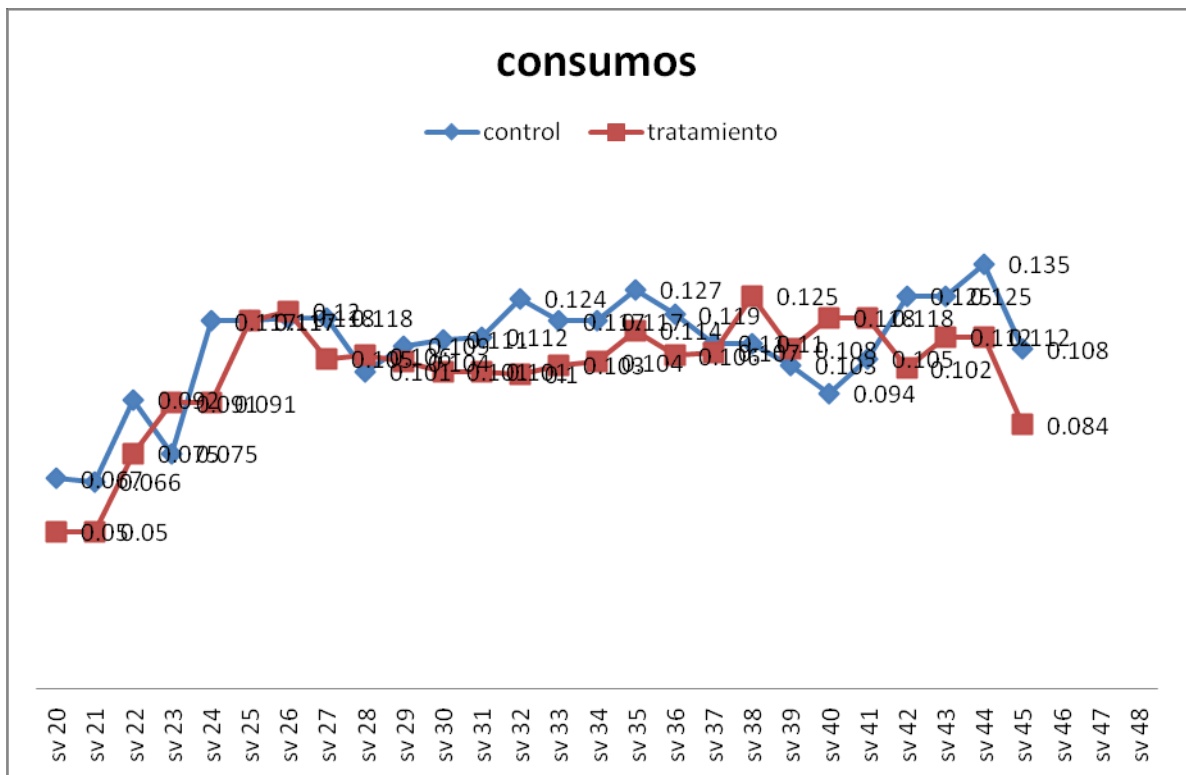
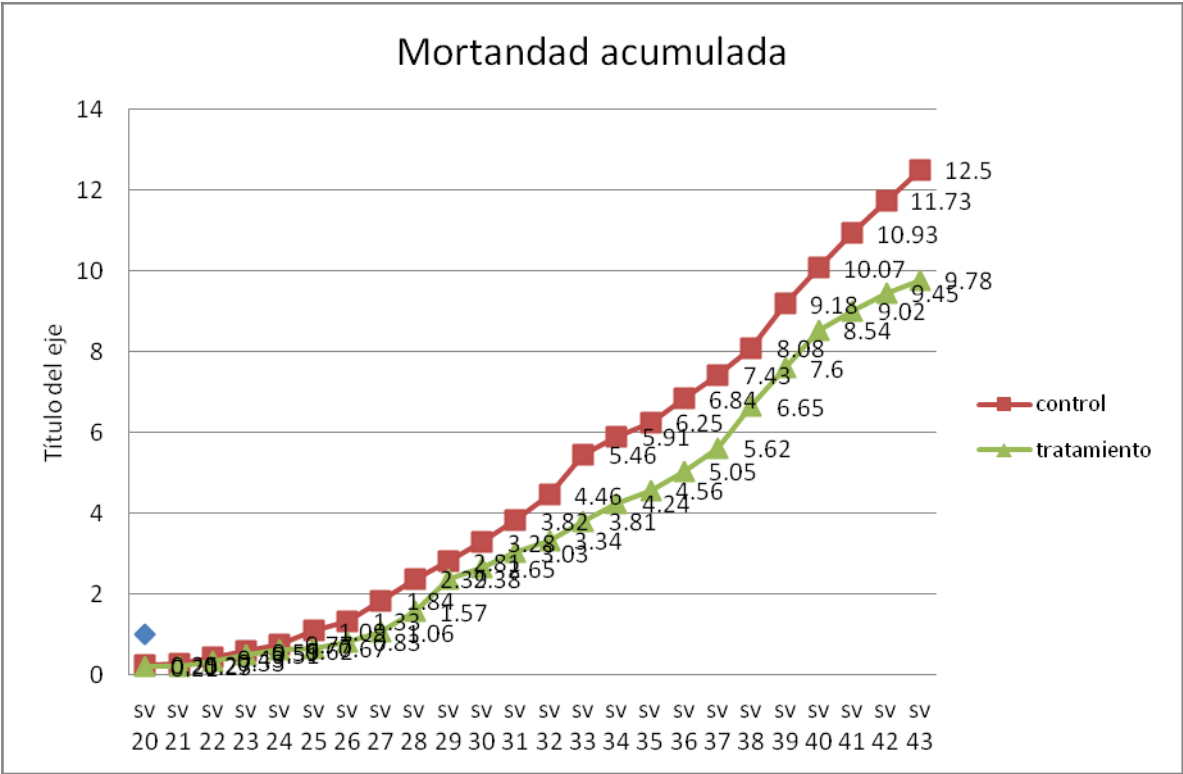


Figura 23: Mortandad semanal de los lotes tratado y control durante el período experimental. X= semanas de vida, Y = % mortandad semanal acumulada



CONCLUSIONES

Conclusiones

Podemos concluir que la adición de aceite de lino para el fortalecimiento de los huevos de mesa con ácidos grasos omega $\Omega 3$ en porcentajes de inclusión de 2.5 % de la dieta logran un aumento (relación mínima de 4, 4.5 a 1 de ácido alfa linolénico) en huevos sin afectar negativamente las características del huevo. Por otro lado, no se observó aparentemente modificaciones en los parámetros productivos coincidiendo con la información aportada por la bibliografía consultada. También podemos destacar que se observa un aumento de DHA conjuntamente con el aumento del ácido graso alfa linolénico.

La adición de selenio orgánico a dosis de 0.3 – 0.4 mg/kg en la dieta demostró un aumento del nivel total del selenio en huevo entero, como mínimo en un 130 % y mostrando valores de hasta 200 %.

Se sugiere utilizar dietas con 2,5% de aceite de lino y de 0,4 ppm de selenio orgánico para fortalecer este mineral y mejorar la relación $\Omega 3/ \Omega 6$ en huevos para consumo. Las dietas se deberían formular en base a mínimo costo para la línea genética y estado productivo de las gallinas con las matrices nutricionales presentadas de ácidos grasos de las diferentes materias primas.

Se sugiere implementar un modelo de monitoreo de producto final periódico así como la confección de un sistema HACCP para el seguimiento de la elaboración de este producto enriquecido.

BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía

- Alltech.2000 Redefiniendo la suplementación con Selenio. Boletín técnico.-
- ALVAREZ C., CACHALDORA P., MÉNDEZ J., and GARCÍA-REBOLLAR P., DEBLAS J.C. (2004): Effects of dietary conjugated linoleic acid and fish oil supplementation on performance and egg quality in laying hens. Br. Poult. Sci., 45,524-529.
- Antruejo A, Azcona JO, Garcia PT, Gallinger C, Rosmini M, Ayerza R, Coates W, Perez CD. 2011 omega-3 enriched egg production: the effect of α -linolenic ω -3 fatty acid sources on laying hen performance and yolk lipid content and fatty acid composition. Br Poult Sci. 2011 Dec;52(6):750-60.
- Ayerza R. The seed's protein and oil content, fatty acid composition, and growing cycle length of a single genotype of chia (*Salvia hispanica* L.) As affected by environmental factors. J Oleo Sci. 2009; 58(7):347-54.
- BARCLAY W.R., MEAGER K.M., ABRIL J.R. (1994): Heterotrophic production of long chain omega-3 fatty acids utilizing algae and algae-like microorganisms. J.Appl. Phycol., 6, 123-129
- Barte Slaugh. Nutrition- specific eggs: An even more perfect food. . Egglands best, inc., King of Prussia, PA, USA.
- Betancourt L. and Diaz L. 2009. Eggs enrichment with omega -3 fatty acids by means of flaxseed supplements (*linum usitatissimum*) in the diet. Rev.MVZ Cordoba vol.14 no.1 Córdoba Jan./Apr. 2009
- *BOURRE, JM.; Galea, F. 2006. An important source of omega-3 fatty acids, vitamins D and E, and selenium: a new natural multi-enriched egg. J NutrHealth Aging, 10 5: 371-376.*
- *BRUINSMA, K.; Taren, D. 2000. Dieting essential fatty acids intake, and depression. Nutrit. Rev.; 58, 98 – 108*
- CACHALDORA P., GARCÍA-REBOLLAR P., ALVAREZ C., DE BLAS J.C., MÉNDEZ J. (2006): Effect of type and level of fish oil supplementation on yolk fat composition and Ω 3 fatty acids retention efficiency in laying hens. Br. Poult. Sci., 47, 43-49.
- Cachaldora. P. Garcia-Rebollar, C. Alvarez, J. Mendez; J: C: De Blas. 2007. Double enrichment of chicken eggs with conjugated linoleic acid and Ω 3 fatty acids through dietary fat supplementation. Animal Feed Science and Technology 144 (2008) 315–32
- Canan Bolukbasi 2007. Effect of Dietary Vitamin E on the Performance, plasma and egg yolk. Vitamin E levels and lipid oxidation of egg in heat stressed layers. Journal of Applied Biological Sciences 1(3) 19-23.
- Clark LC, Dalkin B, Krongrad A, Combs GF Jr, Turnbull BW, Slate EH et al.(1998) Decreased incidence of prostate cancer with selenium supplementation: results of a double-blind cancer prevention trial. British Journal of Urology 81, 730–734.
- Código Alimentario Argentino. capítulo XXII Capítulo sustituido por art. 1º de la Resolución Nº 933/87 de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca B.O. 22/08/1988.

- Cummins, L.S. and J.L. Martin. 1967. Are selenocysteine and selenomethionine synthesized in vivo from sodium selenite in mammals? *Biochem.* 6:3162-3168.
- ENSER, M. 1984. The chemistry, biochemistry and nutritional importance of animal fats. In: Wiseman J (Ed) *Fats in animal nutrition*. Butterworths, London, pp. 23-51.
- ESCRIBANO, F. (1991) Fisiología digestiva y metabolismo de las grasas e hidratos de carbono en gallinas ponedoras. En: de Blas, C.; Mateos, G.G. *Nutrición y alimentación de gallinas ponedoras*. Madrid, Aedos. ISBN 84-7114-315-1, Mundi-Prensa.
- [FAO 1993 http://www.fao.org/docrep/v4700s/v4700s06.htm](http://www.fao.org/docrep/v4700s/v4700s06.htm)
- Farrell David, FAO, Boletín técnico. <http://www.fao.org/3/a-al710s.pdf>
- Fedir O Yarashenko, Julia E Dvorska, Peter F Surai, Nick Hc sparks. Huevo enriquecidos con selenio como fuente de selenio para consumo humano. 1° Avian Science Research Centre, SAC, Escocia.
- Fili J. 2012. Chia Aspectos nutricionales. INTA boletín técnico Salta. Argentina
- Fisnina V.I., Tigran T. Papazyanb & Peter F. Surai*2009 Producing selenium-enriched eggs and meat to improve the selenium status of the general population. *British Poultry Science*, Vol. 49; Issue 4 July 2008; p. 482-48
- FRANKLIN S.T., MARTIN K.R., BAER R.J., SCHINGOETHE D.J., HIPPENAR. (1999): Dietary marine algae (*Schizochytrium* sp.) increases concentrations of conjugated linoleic, docosahexaenoic and transvaccenic acids in milk of dairy cows. *J. Nutr.*, 129, 2048-2052.
- Fundación Fedna (2015), <http://www.fundacionfedna.org/tablas-fedna-composicion-alimentos-valor-nutritivo>
- GONZALEZ-ESQUERRA R., LEESON S. (2000): Effect of feeding hen's regular or deodorized menhaden oil on production parameters, yolk fatty acid profile, and sensory quality of eggs. *Poult. Sci.*, 79, 1597-1602.
- GONZALEZ-ESQUERRA R., LEESON S. (2001): Alternatives for enrichment of eggs and chicken meat with omega-3 fatty acids. *Can. J. Anim. Sci.*, 81, 295-305.
- GROBAS, S.; Mateos, G. G. 1996. Influencia de la Nutrición Sobre la Composición Nutricional del Huevo. XII Curso de Especialización FEDNA. Madrid, España. 25 pp.
- HAREL M., KOVEN W., LEIN I., BAR Y., BEHRENS P., STUBBLEFIELD J., ZOHAR Y., PLACE A.R. (2002): Advanced DHA, EPA and ArA enrichment materials for marine aquaculture using single cell heterotrophs. *Aquaculture*, 213, 347-362.
- HARPER C.R., JACOBSON T.A. (2005): Usefulness of omega-3 fatty acids and the prevention of coronary heart disease. *Am. J. Cardiol.*, 96, 1521-1529.
- Hawkes, W.C., E.C. Wilhelmsen and A.L. Tappel. 1985 b. Subcellular distribution of selenium containing proteins in the rats. *J. Inorg. Biochem.* 25:77-93
- HERBER S.M., VAN ELSWYK M.E. (1996): Dietary marine algae promotes efficient deposition of Ω 3 fatty acids for the production of enriched shell eggs. *Poult. Sci.*, 75, 1501-1507.
- Ilian, M.A. and P.D. Whanger 1989. In vitro metabolism of Se-selenite and Se-selenomethionine in chick blood. *J. Trace Elem. Electrolytes Health dis.* 3:9-16
- Jacques, K.A. 2006. Zoonotic disease: not just from birds, and not just in the flu. En T.P. Lyons, K.A. Jacques y J.M. Hower, eds. *Nutritional biotechnology in the feed and food*

industries: Proceedings of Alltech's 22nd Annual Symposium, Lexington, Kentucky, EE.UU. 23-26 de abril de 2006, pp. 149-159. Nottingham University Press, Reino Unido

- Jesse Truhenski 2013 Curso Nutrición de Especies Acuáticas . Fc. Cs. Veterinarias UNLP
- JIANG, Z.; Ahn, D. U.; Sim, J. S. 1991b. Effects of feeding flax and two types of sunflower seeds on fatty acid compositions of yolk lipid classes. *Poult. Sci.*, 70, 2467 - 2475.
- Leeson S. 2001. Nutrition of de Chicken fourth Edition 2001. ISBN 0-9695600-4-4
- Leskanich, C. O. and Noble, R. C. 1997. Manipulation of the n- 3 polyunsaturated fatty acid composition of avian eggs and meat. *World's Poult. Sci. J.* 53: 155–183
- Lyons T.P. and Jacques K.A. 2002. Nutritional Biotechnology in de Feed and Food Industries. Pag. 263-272. ISBN 1-891676-38-7
- Lyons and Jacques 2004 Reimagining the feed industries, Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries . ISBN 1-904761-27-5
- M. Jlali,* M. Briens,*† F. Rouffi neau,* F. Mercierand, ‡ P.-A. Geraert,* and Y. Mercier*2 2013 .Effect of 2-hydroxy-4-methylselenobutanoic acid as a dietaryselenium supplement to improve the selenium concentration of table eggs1. <http://www.journalofanimalscience.org/content/91/4/1745>
- MATEOS, G. G. 1991. En: Nutrición y alimentación de gallinas ponedoras. En:eds) de Blas, C.; Mateos, G.G. Nutrición y alimentación de gallinas ponedoras.Madrid: Ediciones Mundi-prensa - Aedos - MAPA. 1991. pp.226-263.
- MINE, Y.; Kovacs-Nolan, J. 2004. Recent advances in eggs protein functionality in the food system. *World's Poult. Sci. J.*, 58, 31 - 39.
- MORAN, E.T. (Jr). 1996. Fat modification of animal products for human consumption. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 58, 1: 91-99.
- NELSON, D.L.; Cox, M.M.; 2000. Lehninger Principles of Biochemistry. New York: Worth Publishers. ISBN 1572591536.
- NOBLE, R. C., Cocchi, M. 1990. Development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. *Brit. Poult. Sci.* 32: 515 - 523.
- NRC. (1994): Nutrient Requirements of Poultry. 9th ed. Natl. Acad. Press,Washington, DC.
- Olson, O.E. and I.S.Palmer. 1796. selenioamino acids in tissues of rat administered inorganic selenium . *metabolism* 25 :299
- P. Cachaldora a, P. García-Rebollar b, C. Alvarez a, J. Mendez ´ a, J.C. De Blas b, 2008 , Double enrichment of chicken eggs with conjugated linoleic acid and Ω 3 fatty acids through dietary fat supplementation , *Animal Feed Science and Technology* 144 pg.315–326
- Rayman Margaret 2005 Selenium in cancer prevention: a review of the evidence and mechanism of action , *Proceedings of the Nutrition Society* (2005), 64, 527–542 DOI:10.1079/PNS2005467
- Sayar Romina. 2012. Posgrado Alimentos funcionales FANUS
- Scheideler, S. E., Jaroni, D. and Froning, G. 1998a. Strain and age effects on egg composition from hens fed diets rich in Ω 3 fatty acids. *Poult. Sci.* 77: 192–196.

- Schrauzer, G. N. 2006. Selenium yeast: Composition, quality, analysis, and safety. *Pure Appl. Chem.* 78:105–109. Schrauzer, G. N. 2006. Selenium yeast: Composition, quality, analysis, and safety. *Pure Appl. Chem.* 78:105–109.
- SELL, J.L., Choo, S. H.; Kondra, P. A. 1968. Fatty acid composition of egg yolk and adipose tissue as influenced by dietary fat and strain of hen. *Poult. Sci.* 47, 1296-1302.
- Selplex 2000, Redefiniendo la suplementación con Selenio, Alltech.
- SIM, J.S.; Bragg, D. B. 1978. Effect of dietary oil, cholesterol, and soyesterol on the lipid concentration and fatty acid composition of egg yolk, liver and serum of laying hens. *Poult. Sci.* 57, 466-472.
- SIMOPOULOS, A.P. (1999) Essential fatty acids in health and chronic disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 3: 560s–569s.
- Simopoulos, A.P., 2000. Symposium: Role of poultry products in enriching the human diet with Ω 3 PUFA. *Poult. Sci.* 79, 961-970.
- SPyRS y SAGPyA, 2008 Resolución conjunta. 118/2008 - 474/2008 Artículo 1363.
- Steven Leeson. 2001. *Nutrition of the chicken* 4th edition. ISBN 0969560044
- Suplemento Avícola <http://www.caena.org.ar/agroindustria/SUPLEMENTO1DIADELAVICULTURANACIONAL.pdf>
- Surai P.F. m N.H.C.Sparks, F. Kaaradas, A.C. Pappas and B.K. Speake 2006. Selenium in poultry nutrition: from improvement of reproductive performance to functional food. *Asut.Poult.Sci.Symp* 2006
- Surai, P.F. 2000. Organic selenium: benefits to animals and humans, a biochemist's view. In: *Proceedings of Alltech's 16th Annual Symposium* (K.A. Jacques and T.P. Lyons. eds). Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp. 205-260.
- Surai, P.F. y Dvorska, J.E. 2001. Dietary organic selenium and egg: from improvement in egg quality to production of functional food. *Proceedings of the IX Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products*, Kusadasi, Turquía, pp. 163–160.
- Terada, A. 1999. Active oxygen species generation and cellular damage by additives of parenteral preparations: selenium and sulfhydryl compounds. *Nutrition* 15:651-655
- U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 2005. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 20. Nutrient Data Laboratory
- United States Department of Agriculture . Agricultural Research Service . National Nutrient Database For Standard Reference Release 28 . <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/112?fgcd=&manu=&facet=&format=&count=&max=35&offset=&sort=&qlookup=eggs>
- Valenzuela Ay Nieto M.S. 2001 Acido docosahexaenoico (DHA) en el desarrollo fetal y en la nutrición materno infantil .*Rev. méd. Chile* v.129 n.10 Santiago oct. 2001
- VALENZUELA, A.; Nieto, M.S. 2001. Docosahexaenoic acid (DHA) in fetal development and in infant nutrition. *Méd. Chil.*, 129, 10: 1203 - 1211.
- YEHUDA, S.; Rabinovitz, S.; Mostofsky, D. I. 1999. *Essential fatty acids are mediators of brain biochemistry and cognitive functions. J. Neurosci. Res.*, 56, 565 - 570.
- Yu, M. M. and Sim, J. S. 1987. Biological incorporation of Ω 3 polyunsaturated fatty acids into chicken eggs. *Poult. Sci.* 66 (Suppl. 1): 95.