



# UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

## FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

Trabajo de Tesis realizado como requisito  
para optar al título de  
DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS

### **Efecto de Diferentes Procesos Aplicados a la Semilla de Chía sobre la Producción de Carne de Pollo Enriquecida en Ácidos Grasos Omega-3**

**Autor:**

**IGLESIAS, Bernardo Fabricio**

Director: Dr. PETRUCCELLI, Miguel Ángel  
Codirector: D.E.A. AZCONA, Jorge Oscar

Sección Avicultura  
INTA EEA Pergamino "Ing. Agr. Walter Kugler"

Miembros del jurado:  
Dra. GARCIA, Pilar Teresa  
Dra. LAGRECA, Liliana  
Dr. TAVELLA, Julio Marcelo

2010





*A mis padres  
A mi abuela*

*Agradecimientos:*

*A las autoridades del INTA, por haberme brindado la posibilidad de realizar el presente trabajo de investigación.*

*A mis compañeros de la Sección Avicultura, por su ayuda, comprensión y haberme permitido crecer junto a ellos.*

*A las chicas del Laboratorio de Calidad de Alimentos del INTA EEA Pergamino, por su entera predisposición.*

*A la gente del Instituto de Tecnología de Alimentos del INTA Castelar y de la Cátedra de Bioquímica de la FCV-UNLP, por su hospitalidad cuando me recibieron en sus laboratorios.*

*A la gente de la sección Avicultura del INTA EEA Concepción del Uruguay.*

*A Luciano y Leticia, Agostina y Bautista que me dieron fuerzas.*

*A mis padres y mi familia por la confianza, el apoyo y el cariño que siempre me brindan.*

*A José Luis, porque gracias a él, está la avicultura en mi presente y estará en mi futuro.*

*En especial a Jorge por haberme ayudado a dar los primeros pasos en la nutrición de aves.*

*Y a todas aquellas personas que, de alguna manera, me han apoyado el desarrollo de este proyecto.*

## Publicaciones derivadas de este trabajo de tesis

- Efecto de diferentes procesos aplicados a la semilla de chía sobre la composición de ácidos grasos y estabilidad oxidativa en carne de pollo. **XIII Congreso Latinoamericano de Grasas y Aceites**. Complejo Metropolitano, Rosario (Sta. Fe), Argentina, 1 al 6 de Noviembre de 2009.
- Efecto de diferentes procesos aplicados a la semilla de chía sobre los parámetros sensoriales de la carne de pollo. **III Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos**. Centro de Eventos y Convenciones Dinosaurio Mall, Córdoba, Argentina, 15 al 17 de Abril de 2009.

## Índice

1	Introducción.....	5
1.1	Ácidos grasos n-3 y la salud.....	6
1.2	Elongación y desaturación de ácidos grasos n-3 y n-6.....	6
1.3	Evolución del consumo de lípidos .....	10
1.3.1	Desbalance n-6/n-3.....	11
1.3.2	Producción a gran escala de aceites vegetales.....	13
1.3.3	Agronegocios y la agricultura moderna .....	14
1.4	Efectos biológicos y funcionales de los AGPI.....	14
1.4.1.1	Importancia de los AGPI en la función cerebral .....	16
1.4.1.2	Metabolismo de eicosanoides.....	17
1.4.1.3	Expresión génica .....	22
1.5	AGPI en las enfermedades crónicas .....	24
1.5.1	Enfermedad cardiovascular.....	25
1.5.1.1	Efectos antiarrítmicos .....	26
1.5.1.2	Efectos hipolipemiantes.....	27
1.5.1.3	Efectos antitrombóticos .....	28
1.5.1.4	Efectos hipotensores .....	28
1.5.2	Diabetes.....	29
1.5.3	Efectos antiinflamatorios .....	31
1.5.4	Artritis.....	32
1.5.5	Psoriasis .....	33
1.5.6	Colitis ulcerativa .....	33
1.5.7	Depresión.....	34
1.5.8	Cáncer .....	35

1.5.8.1	El efecto de los AGPI sobre la proliferación celular y las transducción de señales .....	35
1.5.8.2	Información experimental y clínica .....	35
1.5.8.3	Efectos de los AGPI en la caquexia debida al cáncer .....	37
1.6	Ácido $\alpha$ -linolénico dietario vs. EPA y DHA.....	39
1.7	Ingesta adecuada de AGPI n-3 .....	40
1.8	Fuentes de AGPI n-3.....	41
1.9	Panorama avícola y su consumo en la Argentina.....	43
1.10	Posibilidad de comercialización de productos diferenciados .....	46
1.11	Modificación del perfil lipídico de la carne de pollo a través de la dieta .....	50
1.12	La chía .....	51
1.12.1	Historia .....	51
1.12.2	Descripción botánica .....	53
1.12.3	Aspectos agronómicos .....	60
1.13	Procesos aplicados a los granos.....	62
1.13.1	Molienda.....	62
1.13.2	Extrusión .....	63
1.13.2.1	El proceso de extrusión en húmedo.....	64
1.13.2.2	El proceso de extrusión en seco .....	66
1.13.2.3	¿Que ha ocurrido en el proceso de extrusión?.....	66
1.13.2.4	Efecto de la extrusión sobre los almidones .....	66
1.13.2.5	Efecto de la extrusión sobre las grasas .....	70
1.13.2.6	Efecto de la extrusión sobre la proteína.....	70
1.13.2.7	Efecto de la extrusión sobre la fibra .....	71
1.13.2.8	Vitaminas.....	71
1.13.3	Prensa.....	72
1.14	Digestión, absorción y distribución de lípidos en las aves .....	74

1.14.1	Emulsión y formación de micelas .....	74
1.14.2	Absorción de lípidos .....	76
1.14.3	Metabolismo de las lipoproteínas .....	78
1.14.3.1	Metabolismo de los portomicrones.....	80
1.14.3.2	Metabolismo de las VLDL .....	81
1.14.3.3	Metabolismo de las IDL y LDL .....	82
1.14.3.4	Metabolismo de las HDL.....	82
1.15	Peroxidación lipídica .....	83
1.15.1	Evaluación de la oxidación lipídica de la carne.....	90
1.16	Vitamina E.....	93
1.16.1	Estructura, propiedades y función de la vitamina E .....	93
1.16.2	Transporte de la vitamina E.....	95
1.16.3	Mecanismos moleculares de acción .....	98
1.16.3.1	Secuestrador de radicales libres.....	98
1.16.3.2	Ciclo redox.....	100
1.16.3.3	Efecto de la vitamina E en las membranas .....	102
1.16.3.4	Rol del $\alpha$ -tocoferol en la señalización celular .....	102
1.17	Análisis sensorial .....	103
2	Objetivos .....	108
2.1	Objetivo general.....	109
2.2	Objetivos parciales.....	109
3	Materiales y Métodos .....	110
3.1	Materiales .....	111
3.2	Procesos aplicados a la semilla de chía.....	112
3.2.1	Molienda .....	112
3.2.2	Extrusado.....	112

3.2.3	Prensa (expeller).....	112
3.3	Determinaciones analíticas en los ingredientes.....	113
3.3.1	Análisis proximal .....	113
3.3.1.1	Humedad.....	113
3.3.1.2	Proteínas.....	113
3.3.1.3	Extracto etéreo .....	114
3.3.1.4	Fibra cruda .....	115
3.3.1.5	Cenizas .....	115
3.3.2	Actividad ureásica .....	116
3.3.3	Análisis de ácidos grasos.....	117
3.3.4	Determinación de energía metabolizable .....	117
3.4	Animales e instalaciones.....	118
3.5	Tratamientos.....	119
3.6	Dietas.....	119
3.7	Mediciones de parámetros zootécnicos.....	123
3.8	Acondicionamiento de muestras .....	123
3.9	Determinaciones analíticas en carne.....	123
3.9.1	Grasa intramuscular .....	124
3.9.2	Determinación del perfil de ácidos grasos .....	124
3.9.3	Contenido de colesterol.....	125
3.9.4	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico .....	125
3.9.5	Quimioluminiscencia .....	126
3.9.6	Contenido de vitamina E .....	127
3.10	Evaluación sensorial .....	127
3.11	Análisis estadísticos .....	129
4	Resultados .....	130
4.1	Composición de materias primas .....	131



4.2	Parámetros Zootécnicos .....	136
4.2.1	Consumo.....	136
4.2.2	Peso.....	137
4.2.3	Conversión .....	139
4.2.4	Peso/Conversión.....	140
4.2.5	Faena.....	141
4.3	Parámetros de Laboratorio.....	142
4.3.1	Porcentaje de ácidos grasos .....	142
4.3.2	Estabilidad oxidativa.....	156
4.3.3	Evaluación sensorial .....	162
4.3.4	Aportes de ácidos grasos a la dieta humana.....	169
5	Discusión.....	171
5.1	Composición de materias primas .....	172
5.2	Parámetros zootécnicos.....	174
5.3	Composición corporal.....	177
5.4	Parámetros de laboratorio.....	178
5.4.1	Grasa intramuscular .....	178
5.4.2	Colesterol.....	178
5.4.3	Composición de ácidos grasos.....	179
5.4.4	Ácidos grasos saturados .....	180
5.4.5	Ácidos grasos monoinsaturados.....	181
5.4.6	Ácidos grasos poliinsaturados .....	182
5.4.7	Ácidos grasos poliinsaturados n-6.....	183
5.4.8	Ácidos grasos poliinsaturados n-3.....	185
5.4.9	Relación n-6/n-3.....	189
5.4.10	Estabilidad oxidativa.....	191
5.4.10.1	Índice de instauración.....	191

5.4.10.2	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	192
5.4.10.3	Quimioluminiscencia.....	193
5.4.10.4	Tocoferoles.....	195
5.4.11	Análisis Sensorial .....	196
5.4.12	Comparación entre fuentes vegetales y animales de n-3.....	198
5.4.13	Aportes de ácidos grasos a la dieta humana .....	199
6	Conclusiones.....	201
7	Bibliografía .....	204

## Índice de figuras

Figura 1: Estructura de los ácidos grasos de 18 átomos de carbono .....	7
Figura 2: Elongación de los ácidos grasos de la serie n-6 y n-3 .....	8
Figura 3: Esquema hipotético del consumo de grasas y ácidos grasos y consumo de vitamina E y C .....	11
Figura 4: Relación n-6/n-3 en los lípidos dietarios y prevalencia de diabetes tipo 2.....	12
Figura 5: Metabolismo oxidativo de los ácidos araquidónico y eicosapentaenoico por las vías de la ciclooxigenasa y 5-lipooxigenasa.....	18
Figura 6: Ateroma en corte esquemático de un vaso sanguíneo .....	21
Figura 7: Activación de múltiples vías por acción de los AGPI que afectan la expresión génica.....	22
Figura 8: Posible relación entre AGPI y diabetes.....	30
Figura 9: Resolvinas derivadas del EPA y DHA.....	32
Figura 10: Perfil de ácidos grasos de diferentes alimentos .....	42
Figura 11: Detalles de la planta e inflorescencia de chía .....	55
Figura 12: Detalles de la semilla de chía .....	56
Figura 13: Diagrama del proceso de extrusión .....	64
Figura 14: Diferentes tipos de almidón .....	67
Figura 15: Constituyentes del almidón.....	68
Figura 16: Gránulos crudos y gelatinizados de almidón.....	69
Figura 17: Modelo de prensa a tornillo para la extracción de aceite.....	73
Figura 18: Estructura y acción de la lipasa pancreática .....	75
Figura 19: Síntesis de lípidos en el enterocito y formación de portomicrones .....	78
Figura 20: Metabolismo de las lipoproteínas en aves .....	79
Figura 21: Representación esquemática de la peroxidación de un ácido graso inducida por radicales hidroxilos .....	86

Figura 22: Estructura del malondialdehído.....	90
Figura 23: Estructura química del tocol y tocotrienol.....	94
Figura 24: Reacciones secuestrantes de $\alpha$ -tocoferol.....	99
Figura 25: Relación entre el contenido de extracto etéreo y la energía bruta en semilla de chía con diferentes procesos.....	133
Figura 26: Relación entre extracto etéreo y energía metabolizable verdadera.....	134
Figura 27: Relación entre relación extracto etéreo y aprovechamiento de la energía bruta	134
Figura 28: Perfil de ácidos grasos de lípidos totales en materias primas.....	135
Figura 29: Consumo (% respecto del control).....	137
Figura 30: Peso (% respecto del control).....	138
Figura 31: Conversión (% respecto del control).....	139
Figura 32: Peso/Conversión (% respecto del control).....	141
Figura 33: Porcentaje de ácidos grasos saturados, mono y poliinsaturados.....	144
Figura 34: Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados n-3 y n-3 de cadena larga en carne de ave.....	152
Figura 35: Relación n-6/n-3 en pechuga y pata-muslo.....	154
Figura 36: Efecto de la relación 18:2/18:3 de la dieta sobre la relación 20:4/20:5 de la carne.....	155
Figura 37: Efecto de la relación 18:2/18:3 de la dieta sobre la relación 20:4/20:5 de la carne (dietas con chía).....	156
Figura 38: TBARS (MDA mg/kg tejido) diferenciados por cortes.....	158
Figura 39: Quimioluminiscencia emitida por las pechugas al peroxidarlas con tBH.....	159
Figura 40: Quimioluminiscencia emitida por las pata-muslo al peroxidarlas con tBH.....	160
Figura 41: Correlación entre quimioluminiscencia e índice de insaturación en pata-muslo	161
Figura 42: Relación entre TBARS y quimioluminiscencia en ambos cortes.....	162
Figura 43: Diferencias entre tratamientos en carne fresca de pechuga.....	166

---

Figura 44: Diferencias entre pechuga fresca y conservada ..... 169

## Índice de tablas

Tabla 1: Factores nutricionales que afectan la desaturación en posición $\Delta 6$ y $\Delta 5$ en microsomas de hígado de rata .....	9
Tabla 2: Factores hormonales que afectan la desaturación en posición $\Delta 6$ y $\Delta 5$ en microsomas de hígado de rata .....	10
Tabla 3: Ingesta adecuada de AGPI n-3 en adultos.....	41
Tabla 4: Variación en el perfil de ácidos grasos en aceite de salmón según el origen .....	43
Tabla 5: Composición del muslo y la pechuga de pollo sin piel.....	47
Tabla 6: Contenido y clases de lípidos en pechuga, muslo y piel de pollo .....	48
Tabla 7: Perfil de ácidos grasos de la pechuga, muslo y la piel de pollos alimentados con una dieta estándar.....	49
Tabla 8: Clasificación taxonómica de la chía .....	53
Tabla 9: Análisis proximal de semillas de chía.....	56
Tabla 10: Perfil de ácidos grasos de lípidos totales de semillas de chía .....	57
Tabla 11: Contenido de vitaminas de semillas de chía .....	57
Tabla 12: Concentración de antioxidantes encontrados en extractos de semilla de chía .....	58
Tabla 13: Principales características de las lipoproteínas de pollos.....	79
Tabla 14: Apoproteínas en humanos y aves.....	80
Tabla 15: Radicales libres implicados en las reacciones de oxidación.....	86
Tabla 16: Aldehídos reactivos generados durante la peroxidación lipídica de AGPI .....	89
Tabla 17: Descripción de los tratamientos empleados .....	119
Tabla 18: Alimento iniciador (pre-experimental).....	120
Tabla 19: Alimento crecimiento (experimental).....	121
Tabla 20: Alimento terminador (experimental) .....	122
Tabla 21: Análisis proximal y contenido de energía de las materias primas (base tal cual)	131

Tabla 22: Contenido de extracto etéreo en mezcla chíá-harina de soja antes y después del extrusado (base seca) .....	132
Tabla 23: Perfil de ácidos grasos de materias primas (base tal cual).....	136
Tabla 24: Consumo (g).....	136
Tabla 25: Peso (g).....	137
Tabla 26: Conversión.....	139
Tabla 27: Peso/Conversión .....	140
Tabla 28: Datos de Faena .....	141
Tabla 29: Contenido de grasa intramuscular, colesterol y porcentaje de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados en carne de pollo .....	143
Tabla 30: Porcentaje de ácidos grasos saturados y monoinsaturados en carne de pollo...	145
Tabla 31: Porcentaje de ácidos grasos n-6 en carne de pollo.....	147
Tabla 32: Relaciones entre ácidos grasos de la serie n-6.....	149
Tabla 33: Porcentaje de ácidos grasos n-3, n-3 de cadena larga y relación n-6/n-3 en carne de pollo.....	150
Tabla 34: Relaciones entre ácidos grasos de la serie n-3.....	153
Tabla 35: Parámetros indicadores de estabilidad oxidativa .....	157
Tabla 36: Efecto de la inclusión de chíá en la alimentación de pollos sobre las características organolépticas de pechuga fresca .....	163
Tabla 37: Efecto de la inclusión de chíá en la alimentación de pollos sobre las características organolépticas de muslo fresco .....	164
Tabla 38: Efecto de la inclusión de chíá en la alimentación de pollos sobre las características organolépticas de pata fresca.....	165
Tabla 39: Efecto de la inclusión de chíá sobre las características organolépticas de pechuga fresca y conservada por 6 meses .....	167
Tabla 40: Contenido de AGPI en pechuga.....	169
Tabla 41: Contenido de AGPI en pata-muslo.....	170

## Abreviaturas

°C: grados Celcius

μg: microgramo

μl: microlitro

μM: micromolar

AA: ácido araquidónico

AACC: American Association of Cereal Chemists

ADN: ácido desoxirribonucleico

AG: ácido graso

AGE: ácidos grasos esenciales

AGMI: ácidos grasos monoinsaturados

AGPI: ácidos grasos poliinsaturados

AGS: ácidos grasos saturados

ALA: ácido α-linolénico

AMP: adenosina-5'-monofosfato

AMPc: AMP cíclico; adenosina monofosfato-3',5' cíclico

AOAC: Association of Analytical Chemists

ARN: ácido ribonucleico

ATP: adenosina-5'-trifosfato

BA: Buenos Aires

C: carbono

C16:0: ácido palmítico

C16:1 n-7: ácido palmitoleico

C18:0: ácido esteárico

C18:1 n-9: ácido oleico

C18:2 n-6: ácido linoleico



- C18:3 n-3: ácido  $\alpha$ -linolénico
- C18:3 n-6: ácido  $\gamma$ -linolénico
- C20:3 n-6: ácido dihomo- $\gamma$ -linolénico
- C20:4 n-6: ácido araquidónico
- C20:5 n-3: ácido eicosapentaenoico
- C22:5 n-3: ácido docosapentaenoico
- C22:6 n-3: ácido docosahexaenoico
- ChM: semilla de chía molida
- ChP: expeller de chía
- ChT: semilla de chía extrusada
- CL: cadena larga
- cm: centímetro
- cm<sup>3</sup>: centímetro cúbico
- COX: ciclooxigenasa
- cpm: cuentas por minuto
- CV%: coeficiente de variación porciento
- Dig.: digestible
- DHA: ácido docosahexaenoico
- DPA: ácido docosapentaenoico
- EB: energía bruta
- EEA: Estación Experimental Agropecuaria
- EGF: factor de crecimiento epidermal
- EM: ésteres metílicos
- EMV: energía metabolizable verdadera
- EPA: ácido eicosapentaenoico
- et al.: y colaboradores
- FABP: proteína transportadora de ácidos grasos

g: gramo

h: hora

hab.: habitante

HETE: hidroxieicosatetraenoico

HPEPE: hidroperoxieicosapentaenoico

HPETE: hidroperoxieicosatetraenoico;

hs: horas

IA: ingesta adecuada

ITA: Instituto de Tecnología de los Alimentos

INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

HDL: lipoproteína de alta densidad

HO<sup>•</sup>: radical hidroxilo

HO<sub>2</sub><sup>•</sup>: radical perhidroxilo

HPLC: cromatografía líquida de alto desempeño

IDL: lipoproteína de densidad intermedia

IL: interleuquina

IRAM: Instituto Argentino de Normalización y Certificación

ISO: International Organization for Standardization

Kcal: kilocaloría

Kg: kilogramo

Kg/ha: kilogramos por hectárea

L<sup>•</sup>: radical lipídico primario

LA: ácido linoleico

LCAT: lecitina colesterol acil transferasa

LDL: lipoproteína de baja densidad

LH: lipasa hepática

LO<sup>•</sup>: radical alcoxilo

LOO<sup>•</sup>: radical peroxilo lipídico

LOOH: hidroperóxido lipídico

LPL: lipoproteína lipasa

LT: leucotrieno

m: metro

m<sup>2</sup>: metro cuadrado

M: molar

MDA: malondialdehído

mg: miligramo

mg%: miligramos cada 100 gramos

min.: minuto

Miner.: mineral

ml: mililitro

mm: milímetro

mM: milimolar

M-S: maíz – soja

N: normal

n-3: omega-3

n-6: omega-6

ND: no determinado

O<sub>2</sub><sup>•</sup>: radical superóxido

PCOX: ciclooxigenasa parcial

PG: prostaglandina

PGI: prostaciclina

PL: peroxidación lipídica

PM: portomicrón

PMFS: fenil-metil-sulfonil-fluoruro

PNR: producto no reactivo

QH<sup>•</sup>: radical ubisemiquinona

QH<sub>2</sub>: ubiquinol

QM: quilomicrón

R<sup>•</sup>: radical

Rf: Distancia recorrida por el soluto / Distancia recorrida por el solvente

RO<sup>•</sup>: radical alcoxilo

ROO<sup>•</sup>: radical peroxilo

ROS: especies reactivas de oxígeno

rpm: revoluciones por minuto

s: segundo

SD: desviación estándar

SOD: superóxido dismutasa

TBA: ácido tiobarbitúrico

TBARS: sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico

TCA: ácido tricloroacético

TEP: 1,1,3,3-tetraetoxipropano

Tris: 2-amino-2 hidroximetil propano-1,3 diol

TO<sup>•</sup>: radical tocoferilo

TX: tromboxano

VLDL: lipoproteína de muy baja densidad

UI: índice de insaturación

UV: ultra violeta

v/v: volumen en volumen

vit.: vitamina

# **Efecto de Diferentes Procesos Aplicados a la Semilla de Chía sobre la Producción de Carne de Pollo Enriquecida en Ácidos Grasos Omega-3**

Palabras clave: extrusión, prensa, expeller, estabilidad oxidativa, quimioluminiscencia, evaluación sensorial

## Resumen

Se ha demostrado que la ingesta de ácidos grasos n-3 resulta beneficiosa para la salud del consumidor. La semilla de chía (*Salvia hispanica*) es una fuente rica en ácido  $\alpha$ -linolénico. La disponibilidad de sus nutrientes es baja si se suministra entera. Para mejorar este aspecto, se compararon diferentes tratamientos: T1, control (dieta maíz-soja); T2, chía molida; T3, chía extrusada y T4, expeller de chía. Las dietas se formularon isonutritivas y se suministraron desde los 21 hasta los 49 días de vida. Los tratamientos con chía aportaron 1,5% de ácido  $\alpha$ -linolénico. No se observaron diferencias en respuesta zootécnica, excepto para conversión en T4 que resultó más alta respecto de T1. Con los tres procesos fue posible incrementar el contenido de ácidos grasos n-3 en carne y reducir la relación n-6/n-3. La eficiencia de estos procesos fue mayor en T3, seguida de T4 y por último T2. En estabilidad oxidativa, las pata-muslo del T3 presentaron mayor valor de TBARS y quimioluminiscencia que los demás tratamientos, sin llegar a ser considerados riesgosos. En la evaluación sensorial sobre muestras frescas, las patas y los muslos de los tratamientos con chía no presentaron diferencias entre tratamientos, las pechugas de T4 presentaron un marcado olor y sabor a chía. Pasados 6 meses de congelado, el olor y sabor a chía en T4 se redujeron, por lo que las diferencias no fueron significativas. Se puede concluir que el uso de chía molida o extrusada en dieta de pollos no produjo diferencias en los parámetros zootécnicos analizados, en tanto que el expeller de chía aumentó la conversión y acentuó el olor y sabor a chía. Con los procesos aplicados se lograron mejoras en la incorporación de ácidos grasos n-3 en carne y por lo tanto una reducción en la relación n-6/n-3.

# **Effect of Different Process Applied to Chia Seeds on the Production of Omega-3 Fatty Acid Enriched Poultry Meat**

**Key words:** extrusion, press, expeller, oxidative stability, chemiluminescence, sensory evaluation



## Abstract

The consumption of n-3 fatty acids is beneficial for the health consumers. Chia seed (*Salvia hispanica*) is a source of  $\alpha$ -linolenic acid, an n-3 fatty acid. Their nutrient availability is low when whole seeds are supplied. Different processes were applied to improve this aspect generating the following treatments: T1, control (corn-soy diet); T2, ground chia; T3, extruded chia; T4, chia expeller. Isonutritives diets were supplied between 21 and 49d and the treatments with chia provide 1.5% of  $\alpha$ -linolenic acid. Zootechnical parameters were not affected, except the conversion ratio of T4, which was higher than T1. With the three processes it was possible to increase the n-3 fatty acids content in meat and to reduce the n-6/n-3 ratio being the efficiency of these processes higher in T3, followed by T4 and T2. Oxidative stability of meat from whole leg without saddle bone of T3 was higher in TBARS and chemiluminescence than the others treatments, but the magnitude of this increment was not too high to consider it dangerous. In the sensory evaluation of fresh samples, no differences between treatments were observed in thigh and legs but breasts from T4 had higher chia smell and flavor. After 6 month under freezing conditions, the chia smell and flavor down in T4, so the differences were not significant between treatments. In conclusion, ground chia or extruded chia in the feed did not affect the zootechnical parameters, but chia expeller produced an increment in the feed conversion ratio and increased the chia smell and flavor. With the different processes applied to chia seeds, the n-3 fatty acids incorporation was improved and the n-6/n-3 ratio was reduced.

# **1 INTRODUCCIÓN**

## 1.1 Ácidos grasos n-3 y la salud

Ya en los años 50' numerosos investigadores habían estudiado los efectos de los aceites de maíz y pescado sobre la colesterolemia en pacientes con aterosclerosis (1-5). El aceite de maíz (rico en ácidos grasos poliinsaturados n-6, AGPI n-6) no poseía olor, era límpido y se encontró que bajaba el colesterol, particularmente cuando este reemplazaba a la manteca o la grasa en la dieta. Por otra parte, el aceite de sardina (rico en ácidos grasos poliinsaturados n-3, AGPI n-3) tuvo efectos similares y además bajó la concentración de triacilglicéridos, pero este aceite fue desestimado (4). Los aceites vegetales ricos en AGPI n-6 desplazaron otras grasas en la dieta de los norteamericanos y eventualmente en la dieta de los europeos del oeste, por sus efectos hipocolesteremiantes. Los AGPI n-3, en ese entonces, no fueron considerados como importantes en el control de la enfermedad cardiovascular, a pesar de la información experimental y clínica que hablaba de su importancia (6-9), hasta que a finales de los 70' y en la década del 80' se empezó a estudiar los efectos de la inflamación y trombosis sobre la enfermedad cardiovascular y esta serie de ácidos grasos (AG) volvieron a estar sobre el tapete. (10)

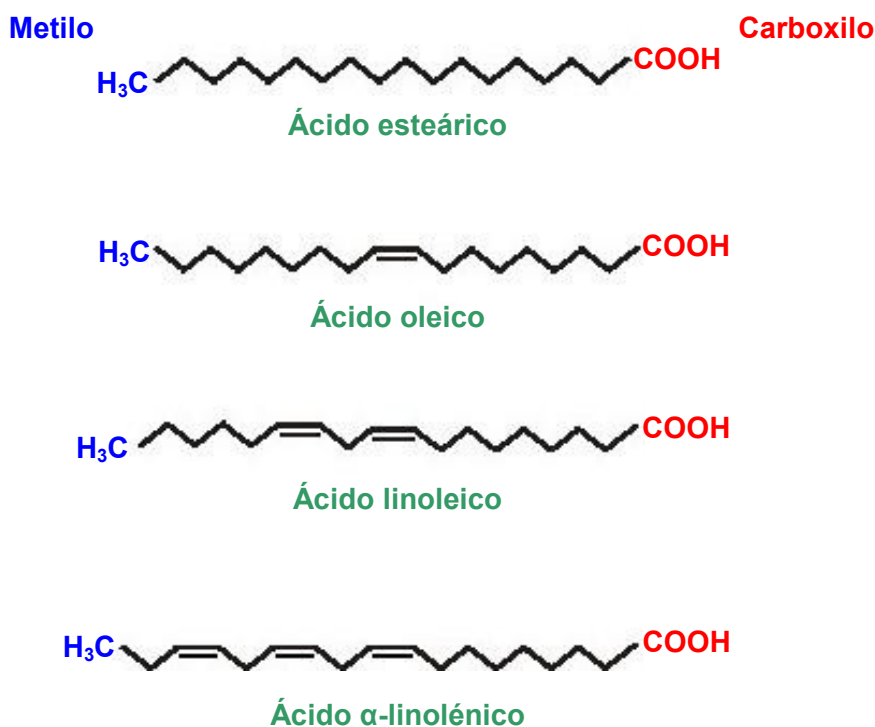
Hoy se sabe que los AGPI n-3 son esenciales para el normal crecimiento y desarrollo de seres humanos y animales, jugando un rol importante en la prevención y manejo de afecciones coronarias (11-14), hipertensión (15,16), diabetes tipo 2 (17,18), enfermedad renal (19,20), artritis reumatoidea (21), colitis ulcerativa (22), enfermedad de Crohn (23) y enfermedad pulmonar obstructiva crónica. (24)

## 1.2 Elongación y desaturación de ácidos grasos n-3 y n-6

Entre los AG insaturados se encuentran los monoinsaturados (AGMI) y los poliinsaturados (AGPI) y dentro de este último se presentan las series n-3 y los n-6. La distinción entre n-3 y n-6 se basa en la ubicación del primer doble enlace, contando desde el extremo metilo de la

molécula de ácido graso (AG). Los AGMI están representados por el ácido oleico, el cual puede ser sintetizado por todos los mamíferos, incluidos los seres humanos. Su doble enlace se encuentra entre los carbonos 9 y 10. (Figura 1)

**Figura 1:** Estructura de los ácidos grasos de 18 átomos de carbono



Los AG n-3 y n-6 son también conocidos como ácidos grasos esenciales (AGE), porque los seres humanos, como todos los mamíferos, son incapaces de incorporar dobles enlaces en las posiciones n-3 o n-6 de los AG, dependiendo exclusivamente de su suministro en la dieta (25). Los AGPI n-6 están representados por el ácido linoleico (18:2n-6, LA) y los n-3, por el ácido α-linolénico (18:3n-3, ALA). (Figura 1)

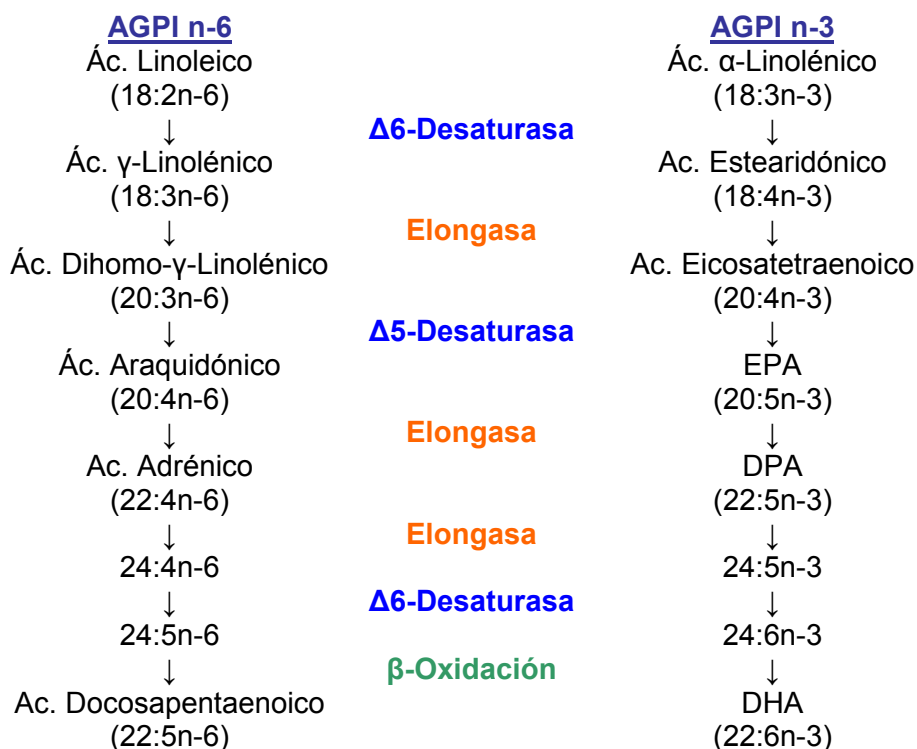
El LA abunda en la naturaleza y se puede encontrar en las semillas de la mayoría de las plantas, excepto en coco, cacao y palma. El ALA, por su parte, se puede hallar en cloroplastos de plantas de hojas verdes. Ambos AGE son metabolizados a AG de cadena más larga de 20 y 22 átomos de carbono. El LA es metabolizado a ácido araquidónico (AA) y el ALA a ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) incrementando el

largo de la cadena y el grado de insaturación por adición de dobles enlaces a la molécula.

(Figura 2)

Los seres humanos y la mayoría de los animales, excepto los carnívoros (leones y gatos) pueden convertir el LA a AA y el ALA a EPA y DHA. (26)

**Figura 2:** Elongación de los ácidos grasos de la serie n-6 y n-3



Esta conversión fue demostrada utilizando ALA deuterado (27), encontrando que existe una competición entre los AGPI n-3 y n-6 por las enzimas desaturadas. Sin embargo, ambas desaturadas ( $\Delta 6$  y  $\Delta 5$ ) tienen preferencia por los AGPI de la serie n-3 en lugar de la n-6 (26,28-31) y su actividad se encuentra modulada por factores nutricionales (Tabla 1) y hormonales (Tabla 2). Existe evidencia que la  $\Delta 6$ -desaturasa decrece con la edad (26). Además, niños prematuros (32), individuos hipersensibles (33) y algunos diabéticos (34) están limitados en su habilidad de convertir ALA en EPA y DHA. Estos hallazgos son importantes y es necesario tenerlos en cuenta a la hora de realizar una recomendación

dietaria. El EPA y DHA se pueden encontrar en aceite de pescado, particularmente los grasos (35). El AA, por su parte, es predominante en los fosfolípidos de animales alimentados con granos.

**Tabla 1:** Factores nutricionales que afectan la desaturación en posición  $\Delta 6$  y  $\Delta 5$  en microsomas de hígado de rata

	Desaturasas	
	$\Delta 6$ -	$\Delta 5$ -
<b>Ácidos grasos dietarios</b>		
Deficiencia de ácidos grasos esenciales	+	+-
Ácido $\alpha$ -linolénico (n-3)	-	+
EPA y DHA	-	-
Ácido linoleico (n-6)	+	+
Ácido $\gamma$ -linolénico (n-6)	+ -	0
Ácido araquidónico	-	-
Ácido oleico	-	-
Ácidos grasos <i>trans</i>	- 0	+ - 0
<b>Otros factores dietarios</b>		
Colesterol		
<i>In vitro</i>	+	+
<i>In vivo</i>	-	-
Proteína		
Bajo consumo	-	-
Alto consumo	+	+
Glucosa, fructosa, glicerol	-	-
Etanol	-	-
Deficiencia de Zn	+ 0	-
Alto consumo de NaCl	+ -	+ -
Ayuno	-	+ -

+ Estimulación; - Inhibición; 0 sin efecto. Adaptado de Bezard. (36)

**Tabla 2:** Factores hormonales que afectan la desaturación en posición  $\Delta 6$  y  $\Delta 5$  en microsomas de hígado de rata

	Desaturasas	
	$\Delta 6$ -	$\Delta 5$ -
Diabetes	-	-
Diabetes + insulina	+	+
Glucagón	-	-
Epinefrina	-	-
ACTH	-	-
Glucocorticoides	-	-
Hipotiroidismo	-	-
Hipotiroidismo + tiroxina	+	+
Hipertiroidismo	-	-
Desoxicorticosterona o aldosterona	-	-
Estradiol (en hembras ovariectomizadas)	-	-

ACTH: Hormona adenocorticotropa; + Estimulación; - Inhibición. Adaptado de Bezard. (36)

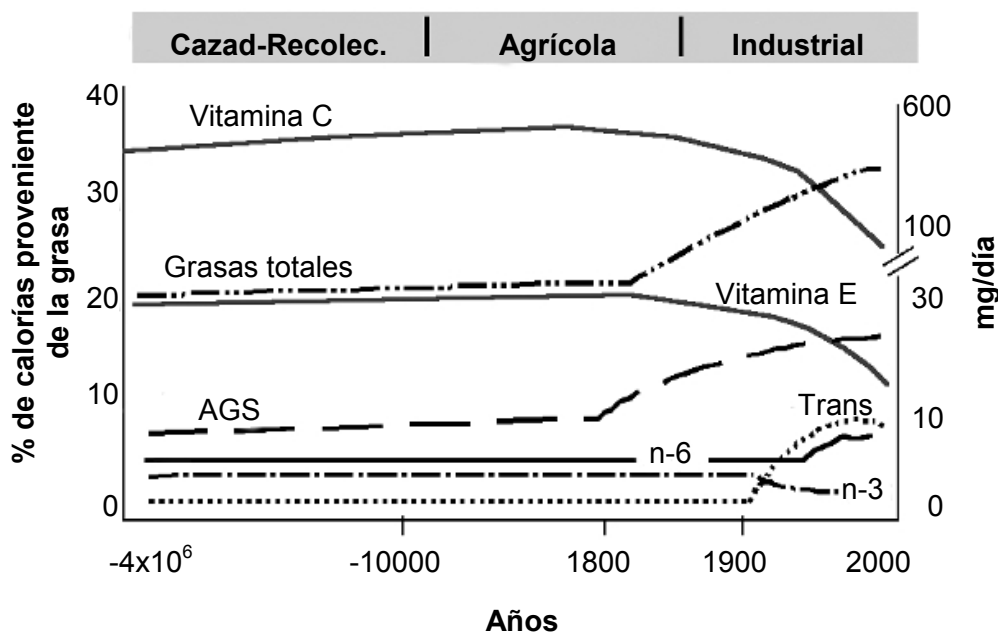
El LA, ALA y sus derivados de cadena larga son componentes importantes en las membranas de células animales y vegetales. En mamíferos y aves los AGPI n-3 son distribuidos selectivamente entre las diferentes clases de lípidos. El ALA se encuentra en triacilglicéridos, en ésteres de colesterol y en muy baja cantidad en fosfolípidos. El EPA se puede encontrar en ésteres de colesterol, triacilglicéridos y en fosfolípidos. En tanto que el DHA se encuentra mayormente fosfolípidos. En mamíferos, incluyendo a los seres humanos, la corteza cerebral (37), retina (38), testículos y esperma (39) son particularmente ricos en DHA. El DHA es uno de los componentes más abundantes en los lípidos estructurales del cerebro. Tanto el DHA como el EPA, pueden derivar directamente de la ingesta o bien por síntesis a partir del EPA o ALA. (27)

### 1.3 Evolución del consumo de lípidos

Estimaciones de la nutrición de los seres humanos desde el Paleolítico al día de hoy han demostrado que la dieta de las poblaciones cazadoras-recolectoras contenía menos ácidos grasos saturados (AGS) que la dieta actual (40). A su vez, la dieta de aquel entonces contenía pequeñas cantidades de AGPI, que se repartía prácticamente en partes iguales

entre las series n-6 y n-3 (relación 1/1 a 2/1) y muy poca cantidad de AG *trans*, en comparación a las dietas actuales. (Figura 3) (40-43)

**Figura 3:** Esquema hipotético del consumo de grasas y ácidos grasos y consumo de vitamina E y C



Adaptado de Simopoulos. (44)

### 1.3.1 Desbalance n-6/n-3

Antes de los años 40' el aceite de hígado de bacalao fue consumido como fuente de vitaminas A y D a una dosis de una cucharada de té por día. Una vez que se logró la síntesis de estas vitaminas, el consumo de aceite de hígado de bacalao disminuyó drásticamente, lo que llevó en los últimos 100 años, a un cambio en la relación n-6/n-3 en la alimentación del mundo occidental (Figura 3) (41). Por millones de años existió un balance entre los AG de las series n-6 y n-3, que coincidió con la evolución del género *Homo*, ocurriendo cambios genéticos particularmente en respuesta a estas influencias dietarias (40). Sin embargo, en los pasados 100-150 años ocurrieron cambios dietarios que son un fenómeno totalmente nuevo en la evolución humana.

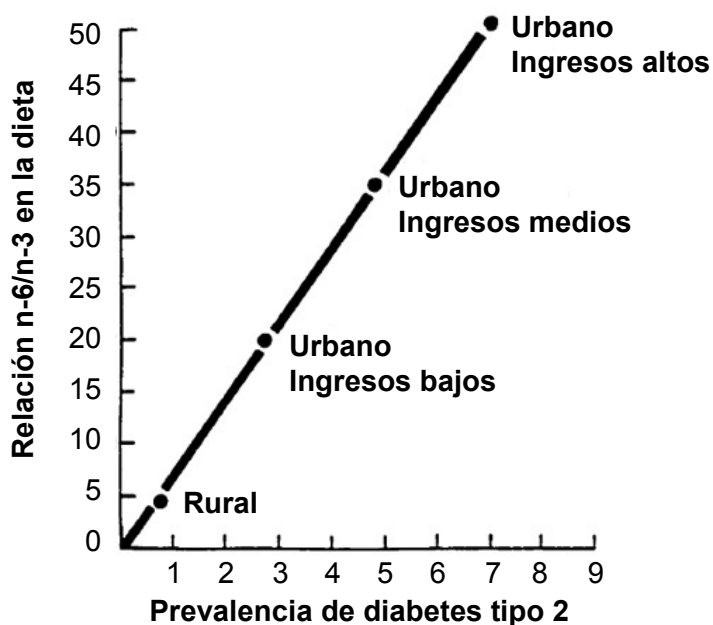


Desde que apareció el *Homo sapiens* hace aproximadamente unos 40000 años, su constitución genética prácticamente no ha cambiado.

Diez mil años atrás, la agricultura comenzó a traer lentamente cambios en el consumo de alimentos y desde la revolución industrial, estos han ocurrido de manera más abrupta. Dichos cambios se reflejaron en un incremento en el consumo de grasa animal proveniente de ganado alimentado con granos (ricos en AGPI n-6) que, asociado a un descenso del consumo de pescado, acarrió a un desbalance de la relación n-6/n-3. La relación que era de 1/1, en la actualidad se estima cercana a 20-25/1.

Al aumentar la relación n-6/n-3 en la dieta, la tasa de muerte por enfermedad cardiovascular aumentó (45), así como también se incrementó la prevalencia de diabetes tipo 2. (Figura 4)  
(18)

**Figura 4:** Relación n-6/n-3 en los lípidos dietarios y prevalencia de diabetes tipo 2



Adaptado de Rahelja. (18)

Por otra parte, el aumento en la ingesta de AGPI n-6 llevó a un incremento de eicosanoides derivados del AA, específicamente prostaglandinas (PG), tromboxanos (TX), leucotrienos

(LT), hidroxiácidos y lipoxinas que se vio reflejado en un incremento de la viscosidad de la sangre, vasoespasmos y vasoconstricción (44), disminución del tiempo de sangrado (46) y estimulación del sistema inmune (47). Además esta serie de AG favorece la oxidación del colesterol LDL (48,49) provocando la formación de placas ateromatosas.

### **1.3.2 Producción a gran escala de aceites vegetales**

El incremento del consumo de AGPI n-6 en los últimos 100 años se debió al desarrollo de la tecnología para extraer aceite vegetal y a la agricultura moderna con énfasis en la alimentación del ganado con granos (siendo estos son ricos en AGPI n-6) (51), lo que condujo a la producción de carne con elevado contenido de AGPI n-6 y pobre en n-3 (50). Esta particularidad no es exclusiva del ganado vacuno, sino que lo mismo se ha observado en peces de criadero (51) y huevos. (52,53)

La invención de la prensa de tornillo continua y el proceso de desodorización por vaporización hicieron posible la producción industrial de aceite vegetal para la cocción (54). La extracción de aceite por solventes se desarrolló luego de la 1<sup>ra</sup> Guerra Mundial con lo que la producción de aceite a gran escala se hizo más eficiente y económica. Subsecuentemente, se utilizó la hidrogenación para solidificar estos aceites. La hidrogenación parcial selectiva del aceite de soja reducía el contenido de ALA mientras que dejaba estable la cantidad de LA.

En un principio se buscó reducir el contenido de ALA por los problemas organolépticos que este acarreaba. Sin embargo, luego se descubrió que el proceso de hidrogenación producía AG *trans* que llevaban a un incremento del colesterol sérico en los consumidores. (55,56)

Como se comentara anteriormente, los AGPI n-6 son capaces de reducir la colesterolemia y fue el argumento dominante para promover su utilización en reemplazo de las grasas saturadas (57), lo que llevó a que la dieta occidental actual incremente el contenido de grasas y sobre todo el de AG n-6.

### **1.3.3 Agronegocios y la agricultura moderna**

Los agronegocios contribuyeron a disminuir el contenido de AGPI n-3 en la carcasa de los animales. Se sabe que los animales salvajes y aves que se alimentan de plantas silvestres son muy delgados, con un contenido graso en la carcasa de solo el 3,9% (58), y que contienen alrededor de 5 veces más AGPI por gramo que los animales domésticos (50,59). En cambio, la carne vacuna proveniente de animales alimentados a granos contiene muy poca o cantidades indetectables de ALA debido a que los granos con que se alimenta a estos animales son ricos en AGPI n-6 y pobres en n-3 (60), mientras que los bovinos alimentados bajo condiciones de pastoreo tienen niveles más altos de este último tipo de AG. (61)

La agricultura moderna con su enfoque puesto en la producción ha disminuido el contenido de AGPI n-3 de muchos alimentos: vegetales de hojas verdes, carnes, huevos e incluso pescado (51,52,62,63). En este último caso la acuicultura moderna produce peces que contienen menos AGPI n-3 que aquellos que crecieron en libertad. (51)

## **1.4 Efectos biológicos y funcionales de los AGPI**

El LA, ALA y sus derivados de cadena larga son componentes importantes de membranas celulares tanto vegetales como animales.

Cuando los seres humanos ingieren AGPI n-3, estos reemplazan parcialmente los AG de la serie n-6 en las membranas de prácticamente todas las células, sobre todo en plaquetas, eritrocitos, neutrófilos, monocitos y hepatocitos (10). Como resultado, los AGPI n-3 regulan el metabolismo de las prostaglandinas y disminuyen los triacilglicéridos, y en altas dosis, tienen efectos antitrombóticos y antiinflamatorios. (11,35,64-67)

Los efectos hipolipemiantes, antitrombóticos y antiinflamatorios de los AGPI n-3 han sido estudiados extensamente con modelos animales, cultivos de tejidos y en células (68). Los primeros estudios se enfocaron en los mecanismos que involucran eicosanoides. Aunque

recientemente, las investigaciones se están enfocando en los efectos de los AG sobre la expresión génica, que a través de estudios moleculares, se ha encontrado que los AG alteran rápida y directamente la transcripción de genes específicos (69). A su vez, los AGPI n-3 pueden actuar como segundos mensajeros, sustituyendo las rutas clásicas del AMP cíclico o inositol trifosfato o bien modularlas amplificando, atenuando o desviando la señal. (70)

Tanto el ALA como el LA son considerados nutricionalmente como AGE. Sin embargo, todos los síntomas clásicos de la deficiencia de AG (dermatitis, retraso en el crecimiento e infertilidad) pueden ser revertidos sólo con AG de la serie n-6.

Según Lauritzen et al. (71), estos síntomas están relacionados con la función biológica de los AG de la serie n-6:

- el LA es un componente estructural en ceramidas que conforma en la piel una barrera al agua;
- el AA es un precursor de eicosanoides, los cuales son hormonas de acción local que participan en un sinnúmero de condiciones tanto fisiológicas como patológicas (ej. iniciación del parto, agregación plaquetaria, regulación renal de electrolitos, implantación del blastocisto y activación de células inmunes); y
- los AGPI n-6 posiblemente jueguen también un rol como segundos mensajeros en los procesos de transducción de señales a través de las membranas celulares.

Por otra parte, la deficiencia de LA se puede desarrollar como una condición secundaria a otros desórdenes tales como malnutrición energética o proteica y malabsorción de grasas o bien como consecuencia de nutrición parenteral con cantidades inadecuadas de LA.

En un primer momento se creyó que los AGPI n-6 podían sustituir, en parte, a los de la serie n-3, y disminuir los síntomas de su deficiencia (ej. retardo en el crecimiento), pero actualmente se considera que estos tienen roles distintos.

Los efectos biológicos de los AGPI n-3 dietarios en el organismo, según Lauritzen et al. (71), son:

- proveer de energía y átomos de carbono;
- servir de precursor para “eicosanoides n-3”, sobre todo el EPA, con menor potencia que aquellos provenientes de los AGPI n-6;
- formar parte de la membrana fosfolipídica principalmente de células cerebrales y de la retina.

Deficiencias de AGPI n-3 conducen a la pérdida de DHA en los fosfolípidos de cerebro y segmentos externos de la retina con un reemplazo compensatorio realizado con 22:5n-6. Este cambio menor en la estructura de los fosfolípidos de membrana es suficiente para llevar a la pérdida de memoria, problemas en el aprendizaje y deterioro de la agudeza visual. (71)

#### *1.4.1.1 Importancia de los AGPI en la función cerebral*

Los AGPI, especialmente el AA y el DHA son acilados en la membrana fosfolipídica de los vertebrados. Los AGPI suman entre el 21 y 36% de los AG en las membranas de todas las células, pero las proporciones de AG de 20 y 22 átomos de carbono varían considerablemente entre tejidos.

El sistema nervioso es el tejido con la segunda concentración más alta de lípidos, solo superada por el tejido adiposo. En el cerebro adulto entre 50 y 60% de su peso seco son lípidos, y aproximadamente un 35% de estos lípidos son AGPI (72), cuya mayoría son AGPI CL (especialmente EPA y DHA). El tejido nervioso, como el que se encuentra en cerebro, retina y membranas sinápticas es especialmente rico en DHA (73). Esta distribución relativa denota el posible rol en las membranas de este tejido:

- la alta concentración de DHA en las membranas sinápticas se correlacionó con el desarrollo de la sinapsis; (74)
- ratas con deficiencia crónica de AA presentaron alteraciones en la transmisión dopaminérgica en la corteza frontal; (75)

- los AGPI n-3 en las membranas neuronales afectó la actividad de las bombas y canales iónicos; (76)
- la composición precisa de AG de las membranas puede afectar las estructuras terciarias y cuaternarias de los receptores de membrana, tales como los receptores colinérgicos, adrenérgicos, dopaminérgicos y de glutamato (NMDA) y el funcionamiento de los neurotransmisores asociados; (77-79)
- deficiencia de los AGE, en modelos animales, se ha asociado con la disrupción de la integridad neuronal (76,80) y déficit en la función visual y cognitiva. (81)

#### 1.4.1.2 *Metabolismo de eicosanoides*

Los AGE sirven, en las membranas plasmáticas, de sustrato para las enzimas ciclooxigenasa (COX) y lipooxigenasa (LOX) y son convertidos en un sinnúmero de compuestos de acción similar a las hormonas que tienen una vida media muy corta y poseen gran actividad, los cuales son conocidos como eicosanoides.

Las familias de las prostaglandinas, leucotrienos y compuestos relacionados son llamados eicosanoides porque derivan de AG de 20 átomos de carbono, que contienen 3, 4 o 5 dobles ligaduras (AA, EPA y ácido dihomo- $\gamma$ -linolénico) e incluye prostaglandinas (PG), prostaciclina (PGI), tromboxanos (TX) y leucotrienos (LT).

En mamíferos, el AA es el precursor más abundante; este puede provenir del LA de la dieta o bien ser ingerido como tal. El araquidonato es esterificado a los fosfolípidos de la membrana celular o a otros lípidos complejos; cuando la concentración celular de AA libre es muy baja, la biosíntesis de eicosanoides depende primariamente de su liberación de los almacenajes celulares por la fosfolipasa A<sub>2</sub>.

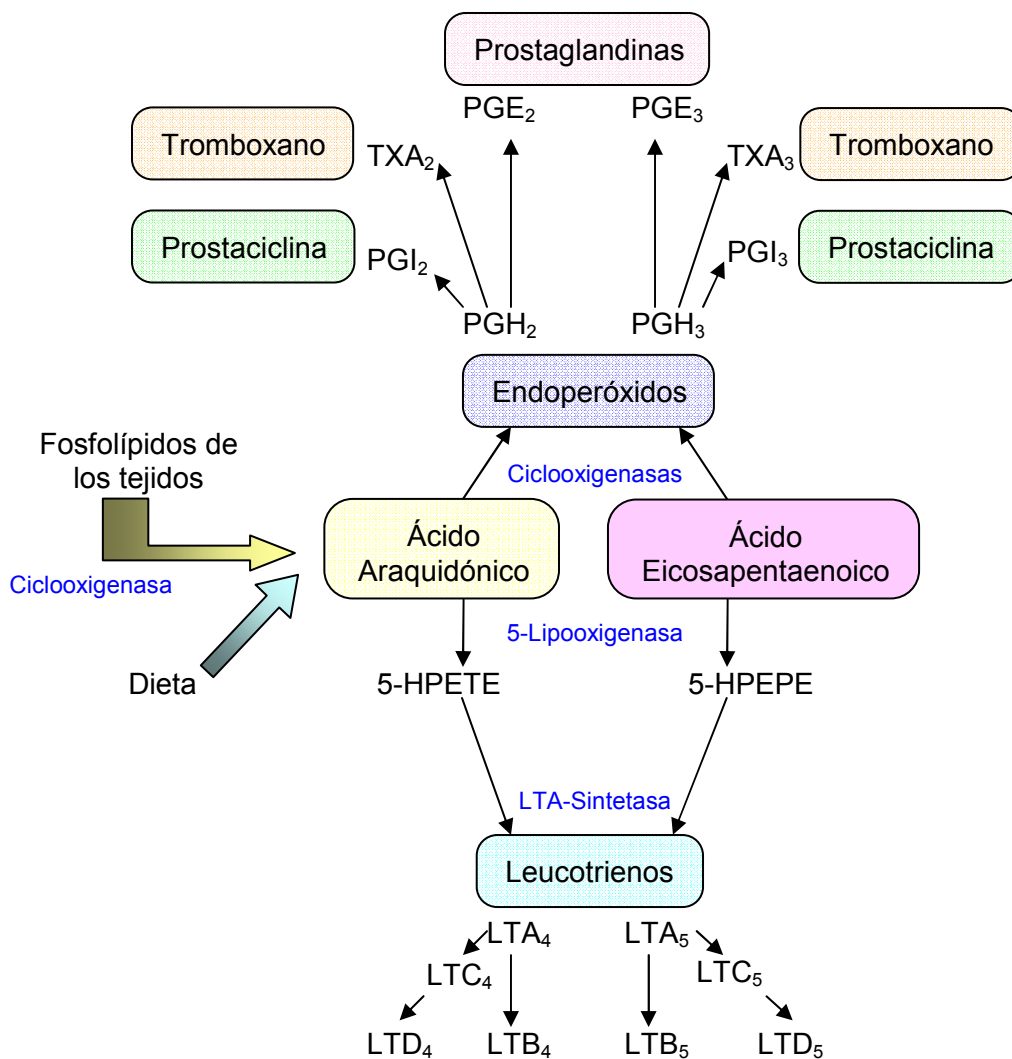
Los eicosanoides tienen influencia sobre numerosas actividades metabólicas, incluyendo agregación plaquetaria, inflamación, hemorragia, vasoconstricción y vasodilatación, presión sanguínea y función inmune.

En particular el AA es sustrato para las PG de la serie 2, PGI, TX y LT de la serie 4.

El EPA, en cambio, es sustrato de prostanoïdes de la serie 3 y LT de la serie 5. (Figura 5)

La respuesta inmune mediada por AGPI puede ser alterada por cambios en la producción de mediadores inmunológicos como citoquinas.

**Figura 5:** Metabolismo oxidativo de los ácidos araquidónico y eicosapentaenoico por las vías de la ciclooxigenasa y 5-lipooxigenasa



5-HPETE: 5-hidroperoxieicosatetraenoico; 5-HPEPE: 5-hidroperoxieicosapentaenoico.  
Adaptado de Simopoulos. (82)

De los precursores AA y EPA, la síntesis de prostaglandinas es llevada a cabo por la ciclooxigenasa (COX), un complejo ubicuo de enzimas microsomales (también llamada endoperóxido sintetasa).

Hay tres isoformas de esta enzima: la COX-1, la COX-2 y la COX-3. La primera es constitutiva, está presente en la mayoría de las células (ej. mucosa gástrica, vasculatura, glomérulo y tubos colectores del riñón), y dentro de estas está más concentrada en el retículo endoplásmico.

En contraste, la COX-2 normalmente no está presente, pero puede ser inducida en los sitios de inflamación, tanto en el retículo endoplásmico como sobre la superficie del núcleo, por determinados factores como citoquinas inflamatorias (IL-1, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ), factores de crecimiento (TGF- $\beta$ , EGF), promotores tumorales (ésteres de forbol) y AMPc. Estas inducciones pueden ser inhibidas por acción de los glucocorticoides como la dexametasona (83-85). Por otra parte, los antiinflamatorios no esteroides compiten directamente con el araquidonato por las enzimas COX-1 y COX-2 ocupando el sitio activo. (84)

La COX-3 es sintetizada a partir del gen que codifica la COX-1 con la única diferencia que la COX-3 retiene 1 intron en su ARNm. Este cambio estructural hace que la COX-3 se oriente a nivel celular hacia el retículo endoplásmico y la envoltura nuclear; la COX-3 posee capacidad de realizar glicosilación similar a la realizada por la COX-1 y COX-2, es decir, tiene la capacidad de sintetizar PGs a partir del AA. La COX-3 es constitutiva como la COX-1 y no inducida como la COX-2 (86,87), igualmente su concentración es inversa a la concentración de peróxidos en los tejidos (88-90). La mayor concentración de la isoenzima es a nivel vascular del sistema nervioso central y su función es a nivel central involucrando mecanismos tanto encefálicos como medulares, siendo responsables del dolor a nivel central (91). No es claro cómo las PGs COX-3 participan en la instauración del dolor a nivel central, pero sí que la inhibición de la COX-3 produce analgesia a este nivel. (92)



A su vez, se han encontrado dos ciclooxigenasas parciales (PCOX), la PCOX-1a y la PCOX-1b, se originan de forma similar a la COX-3 pero no poseen la capacidad de producir PGs y hasta el momento no se ha postulado función alguna para estas.

Los sustratos preferidos de las enzimas COXs contienen al menos tres doble ligaduras en posiciones bien definidas, y estos son el ácido dihomo- $\gamma$ -linolénico, el AA y el EPA, quienes contienen 3, 4 y 5 dobles ligaduras, respectivamente. Otro AGPI n-3, el DHA, inhibe la COX-1 (93). Por otra parte la COX-2 parece ser mucho más flexible que la COX-1 para oxidar AGPI de 18 átomos de carbono e incluso mucho más eficiente. (84)

Más recientemente una ruta metabólica “no ortodoxa” para la oxidación de AGPI ha sido encontrada. En particular, los AGPI derivados de membranas fosfolipídicas pueden sufrir una oxidación *in vivo* iniciada por radicales libres, autooxidación, por la citocromo P450 y posiblemente por el estallido oxidativo de las células inflamatorias, generando una mezcla compleja de hidroperóxidos, epóxidos y peróxidos cíclicos (94). De un interés médico particular son los isoprenoides y epóxidos de AA y otros AGPI denominados genéricamente isoprostanos. Estos constituyen una familia de compuestos relacionados con las prostaglandinas, que actúan como autacoides (sustancias que tienen acción similar a la de hormonas pero con alcance local). El índice de isoprostanos urinarios ofrece un método útil para estimar la peroxidación lipídica (PL) en varias enfermedades.

Los epóxidos del ALA son tóxicos, mientras que los del AA tienen un amplio rango de efectos biológicos, en particular el 5,6-epóxido del AA es un excelente sustrato de la COX y la tromboxano sintetasa, con efectos vasculares y renales. (95,96)

Los metabolitos del EPA, DHA y AA presentan funciones que compiten entre sí. La ingestión de EPA y DHA reemplaza al AA de las membranas fosfolipídicas en prácticamente todas las células, especialmente plaquetas, eritrocitos, neutrófilos, monocitos y hepatocitos. De esta manera se afecta el metabolismo de los eicosanoides (97,98) disminuyendo la producción de:

 PGE<sub>2</sub>,

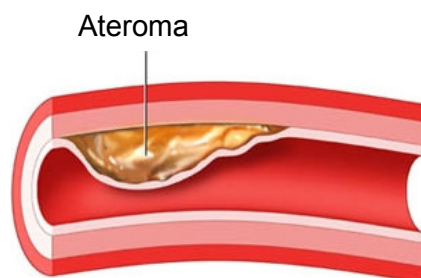
- TXA<sub>2</sub>, un potente factor de agregación plaquetaria y vasoconstrictor, y
- LTB<sub>4</sub>, un inductor de la inflamación y potente inductor de la quimiotaxis y adherencia de los leucocitos;

e incrementando la producción de:

- TXA<sub>3</sub>, un débil factor de agregación plaquetaria y vasoconstrictor,
- PGI<sub>3</sub>, un activo vasodilatador e inhibidor de la agregación plaquetaria, sin disminuir la PGI<sub>2</sub>, con el consecuente aumento de las prostaciclina total, y
- LTB<sub>5</sub>, un débil inductor de la inflamación y débil agente quimiotáctico.

En tanto que los eicosanoides derivados del AA son biológicamente activos en pequeñas cantidades y, en grandes cantidades, contribuyen a la formación de trombos y ateromas (Figura 6), al desarrollo de desórdenes inflamatorios y alérgicos y a la proliferación celular. Aquellas dietas ricas en AGPI n-6 hacen que un individuo pase de un estado fisiológico a uno protrombótico y proagregatorio, con incremento en la viscosidad de la sangre, vasoespasmo y vasoconstricción y disminución del tiempo de sangrado. A su vez, este último es más corto en pacientes con hipercolesterolemia (99), hiperlipoproteinemia (100), infarto de miocardio, otras formas de aterosclerosis, diabetes tipo 2, obesidad e hipertrigliceridemia.

**Figura 6:** Ateroma en corte esquemático de un vaso sanguíneo

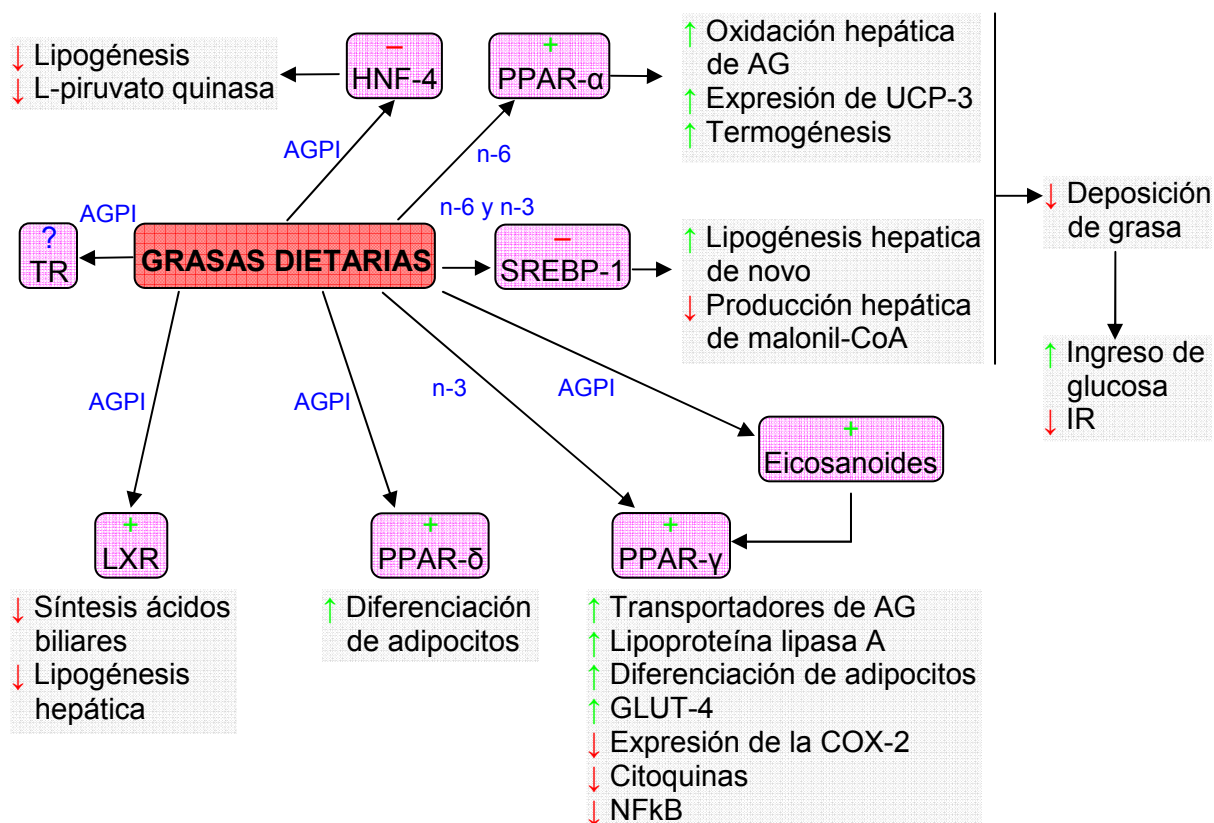


Recientemente una investigación ha demostrado que en un corto tiempo, un nivel modesto de AGPI n-3 en la dieta estabilizan las placas ateromatosas, reduciendo el riesgo de accidente cerebro-vascular en pacientes con un avanzado grado de aterosclerosis carotídea. (101)

1.4.1.3 Expresión génica

Los procesos catabólicos están fuertemente regulados para asegurar la generación de la energía necesaria para las funciones celulares. (Figura 7)

**Figura 7:** Activación de múltiples vías por acción de los AGPI que afectan la expresión génica



Se ha encontrado que los AGPI n-6 y n-3 dietarios ejercen influencias sobre numerosas vías metabólicas y sobre el crecimiento celular:

- la ingesta de AGPI CL (ej. EPA) incrementa la oxidación de AG en mitocondrias y peroxisomas; (102,103)
- el consumo de ALA suprime la hiperproliferación de queratinocitos asociados con deficiencia de AGE; (104)
- el consumo de AA promueve el crecimiento celular en el cáncer mamario químicamente inducido (105) y estimula la conversión de preadipocito a adipocito; y
- al disminuir la relación AA/EPA reduce el riesgo de metástasis. (106)

Además, se ha encontrado que, cambios en los ARN mensajeros que codifican numerosas enzimas lipogénicas pueden ser detectados en pocas horas luego de alimentar a los animales con dietas ricas en AGPI n-3. (107,108)

Estos efectos se mantienen siempre y cuando se mantengan los AGPI n-3 en la dieta, los AG actúan como “hormonas” en el control de la actividad o abundancia de factores de transcripción.

El descubrimiento de que algunos AG puedan actuar como “hormonas” que controlan la actividad de los factores de la transcripción ha demostrado por primera vez que los AG no son meramente pasivos proveedores de energía sino que además son reguladores del metabolismo. Este hallazgo abre la posibilidad a nuevas perspectivas para profundizar el entendimiento del metabolismo energético e intervenciones terapéuticas.

Con la aplicación de técnicas de biología molecular se ha descubierto que los AGPI generan cambios en la expresión génica que preceden a cambios en la composición de la membrana celular por acción directa sobre factores de la transcripción nuclear. (109,110)

El PPAR- $\alpha$  fue el primer factor de transcripción identificado como un receptor de AG. Con esto, sumado a los hallazgos metabólicos de los AGPI n-6 y n-3, se puede decir que los

AGPI son potentes inductores de la oxidación y potentes supresores de la síntesis de AG y triacilglicéridos. (102,103,111)

La activación farmacológica de PPAR- $\alpha$  y PPAR- $\gamma$  reduce los niveles de lípidos en músculo y tejido adiposo y mejora la sensibilidad de los tejidos a la insulina (112,113). Los AGPI n-3 son débiles agonistas de los PPARs, si se los compara con los agonistas farmacológicos (ej. tiazolidinedionas); aunque los AGPI n-3 tienen un efecto significativo sobre la sensibilidad a la insulina en varios tejidos, particularmente en músculo esquelético. (114)

### **1.5 AGPI en las enfermedades crónicas**

En medicina, se llama enfermedad crónica a aquellas enfermedades de larga duración, cuyo fin o curación no puede preverse claramente o no ocurrirá nunca. No hay un consenso acerca del plazo a partir del cual una enfermedad pasa a considerarse crónica; pero por término medio, toda enfermedad que tenga una duración mayor a tres meses puede encuadrarse como tal.

En epidemiología se entienden como enfermedades crónicas aquellas enfermedades de alta prevalencia y no curables. En general, incluyen enfermedades cardiovasculares (cardiopatía isquémica, insuficiencia cardiaca, enfermedad cerebrovascular), enfermedades neoplásicas sin tratamiento curativo, enfermedades respiratorias crónicas (enfermedad pulmonar obstructiva crónica y asma crónica), enfermedades osteoarticulares invalidantes (artritis reumatoides y artrosis severa), enfermedades invalidantes (hipoacucia y ceguera), diabetes mellitus, entre otras.

Hoy día, muchos países están promocionando iniciativas que mejoren el tratamiento y la gestión integral de estas enfermedades. (115)

### 1.5.1 Enfermedad cardiovascular

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en todo el mundo. Cada año mueren más personas por enfermedad cardiovascular que por cualquier otra causa. (116)

Se calcula que en 2005 murieron por esta causa 17,5 millones de personas, lo cual representa un 30% de todas las muertes registradas en el mundo; 7,6 millones de esas muertes se debieron a cardiopatía coronaria, y 5,7 millones a accidentes cerebro-vasculares. Las muertes por enfermedad cardiovascular afectan por igual a ambos sexos, y más del 80% se producen en países de ingresos bajos y medios. (116)

Se calcula que en 2015 morirán cerca de 20 millones de personas por enfermedad cardiovascular, sobre todo por cardiopatías y accidentes cerebro-vasculares, y se prevé que siga siendo la principal causa de muerte. (116)

Dentro de las enfermedades cardiovasculares, es decir aquellas que afectan al corazón y a los vasos sanguíneos, se pueden encontrar:

- la cardiopatía coronaria – enfermedad de los vasos sanguíneos que irrigan el músculo cardíaco (miocardio);
- las enfermedades cerebro-vasculares – enfermedades de los vasos sanguíneos que irrigan el cerebro;
- las arteriopatías periféricas – enfermedades de los vasos sanguíneos que irrigan los miembros superiores e inferiores;
- la cardiopatía reumática – lesiones del miocardio y de las válvulas cardíacas debidas a la fiebre reumática, una enfermedad causada por bacterias del género *Streptococcus*;
- las cardiopatías congénitas – malformaciones del corazón presentes desde el nacimiento; y

- las trombosis venosas profundas y embolias pulmonares – coágulos de sangre (trombos) en las venas de las piernas, que pueden desprenderse (émbolos) y alojarse en los vasos del corazón y los pulmones produciendo su obstrucción.

Los ataques al corazón y los accidentes cerebro-vasculares suelen ser fenómenos agudos que se deben, sobre todo, a obstrucciones que impiden que la sangre fluya hacia el corazón o el cerebro. La causa más frecuente es la formación de depósitos de grasa en las paredes de los vasos sanguíneos que irrigan el corazón o el cerebro. Los accidentes cerebro-vasculares también pueden deberse a hemorragias de los vasos cerebrales o coágulos de sangre.

Estudios epidemiológicos y de intervención indican que los AGPI n-3 reducen la mortalidad debida a la enfermedad cardiovascular. Estos actúan a bajas dosis y el consumo de pescado 1 o 2 veces por semana es suficiente para proveer protección cuando se compara con la ausencia de consumo. (117)

#### 1.5.1.1 Efectos antiarrítmicos

Numerosos estudios han indicado que incluso con bajas concentraciones de AGPI n-3 dietario se reduce drásticamente la arritmia cardíaca (118). Esto sumado a la inhibición de la síntesis de TX en el miocardio (119) y a la reducción de la respuesta cardíaca a la estimulación con  $\alpha$ 1-adrenérgicos (120) serían los responsables del efecto protector de los AGPI n-3 sobre la mortalidad por enfermedad coronaria.

Christensen et al. (121) indicaron un efecto antiarrítmico de los AGPI n-3 debido a un cambio favorable en el balance vagal/simpático. Esta evidencia es indirecta, pero concuerda con la gran mayoría de la evidencia experimental y clínica, donde un cambio en el balance vagal/simpático a favor del primero disminuye la susceptibilidad a la arritmia cardíaca y la muerte súbita. Pese a estos hallazgos, los mecanismos por los cuales los AGPI n-3 tienen una acción antiarrítmica no se conocen en detalle.

Por otra parte, se ha demostrado que niveles basales de AGPI n-3 CL en sangre se correlacionaron negativamente con el riesgo de muerte súbita (122). La información epidemiológica sugiere que los beneficios de los AGPI n-3 dietarios se centran en una reducción de la muerte por paro cardíaco. Más aún, un estudio reveló que un consumo de EPA mayor a 5,5g/mes redujo el riesgo de paro cardíaco primario en un 50% (123). Por otra parte el consumo de AGPI n-3 reduce la mortalidad en pacientes que sufrieron infarto de miocardio. (11,124)

Elevadas dosis los AGPI n-3 tienen numerosos efectos benéficos (117) entre los que se pueden encontrar:

- actúan favorablemente sobre las características de la sangre, reduciendo la agregación plaquetaria y la viscosidad sanguínea,
- bajan los triacilglicéridos en sangre,
- exhiben efectos antitrombóticos y fibrinolíticos,
- reducen el daño celular producido por el efecto isquemia/reperusión.

#### 1.5.1.2 Efectos hipolipemiantes

El factor de riesgo que ha recibido más atención en cuanto a su influencia en la enfermedad cardiovascular es el colesterol (125). Está bien establecido que el riesgo de desarrollar una enfermedad cardiovascular está directamente relacionado con los niveles de colesterol en suero. Incluso se ha demostrado que en diferentes culturas el colesterol está directamente relacionado con la mortalidad debida a enfermedad cardiovascular. (126)

Cuatro de las cinco principales lipoproteínas en plasma tienen un rol importante en el transporte del colesterol y otros lípidos. Tres de ellas han sido asociadas con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular: VLDL, LDL e IDL. Las dos últimas son consideradas muy aterogénicas (producen cambios degenerativos en las paredes arteriales), mientras que



la primera está aún en discusión. Con una función opuesta se encuentra a la HDL que es antiaterogénica. (126)

Los efectos de los AGPI n-3 son similares a aquellos de la serie n-6 al reemplazar los AGS de la dieta. Los AGPI n-3 tienen además el beneficio de bajar consistentemente la concentración de triacilglicéridos en suero, mientras que los AGPI n-6 no lo hacen o bien los incrementan. (127)

A su vez, Nestel (128) reportó que el consumo de grandes cantidades de aceite de pescado ha mitigado el incremento esperado de colesterolemia, debido al reemplazo de los AGS con AGPI. Estudios realizados en seres humanos han demostrado que el consumo de AGPI n-3 (aceites de pescado) reduce la tasa de secreción hepática de LDL y triacilglicéridos en sujetos normolipémicos y previene o revierte la hipertrigliceridemia inducida por glúcidos. (129)

#### *1.5.1.3 Efectos antitrómbicos*

Los efectos antitrómbicos de los AGPI n-3 se deben a la disminución de la agregación plaquetaria, al descenso de TXA, al incremento en la producción de PGI<sub>3</sub> (sin disminución de PGI<sub>2</sub>), disminución de la viscosidad de la sangre y al incremento en el tiempo de sangrado. (130)

Esto se debe a que los eicosanoides derivados del AA (PG, TX y LT) se producen en mayor cantidad o bien tienen efectos más potentes que los derivados del EPA. (97,98)

#### *1.5.1.4 Efectos hipotensores*

Existen evidencias de laboratorio y de campo que indican que la suplementación de la dieta con altos niveles de AGPI n-3 pueden reducir la presión sanguínea (15). Sin embargo, grandes cantidades (ej. 3g/día) son necesarios para un efecto mínimo en individuos no

hipertensos o para efectos modestos en pacientes hipertensos. En estos casos, el más efectivo de los AGPI n-3 es el DHA.

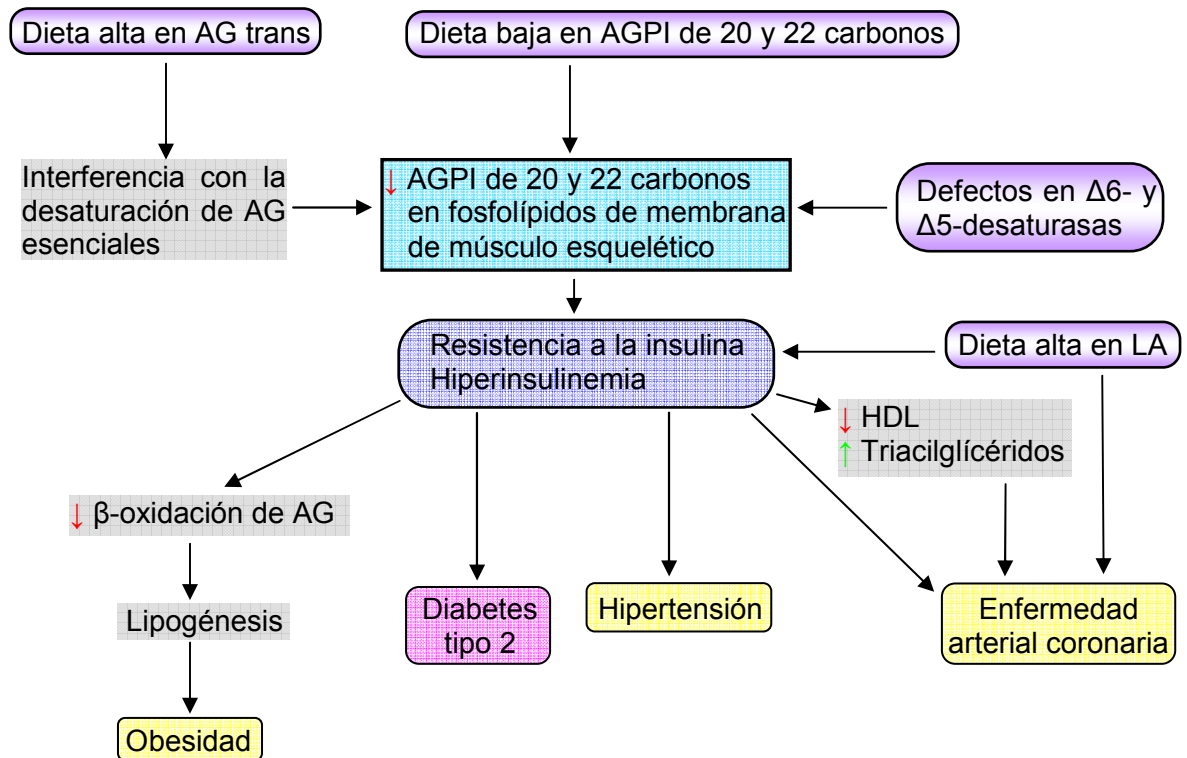
### 1.5.2 Diabetes

La diabetes tipo 2 es un desorden multigénico y multifactorial, caracterizado por hiperglucemia resistente a la insulina, hipertrigliceridemia y el desarrollo de complicaciones vasculares. Hombres y mujeres con diabetes de tipo 2 tienen 3 y 5 veces más mortalidad cardiovascular, respectivamente, que la población no diabética. (131)

En 1993, Borkman et al. (132) mostraron que la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina están inversamente asociadas a la cantidad de AG de 20 y 22 átomos de carbono en los fosfolípidos de membrana de las células musculares en pacientes con enfermedad cardiovascular y en voluntarios saludables. (Figura 8)

La disminución de estos AG se puede deber a:

- bajo consumo de AG de 20 y 22 átomos de carbono,
- alto consumo de AG *trans*, quienes interfieren con la desaturación y elongación de LA y ALA, bajando las concentraciones de AA, EPA y DHA,
- defectos genéticos de las  $\Delta 6$ - y  $\Delta 5$ -desaturasas,
- defectos genéticos que interfieren con el transporte o fijación de AG de 20 y 22 átomos de carbono, como en la proteína fijadora de AG intestinal,
- alta ingesta de LA, lo que interfiere con la desaturación y elongación del ALA a EPA y DHA, o
- incremento del catabolismo de AA, que reduce el número de AG de 20 y 22 átomos de carbono.

**Figura 8:** Posible relación entre AGPI y diabetes

Adaptado de Calvani (133)

El incremento de AGPI de 20 y 22 átomo de carbono (ej. AA, EPA, DHA), incrementa la fluidez de membrana, el número de receptores de insulina y la acción de esta última. (134-136)

La menor insaturación de las membranas celulares de los músculos de niños cuyas madres presentaron altos niveles de insulina en ayunas y triacilglicéridos podría reflejarse en una negativa genética a incorporar AGPI a las membranas; lo que los predispondría a un síndrome de resistencia a la insulina. (137)

También se conoce que la concentración sérica de leptina (una hormona expresada y secretada en proporción a la masa adiposa) en pacientes con diabetes tipo 1 es influenciada por el tipo de grasas en la dieta (138). En particular se ha encontrado que los AGPI n-3 disminuyen la expresión del gen de leptina tanto *in vivo* como *in vitro*. Los efectos directos

de los AGPI sobre la actividad promotora de la leptina indican una acción específica reguladora de los AG sobre la expresión de esta hormona. (139)

### **1.5.3 Efectos antiinflamatorios**

Los efectos benéficos de los AGPI n-3 se deben, en parte, a su efecto sobre el sistema inmune (eicosanoides).

El metabolismo del AA y del LA (serie n-6) y el del EPA y ALA (serie n-3) conducen a la generación de eicosanoides como las PG, TX y LT.

Los eicosanoides derivados del AA y el EPA poseen una estructura molecular muy parecida pero marcadas diferencias en sus efectos biológicos. Por ejemplo, los eicosanoides derivados del EPA son, en general, débiles inductores de la inflamación, mientras que los que derivan del AA son más potentes. Consecuentemente, la predominancia de AGPI n-6 resultará en un estado proinflamatorio con producción de PGs de la serie 2 y LTs de la serie 4. Al aumentar la cantidad relativa de AGPI n-3, se producen más PGs de la serie 3 y LTs de la serie 5. (Figura 5)

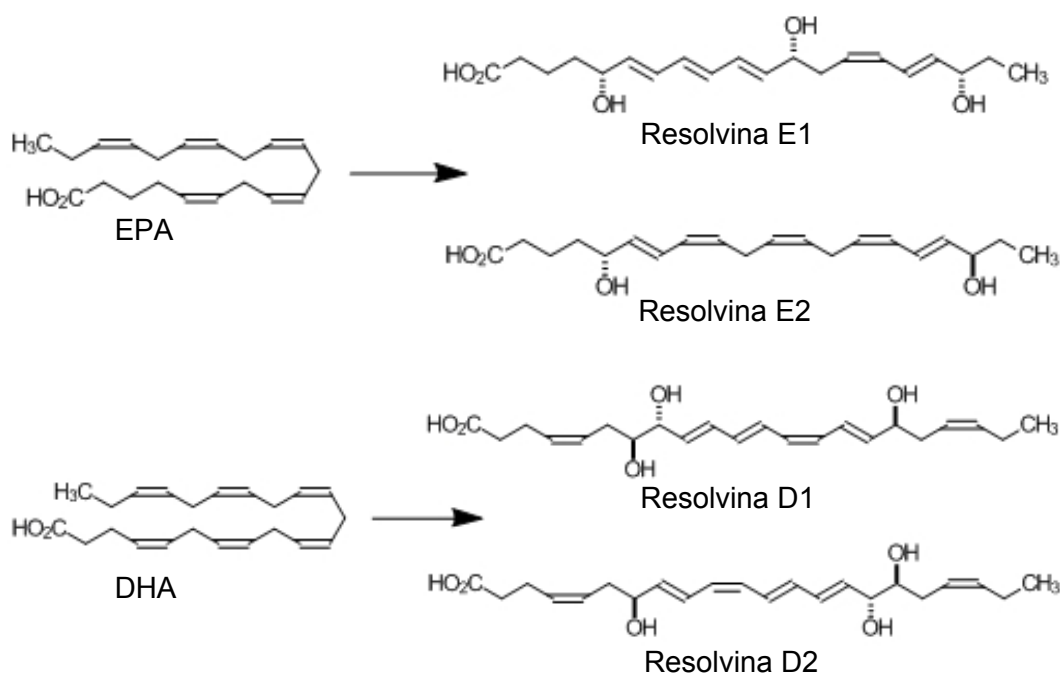
Estos últimos eicosanoides son considerados menos inflamatorios (140), lo que explicaría el mecanismo por el cual el aceite de pescado actuaría como antiinflamatorio. (141)

La respuesta inmune también puede ser alterada por cambios en la producción de mediadores inmunológicos como las citoquinas (142). Estos efectos se manifiestan con cambios en la inmunidad mediada por células, demostrada por la prueba cutánea de hipersensibilidad de tipo retardada. (143)

Un papel importante de los AGPI n-3, EPA y DHA, es que sirven como precursores de potentes antiinflamatorios denominados resolvinas (Figura 9) y protectinas. Las primeras ejercen sus acciones anti-inflamatorias mediante la resolución de la inflamación, de ahí su nombre. Las resolvinas se sintetizan a partir de EPA o DHA, la serie D derivan del DHA mientras que la serie E del EPA. Las resolvinas de la serie E reducen la inflamación, regulan

la migración transendotelial de neutrófilos, reducen la función de células dendríticas (presentadoras de antígenos) y regulan la producción de IL-12; mientras que las de la serie D son activas en el cerebro, en donde bloquean las acciones de las citoquinas proinflamatorias. (144)

**Figura 9:** Resolvinas derivadas del EPA y DHA



#### 1.5.4 Artritis

La suplementación con AGPI n-3 puede modular la expresión y actividad de factores inflamatorios y destructivos que causan el deterioro del cartílago durante la artritis (145). La incorporación de AGPI n-3 en la membrana de los condrocitos del cartílago articular resulta en una respuesta dosis-dependiente (146) con:

- reducción en la expresión y actividad de enzimas que degradan proteoglicanos (agrecanasas),

- reducción en la expresión de citoquinas inducidas por la inflamación (IL-1 $\alpha$  y TNF- $\alpha$ ) y COX-2, pero no la constitutiva (COX-1).

Estos hallazgos proveen evidencia que la suplementación con AGPI n-3 puede afectar específicamente los mecanismos regulatorios envueltos en la transcripción de genes, lo que se suma a los efectos beneficiosos de la suplementación con este tipo de AG en el alivio de numerosos parámetros fisiológicos que causan y propagan la artritis.

### **1.5.5 Psoriasis**

La alteración en el metabolismo del AA juega un rol importante en la patogénesis de los desórdenes a nivel cutáneo. Se han hallado niveles anormalmente altos de AA y sus productos generados por la lipooxigenasa (LTB<sub>4</sub> y 12-HETE) en lesiones (placas) de pacientes con psoriasis. La administración intravenosa de AGPI n-3 causa reducción de dichas lesiones, las cuales se pueden relacionar con cambios en la generación de eicosanoides. (147)

### **1.5.6 Colitis ulcerativa**

El LTB<sub>4</sub> y la PGE<sub>2</sub>, ambos productos del metabolismo del AA, se incrementan en pacientes con colitis ulcerativa. En esta patología, el LTB<sub>4</sub> es un mediador importante de la inflamación y tiene la habilidad de reclutar neutrófilos adicionales desde la sangre a la mucosa, exacerbando el proceso inflamatorio. (22)

Pacientes con esta patología, luego de 4 meses de suplementación dietaria con AGPI n-3 mostraron una reducción en los niveles de LTB<sub>4</sub> rectal, mejorando los hallazgos histológicos, la ganancia de peso y pudieron reducir la dosis de prednisona. (22)

### 1.5.7 Depresión

Las depresiones que se presentan durante el embarazo y después del parto constituyen un importante problema de salud pública, si bien la etiología es desconocida, su aparición se asociaría a la depleción de AGPI n-3 (148,149) dado que en el embarazo la madre traspasa sus reservas de AGPI n-3 al feto, para la formación de su cerebro y demás estructuras nerviosas. Por lo tanto, la suplementación con AGPI n-3 ha demostrado ser eficaz para tratar la depresión tanto en mujeres embarazadas como en otro tipo de pacientes. De esto resulta que sería aconsejable suplementar a las embarazadas con estos AG para prevenir y tratar las depresiones relacionadas al embarazo. Esta acción tiene la ventaja de ser inocua durante el embarazo y la lactancia, además de traspasarse al feto durante estos períodos, permitiendo su adecuado desarrollo cerebral.

Por otro lado, en la población general se ha observado que pacientes afectados por episodios de depresión mayor, poseen bajos niveles de AGPI n-3 en fosfolípidos plasmáticos, ésteres de colesterol, en membranas de eritrocitos y en tejido adiposo. También se han asociado regiones con bajo consumo de alimentos que aportan estos AG, con elevadas prevalencias de trastornos psiquiátricos como la depresión mayor y la esquizofrenia. (150-152)

Además, Tapia (149) también ha demostrado que el consumo de n-3 en la dieta de sujetos sometidos a estrés psicológico (recluidos en recintos carcelarios, hogares de menores e instituciones psiquiátricas), ha logrado disminuir significativamente la agresividad y la hostilidad.

A su vez, diversos autores (153,154) han demostrado que las intervenciones en pacientes depresivos, mediante la suplementación con AGPI n-3, por cortos períodos, lograron mejoras significativas de los síntomas depresivos, incluso de la ideación suicida en pacientes resistentes al tratamiento.

### 1.5.8 Cáncer

#### 1.5.8.1 El efecto de los AGPI sobre la proliferación celular y las transducción de señales

La grasa puede regular la función celular por afectar la expresión o actividad de genes en las vías de transducción de señales relacionadas con el control del crecimiento celular y la apoptosis. La ingesta elevada de AGPI n-6 induce varios efectos fisiológicos y metabólicos (155-157):

- incrementa la actividad de la ornitina descarboxilasa en la mucosa del colon, resultando en mayores niveles de poliaminas epiteliales e incremento en la proliferación de las células de las criptas del colon,
- mejora la actividad de la proteína quinasa (ej. proteína quinasa C) en glándula mamaria de roedores e incrementa el número de receptores al estrógeno,
- incrementa las concentraciones de eicosanoides. PG, TX, LT, hidroxi e hidroperoxi AG están relacionados con la iniciación y promoción tumoral, proliferación celular, invasión de tejidos y dispersión de metástasis. Las células tumorales producen grandes cantidades de eicosanoides y últimamente los eicosanoides derivados del LA han sido asociados al crecimiento de tumores y metástasis.

El hecho que el ácido oleico y los AGPI n-3, especialmente el EPA, bloqueen la reacción desaturasa (primer paso del LA a los eicosanoides) podría explicar, en parte, el efecto inhibitorio de estos sobre la tumorigénesis.

#### 1.5.8.2 Información experimental y clínica

Hasta el momento, el rol de los AG individuales en el riesgo de cáncer humano ha sido poco estudiado, reciente información epidemiológica y experimental asocia altos consumos de



AGPI n-6 y bajos de n-3, al incremento del riesgo de contraer cáncer de mamas, colon, y posiblemente próstata. (133)

Los AGPI n-6 estimulan la tumorigénesis y metástasis en animales experimentales, mientras que los AGPI n-3 pueden inhibir el crecimiento de células cancerosas ya iniciadas.

Fay et al. (158) llevaron a cabo un meta-análisis sobre el efecto de los diferentes tipos de AG y la incidencia de tumor de mamas en ratas; los resultados indicaron que los AGPI n-6 tiene un fuerte efecto en el desarrollo tumoral, mientras que los AGPI n-3 presentaron poco o ningún efecto al igual que los AGMI.

También se ha probado el efecto del consumo de dietas ricas en grasas durante la gestación y se llegó a la conclusión que estas incrementaban la incidencia de carcinoma mamario en ratas. Además, en la misma prueba se ha demostrado que el consumo de grandes cantidades de AGPI n-6 durante la gestación incrementa el riesgo de desarrollo de carcinoma mamario, posiblemente por un incremento en la concentración de estrógeno circulante (159,160). Esta información sugiere la posibilidad de manipular la dieta durante el período de gestación para evitar un cáncer de mamas en el futuro.

En un estudio poblacional, se encontró una relación inversa entre el alto consumo de AGPI n-3 y el desarrollo de cáncer colorrectal. (161-164)

Por otro lado, se encontró que una dieta rica en grasa estaba asociada con la aparición de cáncer de próstata agresivo y metastático. Por su parte los AGPI n-3 podrían retardar la progresión de este tipo de tumores. (157)

En base a los hábitos dietarios de mujeres de edad media se cree que el riesgo de contraer cáncer de mama pueda ser "impreso" tempranamente en la vida uterina por un alto consumo de AGPI n-6 y estimulación estrogénica, resultando en un temprano ingreso a la pubertad y posteriormente en un mayor riesgo de contraer cáncer de mama, como ha sido demostrado en roedores. (133,160)

Las grasas dietarias, más específicamente los AGPI n-6 y n-3, afectan una variedad de pasos en el proceso de carcinogénesis. Los efectos pueden ser directos o indirectos e incluyen:

- peroxidación de dobles ligaduras en AGPI, conducen a estrés oxidativo persistente y generación de productos de la PL (malondialdehído, 4-hidroxi-alquenos), los cuales pueden inducir daño en el ADN,
- conversión de AGE a eicosanoides, primariamente derivados del LA,
- interacción de AG con la transducción de señales alterando la expresión génica,
- efectos sobre enzimas unidas a la membrana como la citocromo P450 que regula el metabolismo de xenobióticos y estrógeno,
- cambios estructurales y funcionales en las membranas celulares que resultan en alteraciones en receptores hormonales y de factores de crecimiento.

#### *1.5.8.3 Efectos de los AGPI en la caquexia debida al cáncer*

Pacientes con enfermedades crónicas como SIDA o cáncer (particularmente aquellos con tumores de páncreas, estómago, colon y pulmones) a menudo experimentan un síndrome de pérdida de masa muscular conocido como caquexia.

La caquexia se caracteriza por una pérdida dramática de triacilglicéridos del tejido adiposo y proteínas del músculo esquelético. Aunque superficialmente se parezca a la inanición, este es refractario a la intervención nutricional. La pérdida de masa muscular resulta en menor movilidad y, por lo tanto, en una peor calidad de vida para el paciente, mientras que la destrucción de los músculos respiratorios conduce a la muerte por neumonía. La pérdida de proteínas del músculo esquelético se refleja en un desbalance en la tasa de lisis (catabolismo) y síntesis (anabolismo) proteica.

La caquexia se asocia con una reducción del tiempo de supervivencia independientemente de la masa tumoral o de la presencia de metástasis, lo cual interfiere con la terapia de este mal.

En este tema se ha puesto un especial interés en el EPA. Al estudiar el mecanismo por el cual el EPA atenúa el catabolismo proteico en la caquexia por cáncer se encontró que este AG disminuía la expresión de proteosomas en ratones con tumores que inducen caquexia (MAC16), a la vez que inhibía el desarrollo de estos tumores en una respuesta dosis-dependiente por disminución de la expresión de la subunidad  $\alpha$ -20S de proteosomas en estas células tumorales, y se correlacionó con un incremento en la expresión de miosina, lo que llevó a una mayor retención de proteínas contráctiles. (165)

Este AGPI no solo fue efectivo en modelos murinos, sino también en seres humanos con cáncer. (133)

El EPA inhibe la producción de 15-HETE y previene el desgaste muscular en pacientes con cáncer (166) e incluso con recuperación de la misma por acumulación de masa muscular magra sin cambios en el tejido adiposo o agua corporal. (167)

El metabolismo anormal de las proteínas, glúcidos y lípidos en pacientes con cáncer pancreático surge, aparentemente, de una compleja interrelación entre factores derivados del cáncer y probablemente incluya citoquinas inflamatorias y hormonas.

En relación a este tema, ratones que recibieron un factor inductor de la proteólisis mostraron un profundo descenso de peso en 24hs y una marcada hipoglicemia, los cuales fueron completamente evitados con un pretratamiento con anticuerpos monoclonales anti-factor inductor de la proteólisis o bien con el suministro de EPA 3 días antes de la administración de dicho factor. (168)

La degradación de proteína muscular en la caquexia por cáncer también está asociada con un incremento de la PGE<sub>2</sub> y numerosas experiencias han demostrado que este aumento puede ser inhibido con EPA. (169)

## 1.6 Ácido $\alpha$ -linolénico dietario vs. EPA y DHA

Los seres humanos de todas las edades, incluyendo bebés prematuros y fetos muy pequeños, convierten el ALA en DHA (170-172). Este proceso también se ha observado en otras especies. (173)

Normalmente se aceptaba que el ALA era sólo un precursor de los AGPI n-3 de cadena larga (AGPI n-3 CL), porque los primeros estudios epidemiológicos se realizaron en poblaciones que consumían grandes cantidades de pescado. (71)

Sin embargo, estudios recientes están cambiando este concepto sobre las fuentes de AGPI n-3. La evidencia está en los vegetarianos, quienes no sufren deficiencias con dietas que no contienen DHA (174,175). Willard et al. (176) encontraron que a medida que las cantidades de DHA dietario crecían, la síntesis de este se reducía, pero no se suprimía, incluso cuando el nivel de DHA dietario aumentaba a concentraciones muy elevadas, lo que sugiere que la síntesis de DHA a partir del ALA es un proceso constitutivo que se requiere para cumplir una función esencial en el cerebro.

Numerosos estudios clínicos y epidemiológicos han sido llevados a cabo con el fin de determinar los efectos de los AGPI n-3 CL sobre varios indicadores fisiológicos. (177)

Mientras que los primeros estudios fueron llevados a cabo con grandes dosis de AGPI n-3 provenientes de pescado o su aceite, investigaciones posteriores han utilizado dosis más bajas. (178)

Dado que el ALA puede ser convertido en AGPI n-3 CL (170-172), el consumo mínimo de AGPI n-3 CL para obtener efectos beneficiosos dependerá de la ingesta de otros AG. La cantidad de LA dietario y su relación con el ALA parecen jugar un rol importante en el metabolismo de los AGPI n-3 CL. Indu & Ghafoorunissa (178) encontraron que, manteniendo una ingesta constante de LA (15g), 3,7g de ALA parecían tener efectos biológicos similares a 0,3g de AGPI n-3 CL con una equivalencia de 11g de ALA por 1g de AGPI n-3 CL. Además, una relación de 4 a 1 (15g LA/3,7g ALA) fue apropiado para dicha

conversión. De esta manera, fueron capaces de mostrar efectos antitrombóticos reduciendo la relación n-6/n-3 con el agregado de aceite vegetal rico en ALA, a la vez de encontrar que luego de esta suplementación se incrementó la concentración de AGPI n-3 CL en plasma y plaquetas y disminuyó la agregación plaquetaria. La suplementación con ALA no alteró los triacilglicéridos en suero, como si lo hacen los AGPI n-3 CL. (179)

Por otra parte Emken et al. (180) hallaron que la conversión de ALA marcado a sus metabolitos de cadena larga se redujo en aproximadamente un 50% cuando se duplicó la ingesta de LA como resultado de la competición existente entre los AG de las series n-3 y n-6 por las desaturasas. (44)

Una ventaja del consumo de ALA por sobre los AGPI n-3 CL de origen marino es que no existe problemas de alergia (126), ni de consumos insuficientes de vitamina E (44). A su vez en muchos países, entre ellos la Argentina, el consumo de productos de origen marino es bajo; por lo que el beneficio que podría derivar de una dieta rica en AGPI n-3 CL no alcanzaría a la mayoría de la población. (126)

### **1.7 Ingesta adecuada de AGPI n-3**

Se habla de ingesta adecuada (IA) y no de “recomendaciones diarias” cuando no existe suficiente evidencia científica para calcular un requerimiento diario promedio, por lo tanto se sugiere una IA como referencia. La IA es un valor basado en niveles de ingesta obtenidos experimentalmente o aproximaciones de medias observadas en las ingestas de un grupo o grupos de personas saludables. Se espera que la IA para niños y adultos alcance o exceda la cantidad necesaria para mantener un estado nutricional saludable. (Tabla 3) (181)

**Tabla 3:** Ingesta adecuada de AGPI n-3 en adultos

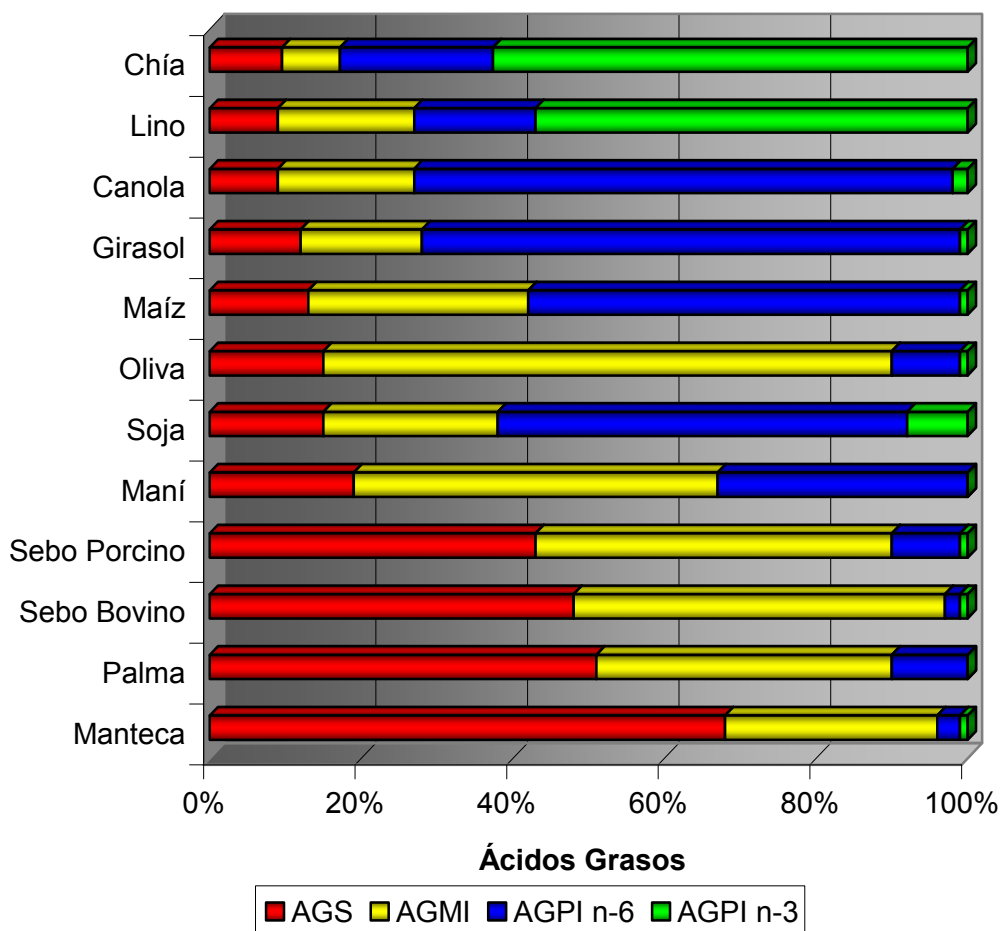
<b>Ácidos grasos</b>	<b>Ingesta adecuada mg/día</b>
<b>18:2n-6</b>	4440 (máx 6670)
<b>18:3n-3</b>	1000-2220
<b>AGPI n-3 CL</b>	300-650
EPA	220
DHA	220
<b>n-6/n-3</b>	<4,0*

Adaptado de Simopoulos et al. (181) y Galli & Calder (182). \* Sugerido por Simopoulos. (183)

### 1.8 Fuentes de AGPI n-3

Las fuentes de AGPI n-3 predominantes en la mayoría de las dietas son los aceites vegetales y el pescado. A excepción de las dietas del Mediterráneo y las de los esquimales de Alaska y Canadá, cuyas fuentes principales son el aceite de oliva y pescados y grasas de mamíferos marinos respectivamente, los pescados azules o de mar son la mayor fuente de EPA y DHA, mientras que los aceites vegetales lo son del ALA. Otras fuentes de AGPI n-3 que contribuyen colectivamente en la dieta son algunas nueces y semillas, vegetales de hoja verde, huevos y carne de pollo, cerdo y bovinos. (Figura 10) (184-189)

**Figura 10:** Perfil de ácidos grasos de diferentes alimentos



Adaptado de Morris (190) y Craig & Sons. (191)

Como se puede observar en la Figura 10, la chía posee el mayor porcentaje (78%) combinado de AGE (ALA y LA) de todas las fuentes analizadas. Le siguen el lino, la colza canola y el girasol con 73, 73 y 72%, respectivamente. La diferencia entre la chía, la colza canola y el girasol es aun más significativa si se considera que estos dos últimos contienen cantidades mínimas de ALA. El aceite de oliva, como la chía, es altamente insaturado (85%) pero esto sucede debido al gran contenido de ácido oleico (monoinsaturado). Por lo tanto, este aceite tiene un contenido de AGPI relativamente bajo (10%) comparado con la chía que tiene 78%.

El pescado, al igual que el pollo y otros animales superiores, “copia” el perfil de AG de su dieta. Por lo que si este es de criadero no siempre va a tener una abundancia de AGPI n-3 CL, sino que va a depender de la concentración en su alimento. Si a estos les proveen lino como fuente de AGPI n-3 en lugar de harinas o aceites de pescado, el perfil de AG de su carne será muy parecido al de los pollos alimentados con lino. (Tabla 4 generada con datos no publicados de INTA) (51)

**Tabla 4:** Variación en el perfil de ácidos grasos en aceite de salmón según el origen

Ácidos grasos	Mar abierto	Criadero
	% ésteres metílicos	
14:0	5,99	5,89
16:0	16,88	19,65
16:1 n-7	7,98	8,05
18:0	4,76	5,49
18:1 n-9	22,17	27,42
18:2 n-6	6,58	12,39
18:3 n-3	0,15	4,10
20:4 n-6	1,56	0,71
20:5 n-3	7,65	0,15
22:5 n-3	2,87	0,76
22:6 n-3	9,34	1,79

Datos propios INTA.

## 1.9 Panorama avícola y su consumo en la Argentina

Las aves de corral han sido desde 1857, fecha en que llegan las primeras a la Colonia San José en Entre Ríos traídos por Colonos Suizos, parte del paisaje rural y un importante complemento de la economía doméstica argentina.

En 1945 ya había en la Argentina una importante población de aves, con un concepto semi-industrial de explotación, con líneas de pedigree y algunas cruzas con doble propósito, la hembra para producción de huevos y los “gallitos” para consumo.

Se los alimentaba con “mezclas” a base de granos y la explotación era a campo o en semi libertad.



La comercialización estaba organizada a través de acopios y consignaciones representadas por personas u organizadas en cooperativas. El grueso de los productos acopiados convergía en el Mercado Concentrador de Aves y Huevos de la Capital Federal, donde tenían sus puestos los más importantes mayoristas.

En este sitio se preparaba la mayoría de la mercadería, se clasificaba y seleccionaba el huevo para consumo, se vendían vivos los pollos de cinco meses y 2,300kg, las gallinas y los gallos como también otros tipos de aves.

Para aquellos que lo solicitaban las aves se mataban y desplumaban en el momento; no se las evisceraba, se las vendía enteras.

En general los consumos no se medían, pero se estima que no llegaban a 3kg/hab./año y menos de 80 huevos por persona, aunque a todo esto debería agregársele el consumo de producción doméstica.

Con leve crecimiento y una progresiva organización en la producción esta estructura se extiende hasta el comienzo de los años 60.

En esos años llegan al país los padres de los pollos “híbridos” o como se los denominó en la Argentina “pollos parrilleros”; esta denominación popular tiene que ver con que recién con estos pollos se comenzó a consumirlos asados a la parrilla y luego rostizados.

Por lo tanto, se puede situar alrededor de 1960 el nacimiento de la avicultura industrial en la Argentina y desde ese tiempo que el sector, tanto en pollos como en huevos no ha parado de crecer, de equiparse y de mejorar continuamente el aseguramiento de la calidad e inocuidad de sus productos.

El consumo que era de 4kg en 1960 pasó a 8kg para 1965 y se situaba en 10kg/hab./año en 1970. El pollo, un producto consumido en fiestas y ocasiones especiales, comenzaba a incorporarse a la dieta casi al ritmo de una vez por semana por familia.

Más allá de esta visión positiva, los crecimientos generaban importantes crisis. El sector estaba segmentado en su producción, razón por lo que era difícil proyectar su oferta, el consumo siempre fue elástico al precio y asociado al de la carne roja.

En 1976 comenzó el proceso de integración vertical, si se quería ser competitivo había que quemar rentabilidad en etapas y concentrar todo en el pollo terminado eviscerado, así entre 1976 y 1983 el sector quedó mayoritariamente integrado produciéndose los huevos fértiles, los pollitos BB, el alimento y tercerizando el cuidado y la guarda en los criadores integrados para luego faenar y comercializar el producto.

Este nuevo concepto productivo que bajó aun más el precio al consumidor final consolidó el hábito, aumentó el consumo a más de 14Kg/hab./año y llevó gradualmente un crecimiento constante y una profundización en la búsqueda de la productividad y competitividad.

La tecnología cambiaba a nivel mundial llevada por la genética de las aves y los productos pollos y huevos se posicionaban como las proteínas animales de más bajo precio al público. Los productores avícolas argentinos en los años '90 se vieron obligados a escalar la producción mediante la reconversión tecnológica con lo que se dio un proceso de concentración. De esta manera, con el exceso de oferta, el consumo se elevó a 26kg/hab./año.

En el 2001, con el abandono de la convertibilidad el sector se volvió más competitivo y con mejores niveles productivos. (192)

En 2009 se faenaron 573 millones de pollos con una producción de 1,5 millones de toneladas y un consumo per cápita de 33,3kg de carne de ave. (193)

Hoy estamos exportando a 52 países y la demanda sigue creciendo con lo que se espera que la producción de 2010 supere los 1,6 millones de toneladas.

El sector de carne avícola tiene en ejecución un programa de crecimiento con una tasa anual del 10% hasta el año 2010, cuya meta se cumplió en 2007, por tal motivo se propuso un nuevo programa con objetivos más elevados para 2017. (192)

### 1.10 Posibilidad de comercialización de productos diferenciados

En general, los consumidores buscan alimentos sabrosos y saludables con relevancia en la fisiología nutricional. Al mismo tiempo, están más y más interesados en productos enriquecidos con nutrientes o componentes que mejoren su bienestar. Incluso, están dispuestos a pagar más por este tipo de productos. (194)

Recientemente la encuestadora A.C.Nielsen (195) llevó a cabo un estudio en un total de 38 países (incluyendo Europa, América Latina, Norte América y Asia-Pacífico) con el fin de determinar los factores determinantes de compra en los diferentes puntos del globo. Sorprendentemente la mayor parte de las *categorías dinamizadoras* (productos con un crecimiento muy superior a la media) y los formatos comerciales ganadores eran comunes en la mayor parte de los países, pese a las enormes diferencias económicas y culturales existentes entre ellos.

Se encontraron 3 factores comunes determinantes de dicho crecimiento comunes en 35 de los 38 países estudiados:

- preocupación por la salud dietética,
- comodidad – conveniencia, y
- relación precio/calidad.

Categorías como verduras de 4<sup>ta</sup> gama (lavadas, peladas, cortadas, envasadas en condiciones especiales y listas para su consumo), preparados lácteos (*L. casei*), agua mineral o platos preparados refrigerados aparecen en la mayor parte de los mercados.

Dentro del sector de productos frescos, únicamente las frutas y verduras aparecen reflejadas en algunos países.

El sector de la carne debe hacer frente a este reto, adaptando su propuesta para dar una respuesta apropiada a este nuevo consumidor. (196)

Sin embargo, el consumidor considera a la carne de pollo como un alimento saludable debido, entre otras razones, a que contiene poca cantidad de grasa. (197)

La Tabla 5 muestra la composición nutricional del muslo y pechuga de pollo, siendo estas las partes comestibles de mayor valor comercial.

**Tabla 5:** Composición del muslo y la pechuga de pollo sin piel

Nutriente (g)	Muslo de pollo	Pechuga de pollo
	Composición cada 100g de porción comestible	
<b>Agua</b>	75,81	74,76
<b>Energía (kcal)</b>	119	110
<b>Proteína</b>	19,65	23,09
<b>Lípidos</b>	3,91	1,24
AGS	1,00	0,33
AGMI	1,21	0,30
AGPI	0,97	0,28
<b>Colesterol (mg)</b>	83	58
<b>Cenizas</b>	0,96	1,02

Adaptado de Cortinas-Hernández. (197)

La carne de pollo, al igual que otras carnes, es un alimento nutritivo que contiene gran cantidad de proteína de alto valor biológico, vitaminas y minerales. Sus proteínas son fácilmente asimilables por el ser humano y aportan todos los aminoácidos esenciales. También se destaca por su contenido en vitaminas del grupo B, especialmente la B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub>, además de tiamina (B<sub>1</sub>), riboflavina (B<sub>2</sub>), niacina (B<sub>3</sub>) y ácido pantoténico (B<sub>5</sub>). La carne y los derivados cárnicos constituyen un excelente aporte de hierro, mucho más asimilable que el proporcionado por otros alimentos, además de fósforo y de otros minerales como el zinc, magnesio y calcio. (197)

Si comparamos la carne de pollo con carnes de otras especies animales, se observa que la carne de pollo se destaca por su menor aporte energético y su bajo contenido de lípidos.

El contenido de lípidos de la carne de pollo varía según el tejido. (Tabla 6)

**Tabla 6:** Contenido y clases de lípidos en pechuga, muslo y piel de pollo

Porción	Lípidos totales	Clases de lípidos (% de lípidos totales)		
	(% tej. crudo)	Triacilglicerol	Fosfolípidos	Colesterol
<b>Pechuga</b>	0,9-1,5	32-43	55-66	2-5
<b>Muslo</b>	2,2-2,3	63-83	16-33	1-5
<b>Piel</b>	30,3-31,5	100	0,36	--

Adaptado de Cortinas-Hernández. (197)

Se puede observar que la piel contiene la mayor proporción de grasa compuesta principalmente por triacilglicéridos. El contenido de lípidos de la pechuga es aproximadamente la mitad que en el muslo. Además, estos lípidos en la pechuga están constituidos en más de un 50% por fosfolípidos, mientras que en el muslo están compuestos mayoritariamente por triacilglicéridos.

La composición y contenido lipídicos de la carne de pollo pueden presentar variaciones debidas a la genética, edad, sexo, condiciones ambientales y factores nutricionales, entre otros. Dentro de los factores nutricionales se destacan el contenido energético y la composición lipídica de la dieta.

La Tabla 7 muestra la composición en AG de la fracción lipídica de la pechuga, muslo y piel de pollos alimentados con una dieta estándar (198). En estos tejidos, los AG mayoritarios fueron el oleico, seguido por el palmítico y el LA. La pechuga presentó menos AGMI que el muslo y más AGPI, sobre todo AGPI CL ( $\geq 20$  carbonos), siendo el AA el más abundante. En comparación con los tejidos musculares, la piel contiene niveles más elevados de oleico y palmitoleico.

**Tabla 7:** Perfil de ácidos grasos de la pechuga, muslo y la piel de pollos alimentados con una dieta estándar

Ácido graso	Pechuga	Muslo % EM	Piel
<b>AGS</b>	<b>33,5</b>	<b>32,2</b>	<b>30,7</b>
16:0	23,8	22,6	24,0
18:0	7,5	7,6	5,1
<b>AGMI</b>	<b>34,5</b>	<b>39,4</b>	<b>47,8</b>
16:1n-7	4,5	6,3	7,8
18:1n-9	29,1	32,0	39,4
20:1n-9	0,5	0,5	0,6
22:1n-9	0,4	0,6	0,4
<b>AGPI</b>	<b>32,0</b>	<b>28,5</b>	<b>21,4</b>
<b>n-6</b>	<b>27,4</b>	<b>25,1</b>	<b>19,7</b>
18:2n-6	7,8	18,3	18,2
20:4n-6	5,0	3,7	0,6
<b>n-3</b>	<b>4,5</b>	<b>3,4</b>	<b>1,8</b>
18:3n-3	0,5	0,7	1,0
20:5n-3	0,7	0,6	0,4
22:5n-3	0,9	0,5	0,1
22:6n-3	1,8	1,0	0,1

% EM: Porcentaje sobre ésteres metílicos. Adaptado de Ratnayake et al. (198)

El depósito lipídico en los tejidos animales puede tener dos orígenes: exógeno, es decir, procedente de la dieta y endógeno, sintetizado *de novo* por el animal. El tipo de depósito lipídico dependerá del balance entre la porción lipídica de origen endógeno y exógeno. Así, al administrar a las aves dietas bajas en grasa, la mayoría de los AG de los tejidos provendrán de la síntesis *de novo* a partir de los glúcidos, con lo que los AG mayoritarios son los AGS, principalmente el palmítico y esteárico y los AGMI, principalmente el oleico y palmitoleico. (199,200)

La inclusión de grasa en la dieta produce una reducción de la actividad lipogénica hepática. Así, se establece un balance entre la contribución exógena y la síntesis endógena de lípidos, permaneciendo el contenido total de lípidos del animal más o menos constante (201). La reducción en la lipogénesis endógena es el resultado, por un lado, de un menor contenido de almidón en la dieta como consecuencia de la inclusión de materia grasa, el cual produce un carencia de sustrato para la síntesis de AG; y por otro lado, de una

inhibición directa sobre las enzimas lipogénicas por parte de los lípidos dietéticos (202). De manera que, la lipogénesis hepática aumenta cuando la energía de la dieta es aportada por la inclusión de glúcidos y la síntesis se reduce al adicionar fuentes lipídicas. (203,204)

### **1.11 Modificación del perfil lipídico de la carne de pollo a través de la dieta**

El hecho que la carne de pollo sea un producto de una elevada aceptabilidad por parte del consumidor, ha favorecido la experimentación con el objetivo de modificarlo y mejorarlo nutritivamente.

Ya en la década de los años '60 y '70 se comprobó que el perfil de AG de diferentes tejidos del pollo podían ser modificados mediante cambios de la dieta de estos animales (205-207). Tal y como se ha comentado anteriormente, al alimentar a las aves con dietas suplementadas con grasa, los depósitos lipídicos del animal proceden en mayor grado de la dieta, y el perfil de AG de estos tejidos será el reflejo del de la dieta (197). De esta manera, algunos autores han conseguido aumentar la proporción de ciertos AG aumentando el nivel de inclusión en la dieta de una fuente lipídica determinada. (208-213)

Los resultados de varios trabajos (214,215) muestran que la retención de EPA y DHA dependen linealmente de la adición de AGPI n-3 en el pienso, pero también se aprecia que, en este caso, la fuente utilizada tiene una elevada influencia. La eficacia de retención más alta se obtuvo con las fuentes concentradas en DHA (algas marinas y algunos pescados), que se retiene tal cual (en forma de DHA) en la yema de huevo o carne de pollo. Las eficacias más bajas se observaron, en cambio, con las fuentes que aportaban ALA (aceites de soja y lino) y EPA (algunos tipos de aceite de pescado) debido a que estos AG se retienen parcialmente en la yema de huevo en forma de ácido linolénico y DPA, respectivamente.

Como consecuencia, la cantidad de AG que se precisa añadir al pienso para conseguir una determinada concentración comercial de EPA + DHA en el huevo se reduce sensiblemente cuando se usan las fuentes más eficaces, es decir las más concentradas en DHA.

La IA de las cantidades de AGPI n-3 propuestos (2,87g/día) es difícil de alcanzar sin modificar drásticamente la dieta, sobre todo en poblaciones con bajo consumo de pescado azul o marino, es por ello que se vuelve necesario el enriquecimiento de distintos alimentos como huevos y carne mediante la manipulación de la dieta de los animales. (216)

## **1.12 La chía**

La semilla de chía ha sido históricamente consumida en Sudamérica pero, hasta ahora, no ha sido utilizada para el consumo humano en forma masiva. (191)

Esta semilla es una fuente abundante de un AGPI n-3, el ALA. La introducción de la semilla de chía como una fuente no marina de AGPI n-3 a la dieta de las personas en forma directa a través del pan (191) o bien en forma indirecta a través de la carne de pollo (208,209), cerdo (217) o del huevo (173,218-220) permitiría incrementar las posibilidades de adquirir AGPI n-3 por parte del consumidor.

Actualmente se cultiva en Perú y en el norte de la Argentina, aparte de Guatemala y México, dado que requiere condiciones subtropicales para su crecimiento.

### **1.12.1 Historia**

La chía fue uno de los mayores cultivos en las sociedades precolombinas, solo siendo superada por el maíz y el poroto. Principalmente fue cultivada por los aztecas y su cultivo se extendió desde las áreas montañosas del centro-oeste de México al norte de Guatemala.

Estas civilizaciones usaron a la chía como ingrediente de numerosas medicinas y compuestos nutricionales, e incluso como pintura (221). Estos pueblos antiguos se



beneficiaron con los efectos de la semilla de chía, tanto que entre el pueblo maya era conocida con una palabra que significaba “esa cosa que te hace fuerte”. (191)

Históricamente las semillas de chía fueron tostadas y molidas para formar una harina llamada “*pinole*”, luego era mezclada con agua para formar una papilla o hacer tortas. Los aztecas vieron en la chía un importante grano que era ofrendado a los dioses durante ceremonias religiosas. Incluso la chía se sigue utilizando en la actualidad en la preparación de una bebida popular denominada “chía fresca”, donde las semillas son remojadas en agua y luego saborizadas con jugo de frutas para ser consumida con una bebida refrescante. (191,221)

Como se comentara anteriormente la chía fue un cultivo importante en la era precolombina, pero la conquista española reprimió a los nativos, suprimió sus tradiciones y destruyó la mayor parte del sistema intensivo de producción y comercialización agrícola en uso. Muchos cultivos que habían mantenido su posición relevante en las dietas precolombinas americanas fueron eliminados por los españoles debido a su estrecha asociación con la religión y reemplazados por especies foráneas como el trigo, la cebada y el arroz, demandadas por los conquistadores. (222,223)

Como parte del proceso de evangelización, los frailes ordenaron la destrucción de los templos prehispánicos y con sus piedras construyeron iglesias y monasterios. Esta metodología radical se usó no solo con los templos “paganos”, sino también con cada costumbre relacionada con las religiones prehispánicas. Como consecuencia, muchos cultivos que habían mantenido durante miles de años una posición de honor entre las culturas nativas, fueron deliberadamente eliminados. (126)

Previo al redescubrimiento, el cultivo de chía estaba limitado a unas pocas hectáreas. (224)

La ciencia moderna ha sido capaz de explicar por qué las civilizaciones meso-americanas consideraban a la chía como componente básico de su dieta y por qué ésta debería ser reintroducida en la sociedad moderna. A su vez, se están llevando a cabo procesos de selección para mejorar la producción de la semilla existente sin la utilización de

modificaciones genéticas. Desde 1987 se desarrollaron líneas puras de plantas con características fenotípicas distintivas, semillas de testa color blanco y negra en varias tonalidades, plantas con pubescencia (blanca y con pigmentación azul), pigmentación en el tallo, etc. Para 1991 y con el uso de irradiación de semillas se obtuvieron plantas con flores blancas, con ello se dio un gran impulso para establecer el desarrollo de un programa de mejoramiento genético para esta especie. (224)

### 1.12.2 Descripción botánica

La chía es una planta herbácea anual de desarrollo estival que pertenece a la familia de las *Lamiaceae* (familia de la menta).

En Tabla 8 se presenta la clasificación taxonómica de la chía cuyo nombre binomial es *Salvia hispanica* L.

**Tabla 8:** Clasificación taxonómica de la chía

	<b>Designación</b>
<b>Reino</b>	Plantae
<b>Subreino</b>	Tracheobionta
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Subclase</b>	Asteridae
<b>Orden</b>	Lamiales
<b>Familia</b>	Lamiaceae
<b>Subfamilia</b>	Nepetoideae
<b>Tribu</b>	Mentheae
<b>Género</b>	<i>Salvia</i>
<b>Especie</b>	<i>S. hispanica</i>

La planta mide entre 1-1,5m de alto. Los tallos son ramificados, de sección cuadrangular con pubescencias cortas y blancas. Las hojas opuestas, con sus bordes aserrados, tienen un

pecíolo de hasta 40mm de largo, poca pubescencia blancuzca y muy corta, miden de 80 a 100mm de longitud y 40 a 60mm de ancho. (126)

Sus flores se producen en espigas terminales o axiales, en grupos protegidos por pequeñas brácteas con largas extremidades puntiagudas. El pedúnculo es corto, el cáliz persistente en forma de tubo, abultado, estriado, con vello blanco, y tres dientes agudos, uno algo más largo que los demás, con un diámetro similar al de los otros dos juntos. La corola es de color morado o azul, tubular, monopétala y bilabiada, el labio inferior se expande hacia afuera y abajo; el superior es ascendente y se arquea en forma de casco o gálea. (126,224)

Los estambres están en número de cuatro, dos de los cuales son más grandes y estériles; los fértiles están unidos por un conectivo, el cual se articula a filamentos cortos que se insertan en la corola. (126,224)

El ovario es súpero, bicarpelar y tetralocular; en la base del ovario se encuentra un disco nectarífero. El estilo es glabro, glanduloso en la base y su estigma tiene dos ramificaciones; la más larga está exerta a la corola y la más corta se ubica entre las anteras. Tanto las anteras como el estigma están cubiertos y protegidos por la gálea. (Figura 11) (224)

**Figura 11:** Detalles de la planta e inflorescencia de chíá



Planta

Adaptado de Flickr. (225,226)



Inflorescencia

No se conoce con precisión el mecanismo de polinización en *S. hispanica*, aunque se supone que es una especie alógama (transfiere polen de la antera de la flor de una planta al estigma de la flor de una planta genéticamente diferente) y entomófila (polinizada por insectos) por el color de los pétalos, por la forma de pista de aterrizaje del labio inferior de la corola, por la articulación de los estambres a la corola y por la presencia de néctar en la base del ovario. (227)

En cuanto a la semilla, estas son típicamente pequeñas, ovaladas y brillantes con un diámetro de alrededor de 1mm; son moteadas de un color negro grisáceo con manchas irregulares tirando a un color rojo oscuro y se presentan en grupos de cuatro. (126)

**Figura 12:** Detalles de la semilla de chía

Semillas a granel

Adaptado de USDA. (228)



Detalles de las semillas

En la Tabla 9 se muestran los datos promedios y rango del análisis proximal de semillas de chía provenientes del Perú y la Argentina.

**Tabla 9:** Análisis proximal de semillas de chía

<b>Determinación</b>	<b>Media %</b>	<b>Rango %</b>
<b>Materia Seca</b>	92,21	91,73-92,70
<b>Proteína</b>	21,10	20,82-21,34
<b>Extracto Etéreo</b>	32,25	31,48-32,58
<b>Fibra Cruda</b>	27,77	29,93-30,04
<b>Cenizas</b>	4,81	4,60-4,98

Adaptado de Craig &amp; Sons. (191)

La chía posee una cantidad considerable de fibra, a su vez, esta oleaginosa posee un 5% de fibra soluble que aparece como un mucílago claro cuando se coloca en agua. Este permanece fuertemente adherido a la semilla y tiene un alto peso molecular. La gran viscosidad del mucílago de chía hace que aumente la duración del tránsito intestinal, demora el vaciado gástrico y retarda absorción de glucosa y reduce la del colesterol. (229,230)

A continuación se presenta el perfil de AG de lípidos totales de la semilla de chía. (Tabla 10)

**Tabla 10:** Perfil de ácidos grasos de lípidos totales de semillas de chía

<b>Ácido Graso</b>	<b>Media % EM</b>	<b>Rango % EM</b>
<b>14:0</b>	0,1	0,1-0,1
<b>16:0</b>	6,7	6,6-6,7
<b>16:1n7</b>	0,1	0,1-0,1
<b>18:0</b>	3,0	2,8-3,1
<b>18:1n-9</b>	6,9	6,6-7,0
<b>18:2n-6</b>	18,8	18,6-18,9
<b>18:3n-3</b>	58,7	58,2-59,1

% EM: Porcentaje sobre ésteres metílicos. Adaptado de Craig & Sons. (191)

Del 32,25% de aceite presente en la semilla de chía el 58,7% es ALA, siendo de esta forma la oleaginosa con mayor contenido de AGPI n-3 conocida por el hombre. Incluso mayor que el lino. (Figura 10)

En la Tabla 11 se muestra el contenido de las diferentes vitaminas presentes en semillas de chía.

**Tabla 11:** Contenido de vitaminas de semillas de chía

<b>Vitaminas</b>	<b>Media mg%</b>
<b>A</b>	--
<b>C</b>	5,4
<b>E</b>	--
<b>B1 – Tiamina</b>	0,7
<b>B2 – Riboflavina</b>	0,2
<b>B3 – Niacina</b>	7,2
<b>B6 – Piridoxina</b>	0,1
<b>B12 – Cianocobalamina</b>	--

Adaptado de Craig & Sons. (191)

La semilla de chía es una buena fuente de vitaminas B (Tabla 11). Recientes descubrimientos muestran que los niveles bajos de vitamina B en sangre están ligados a un riesgo creciente de sufrir enfermedad cardiovascular (231,232). Esto se debe a que la homocisteína, un aminoácido que no forma parte de las proteínas y no es un constituyente dietario normal, se eleva cuando los niveles de ácido fólico y vitamina B son inadecuados (233,234). Los investigadores postulan que cuando las células corporales vierten demasiada homocisteína en la sangre, los revestimientos arteriales se irritan, con lo que favorecen la formación de placas en las paredes arteriales (235,236). Por lo que se reconoce que una elevada concentración de homocisteína en suero constituye un riesgo importante e independiente de sufrir enfermedad cardiovascular. (237,238)

En la Tabla 12 se muestra la concentración de antioxidantes presentes en chía.

**Tabla 12:** Concentración de antioxidantes encontrados en extractos de semilla de chía

<b>Compuesto</b>	<b>Concentración moles/kg de semilla</b>
<b>No hidrolizados</b>	
<b>Flavonoles</b>	--
<b>Ácidos cinámicos</b>	
Ácido cafeico	$6,6 \times 10^{-3}$
Ácido clorogénico	$0,7 \times 10^{-3}$
<b>Hidrolizados</b>	
<b>Flavonoles</b>	
Mirecetina	$3,1 \times 10^{-3}$
Quercetina	$0,2 \times 10^{-3}$
Kaemferol	$1,1 \times 10^{-3}$
<b>Ácidos cinámicos</b>	
Ácido cafeico	$13,5 \times 10^{-3}$

Adaptado de Taga et al. (239)

En cuanto al contenido de antioxidantes (Tabla 12), los extractos de agua y metanol de la molienda de la chía, luego de obtener el aceite por prensa, mostraron una fuerte actividad antioxidante (239). Estos antioxidantes hacen que la chía sea una fuente de AGPI n-3 muy

estable y explica por qué los aztecas eran capaces de almacenar la semilla y la harina de chía por largos períodos sin que se pusiera rancia.

Los antioxidantes más importantes de la chía son los ácidos clorogénico y cafeico, tanto como los flavonoles miricetina, quercetina y kaempferol. (239)

Estos compuestos son antioxidantes primarios y sinérgicos y contribuyen en gran medida a la fuerte actividad antioxidante de la chía. (239)

Las investigaciones han demostrado que la quercetina es un poderoso antioxidante que puede impedir la oxidación de los lípidos, proteínas y DNA y sus propiedades son significativamente más efectivas que los flavonoles no-ortohidroxi (240). El ácido cafeico y el ácido clorogénico, ambos presentes en la chía, demostraron tener una fuerte actividad contra los radicales libres y los procesos oxidativos en general, inhibiendo la peroxidación de los lípidos. Estas propiedades antioxidantes son significativamente más fuertes que las del ácido ferúlico y las de los antioxidantes comunes como la vitamina C (ácido ascórbico) y la vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol). (241)

La oxidación de los lípidos en los alimentos representa un grave problema, particularmente con los AGPI n-6 y n-3. Si la oxidación no se controla, no sólo produce sabores extraños en los alimentos (típico "sabor a pescado"), sino que favorece también el envejecimiento y las enfermedades degenerativas de la edad como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, cataratas, disminución del sistema inmunológico y disfunción cerebral (242). En los alimentos que contienen antioxidantes, la oxidación y pérdida de palatabilidad debido a la generación de sabores extraños se retrasan. Los antioxidantes sintéticos tanto como los naturales pueden agregarse a los alimentos. Sin embargo, las tendencias recientes se han alejado de los productos sintéticos debido a la sospecha de que estos productos puedan ser cancerígenos. (126)

Cuando la chía se usa como fuente de AGPI n-3 no necesita el agregado de antioxidantes como la vitamina E. Por otra parte, se ha demostrado que las vitaminas antioxidantes



pueden anular los efectos protectores de determinadas drogas, por ejemplo, al reducir el aumento del colesterol HDL producido por la simvastatina. (243)

La chía, cuya oxidación es mínima o no existe, ofrece un significativo potencial frente a las demás fuentes de AGPI. Dado que dentro de estas últimas, el EPA y DHA de los productos marinos y el ALA del lino exhiben una descomposición rápida debido a la ausencia de antioxidantes adecuados. (126)

### **1.12.3 Aspectos agronómicos**

Históricamente, la chía ha sido cultivada tanto en ambientes tropicales como en los subtropicales, tanto en áreas libres de heladas como en regiones con heladas anuales (aunque no es tolerante a ellas) y desde el nivel del mar, hasta 2500m de altura.

La semilla de chía se siembra mecánicamente a razón de 6-8kg/ha con una separación entre surcos de 70 a 80cm y 75 en México y menos de 10mm de profundidad. No es necesario tratar la semilla químicamente previa a la siembra, aunque se aconseja utilizar algún herbicida como la trifluralina o la benceamina en presiembra. Al momento de la siembra y en la misma línea es conveniente aplicar fosfato diamónico como fertilizante y entre los 30 y 40 días post siembra se puede aplicar 150kg/ha de urea localizada en líneas. Este cultivo no requiere de la aplicación de insecticidas. (126,191)

El rendimiento puede variar dependiendo de la zona donde se siembre este cultivo pero ronda entre los 500 y 800kg/ha. Aunque algunos productores de Salta y Acatic han obtenido 1260 y 1000kg/ha respectivamente (126). Incluso, en Salta lotes experimentales produjeron 2500kg/ha al aplicárseles riego y fertilización (126). Esto nos indica que la chía tiene potencial para una buena producción pero tales variaciones muestran la necesidad de tener genotipos adaptados a las diferentes zonas, con el fin de obtener rindes comerciales aceptables.

La semilla es cosechada mecánicamente con una cosechadora adaptada para tal fin. Aunque la principal dificultad con este sistema es la maduración de la flor central, que lo hace tempranamente, mientras muchas inflorescencias de las ramas laterales permanecen verdes. Esperar a que todas las semillas estén secas implicaría aumentar el riesgo de pérdidas bajo condiciones climáticas adversas (lluvias, vientos, etc.), o por otras causas (pájaros), debido a que las semillas que maduran primero permanecerán en la planta por un extenso período. Puesto que la chía tiene gran cantidad de follaje, los ecosistemas sin lluvias, o con heladas durante la cosecha, desecan el follaje, con lo que facilitan la recolección; otra alternativa es adelantar el proceso aplicando paraquat (a razón de 1litro/ha). (191)

Como la chía es sensible a la duración del día, la estación de crecimiento depende de la latitud donde se siembre. Por ejemplo, un cultivo sembrado en La Unión, Valle de Cauca, Colombia, está listo para ser cosechado a los 90 días, en tanto que el mismo, sembrado en El Carril, Salta, Argentina, necesita 150 días. En latitudes mayores como Choele Choel, Argentina o Tucson, Arizona, Estados Unidos, la chía no produce porque la planta muere por las heladas antes de florecer. (126,244,245)

Luego de la cosecha, la semilla es limpiada mecánicamente y usualmente se almacena en sacos para facilitar el transporte.

Por otra parte, se encontró una correlación negativa entre las temperaturas medias y el contenido de ALA de la semilla de chía formada a principios de abril y fines de mayo, igual comportamiento se halló entre semillas cosechadas en Colombia y el Perú (246). Es probable que las altas temperaturas reduzcan la formación de ALA, tal como ocurre con otras oleaginosas, según lo informado por diversos autores. (247-249)

### 1.13 Procesos aplicados a los granos

En nutrición animal, con la aplicación de un proceso determinado se busca una mejora de este producto, ya sea desde el punto de vista nutricional con un mayor aprovechamiento de los nutrientes por parte del animal, o bien para un mejor manejo del producto, reduciendo volúmenes, evitando presencia de polvos y la consecuente voladura, contaminaciones, etc.

#### 1.13.1 Molienda

Existen dos sistemas diferenciados que emplean martillos metálicos que giran a 1500-3000 rpm anclados a un eje y que rompen los granos por impacto haciendo salir las partículas a través de una malla metálica de orificios entre 2,5–8,0 mm (tamices). De esta forma se reduce el tamaño de partícula de una gran variedad de materiales (250) aumentando la superficie de contacto del producto con las enzimas digestivas. De por sí, los animales requieren que el alimento llegue al intestino bien triturado, de manera que las enzimas puedan cumplir con su función catalítica. La molienda de los cereales incrementa la digestibilidad de los glúcidos, tanto *in vitro* (251) como *in vivo* (252). Sin embargo, un molturado excesivo puede acarrear problemas de consumo (253) y digestivos (254) al producir atrofia de molleja y una discreta hipertrofia de intestino (253,255,256) o bien disminuir la capacidad de unión de las sales biliares. (257)

El tamaño de las partículas se establece a partir del diámetro geométrico medio. Para que la información de la granulometría sea completa se aconseja que una medida de dispersión acompañe esos datos. Esta medida de dispersión viene dada por el “desvío patrón geométrico”, que establece una relación de amplitud de la variación de la granulometría de las diferentes partículas. Así, la información utilizada para establecer la granulometría en relación al porcentaje retenido en un determinado tamiz no es correcta y aporta poco al conocimiento de la calidad de molienda utilizada.

Varios motivos, entre ellos los económicos, han llevado a investigar si el suministro de granos enteros afecta los parámetros productivos de las aves. (258)

Como resultado de esto se observó que los pollos presentaron un consumo menor y eso pudo haber producido un peor resultado cuando el suministro de trigo entero fue secuencial y con más o menos 8 horas de oferta (258). Los pollos siempre disminuyen el consumo de ración cuando les ofrecen una dieta mal balanceada. Cuando se les ofreció a los pollos la opción entre trigo entero o dieta balanceada, solamente el 5% del consumo total fue trigo entero. (258)

La chía, dado su minúsculo tamaño, habitualmente se ha agregado a las dietas en forma entera. Sin embargo, con la chía molida se podría mejorar la absorción de los AGPI n-3 en aves, y por lo tanto en nivel resultante en los huevos y carne producidos. (126)

En un estudio realizado en la Sección Avicultura del INTA EEA Pergamino se encontró que la energía metabolizable verdadera difería enormemente si esta era suministrada entera o molida a los gallos (693 vs 4089kcal/kg, para chía entera y molida respectivamente).

Por otra parte, utilizando lino, cuando se comparó la deposición de AGPI n-3 en yemas de huevo con semillas enteras y molidas, se encontró una mayor deposición con estas últimas. (259)

Un problema que surge con el lino molido es el riesgo de enranciamiento (259), por tal motivo resulta difícil asegurar la calidad de esta materia prima en condiciones normales de producción, no obstante la chía, gracias a su elevada carga de antioxidantes (Tabla 12), no ha mostrado deterioro oxidativo significativo durante extensos períodos de almacenamiento. (126)

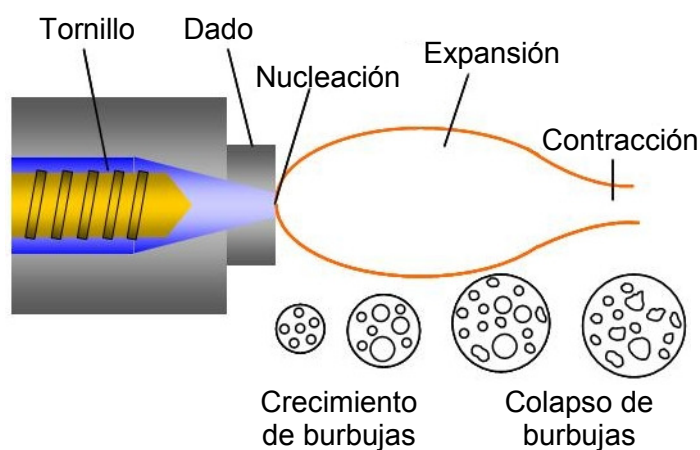
### **1.13.2 Extrusión**

La extrusión se caracteriza por ser un proceso de alta temperatura y corto tiempo de residencia (260), donde el alimento es expuesto a alta temperatura (80-200°C) por un

período de tiempo relativamente corto (10-270s), y simultáneamente es expuesto a alta presión y fuerzas de corte. (261)

Centrándonos en la extrusión aplicada al tratamiento de cereales, oleaginosas y alimentos, el proceso consiste en hacer pasar al producto en cuestión a través del, o los orificios de una matriz o dado mediante la presión ejercida por un tornillo sinfín que gira a determinada velocidad. (Figura 13)

**Figura 13:** Diagrama del proceso de extrusión



Adaptado de Nowjee. (262)

Este proceso de extrusión se puede efectuar con el acondicionamiento del material antes de la extrusión por medio de vapor o sin él, y según sea el caso habrá dos métodos:

- Húmedo
- Seco

Dentro del proceso de extrusión en húmedo se pueden diferenciar a la vez dos tipos, el de corto tiempo y alta temperatura y el de cocción a presión. (263)

#### 1.13.2.1 El proceso de extrusión en húmedo

En la extrusión en húmedo es muy importante conseguir que:

- el producto a procesar esté bien molturado,
- se pueda regular la temperatura de las diferentes secciones del proceso (para conseguir la máxima calidad nutritiva del producto),
- el agua y el vapor sean adecuados para conseguir el nivel de humedad necesarios, y
- la presión y la superficie de apertura de la matriz sean las adecuadas.

De esta manera el producto que salga será de máxima calidad y con el mínimo costo.

Una vez obtenido el producto extrusado procedente de una extrusión en húmedo, es necesario secarlo, puesto que sale de la extrusora con una humedad del 22-30%. El producto se seca mediante una corriente de aire caliente hasta conseguir una humedad final entre 7-12%.

El proceso de acondicionamiento y extrusión de corto tiempo/alta temperatura implica una serie de etapas:

- acondicionamiento a presión atmosférica por medio de vapor y agua a una temperatura de salida del producto de 70-100°C;
- un método de aplicación del agua añadida ya sea vapor o agua muy uniforme;
- una configuración del extrusor diseñado para trabajar con el producto acondicionado;
- un medio de elevar la temperatura en el extrusor hasta 200°C durante un corto periodo de tiempo (entre 10 y 25 segundos);
- una matriz capaz de dar forma al producto procesado; y
- un sistema de corte del producto elaborado.

Mientras que el acondicionamiento y extrusión a presión implica estas fases:

- alimentación del producto a procesar en una cámara a presión con aplicación de vapor a presión reducida;
- tiempo de cocción desde el inicio al final del proceso entre 2 y 10 minutos;
- matriz que da forma; y
- cortador del producto elaborado.

### *1.13.2.2 El proceso de extrusión en seco*

Su utilización está limitada a ingredientes con elevado contenido en aceite, como por ejemplo para el procesado de poroto de soja, puesto que el propio aceite lubrica el paso por la matriz. (264)

Este procedimiento de extrusión en seco tiene, a diferencia del proceso en húmedo, el inconveniente de alcanzar temperaturas muy elevadas (263), con lo que se corre riesgo de disminuir la lisina disponible. (265)

Además, este procedimiento no es posible aplicarlo a cereales o piensos, por la imposibilidad física de trabajar con la máquina a este nivel de humedad.

### *1.13.2.3 ¿Qué ha ocurrido en el proceso de extrusión?*

En la extrusión el agua es sometida a temperaturas muy superiores a las de su vaporización, pero permanece en estado líquido porque se encuentra sometida a elevadas presiones (varias decenas de atmósferas). En el momento en que el producto sale por el orificio de la matriz, el agua que está íntimamente mezclada con el producto sufre un brusco cambio de presión y se evapora instantáneamente. Es por ello que el producto sufre una expansión y las cadenas proteicas así como las de almidón son modificadas, aumentando la superficie y volviéndose más atacable por las enzimas (266), con lo que el producto se hace más digestible (265,267-269), además de reducir la carga microbiana. (270)

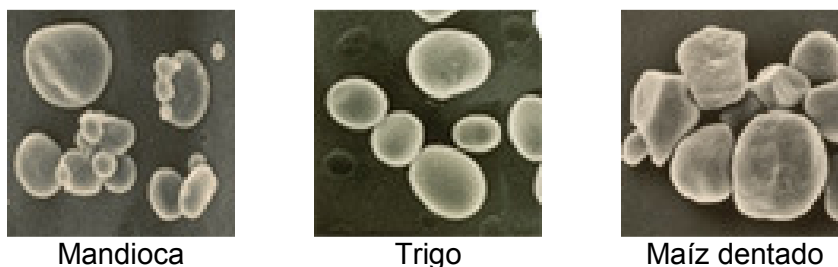
### *1.13.2.4 Efecto de la extrusión sobre los almidones*

El almidón es la mayor fuente de glúcidos en la dieta de las aves (271) se encuentra principalmente en los cereales, tubérculos y otras semillas. Al igual que la celulosa, es un polímero de glucosa, con la diferencia que en el almidón las moléculas de glucosa están ligadas por un enlace  $\alpha 1 \rightarrow 4$ , en lugar del  $\beta 1 \rightarrow 4$  de la celulosa. (272)

Se ha propuesto una clasificación nutricional del almidón en rápidamente digestible, lentamente digestible y el resistente; donde los dos primeros son digeridos en el intestino delgado mientras que el resistente es la fracción del almidón que escapa a la digestión en el intestino delgado y es lentamente fermentada en el intestino grueso. (273)

El almidón se encuentra en los cereales en forma de gránulos pequeños de diferentes formas (esféricos, ovalados, lentillas, irregulares) en función de su origen. (Figura 14) (266,271)

**Figura 14:** Diferentes tipos de almidón



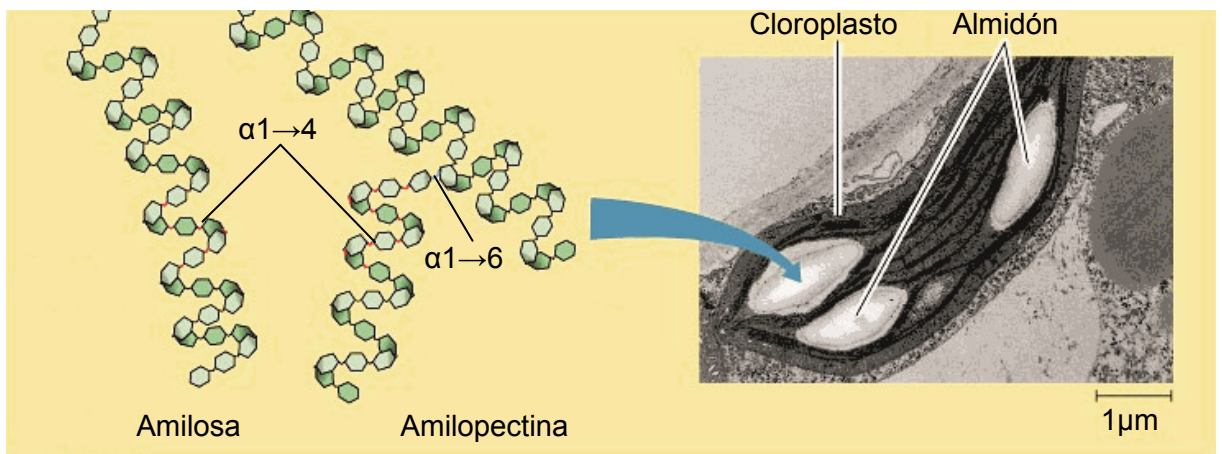
Adaptado de Food Resource (Oregon State University). (266)

Dentro de los cereales el almidón existe en forma hidratada, polimérica o formando un entramado cristalino.

Cuando el almidón se trata en agua caliente aparecen dos fracciones, el componente más soluble la amilosa que se disuelve y la amilopectina que permanece insoluble. En los cereales la amilosa viene a representar el 10-20% y la amilopectina el 90-80% del almidón total cuya relación varía según la fuente. (274)

Las estructuras de la amilosa y amilopectina son como se muestran en la Figura 15.



**Figura 15:** Constituyentes del almidón

La amilopectina está formada por las mismas unidades de glucosa que la amilosa, pero difiere en que tiene una estructura molecular que no es lineal, lo que la hace más digestible. (271)

Las proporciones principales de su cadena están unidas por enlaces  $\alpha 1 \rightarrow 4$  de glucosa que produce maltosa como primer producto de digestión, pero las ramas están unidas por enlaces  $\alpha 1 \rightarrow 6$ , enlaces que originan el producto isomaltosa antes de su digestión final a glucosa. (272)

La enzima  $\beta$ -amilasa que se encuentra en las plantas desdobla el segundo enlace  $\alpha 1 \rightarrow 4$  desde el extremo no reductor generando moléculas de maltosa. Esta hidroliza por completo la amilosa, pero disgrega solamente un 60% de la amilopectina. La restante estructura polimérica que contiene una alta proporción de enlaces  $\alpha 1 \rightarrow 6$  se denomina dextrina. (263)

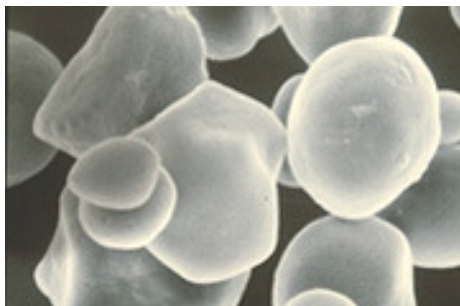
La  $\alpha$ -amilasa, la enzima que disgrega el almidón en el aparato digestivo de los animales, puede hidrolizar los enlaces  $\alpha 1 \rightarrow 4$  en ambos lados de los puntos de ramificación  $\alpha 1 \rightarrow 6$  dejando oligosacáridos muy pequeños que son descompuestos a glucosa por la oligo-1,6-glucosidasa de la mucosa intestinal. Esta enzima separa los enlaces  $\alpha 1 \rightarrow 6$  de las dextrinas y disgrega la isomaltosa resultante en unidades de glucosa. La enzima maltasa, también

presente a nivel de la mucosa intestinal, divide la maltosa en dos moléculas de glucosa. (263,272)

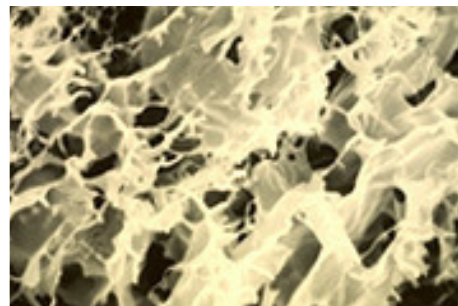
El problema en pollitos es que su aparato digestivo en las primeras semanas de vida no está maduro y la segregación de maltasa y amilasa son insuficientes para dietas con una elevada proporción de cereales (275). Es por ello que el suministro de cereales extrusados, con un alto grado de gelatinización de los almidones, facilita la digestión de los almidones haciendo el conjunto de la dieta más digestible y evitando así problemas sanitarios, favoreciendo un mayor consumo y un mayor crecimiento diario. (263)

En el proceso de extrusión, el gránulo de almidón absorbe agua y en el instante de salida del dado de la extrusora, el agua sometida a presión pasa a la forma de vapor y el almidón sufre un proceso de alineamiento, rizado y rotura tal como se muestra en la Figura 16.

**Figura 16:** Gránulos crudos y gelatinizados de almidón



Gránulos crudos  
de almidón



Gránulos gelatinizados  
de almidón

Adaptado de Food Resource. (266)

En la micrografía de la derecha se puede observar como se perdió la estructura cristalina de los gránulos de almidón.

El método analítico para determinar la calidad del producto procesado en forma cuantitativa es el método enzimático de la glucoamilasa. Este método mide el % de gelatinización (grado de cocción), que es la cantidad de almidón gelatinizado en la muestra expresada como un porcentaje del almidón total.

El cambio sufrido en la estructura de los cereales durante la extrusión es de tal magnitud, que se puede decir que el producto resultante es un nuevo producto.

#### *1.13.2.5 Efecto de la extrusión sobre las grasas*

Los aceites que contienen los cereales, así como los aceites de leguminosas, al ser el producto extrusado escapan de las células al romperse las membranas que los contenían y sufren un proceso de emulsión debido a la fuerte presión a que son sometidas las finas gotas de grasa y son recubiertas por los almidones y proteínas, quedando la grasa encapsulada. De esta manera, la grasa al estar emulsionada es fácilmente atacada por los jugos digestivos de los animales, aumentando su absorción del 69 al 91% en el caso de poroto de soja, por consiguiente aumenta la energía del producto (276). Generalmente las lipasas y peroxidasas son inactivadas durante este proceso mejorando la estabilidad posterior del producto. (263)

#### *1.13.2.6 Efecto de la extrusión sobre la proteína*

La extrusión de productos con elevado contenido proteico se suele realizar generalmente para controlar los inhibidores del crecimiento que están contenidos en las materias primas. Durante el proceso de extrusión, estos inhibidores son suficientemente inactivados para evitar bloquear la actividad enzimática en el intestino. Se intenta en estos casos conseguir, por un lado, el mínimo contenido en factores antitripticos, y por otro, la máxima lisina disponible en el producto. Es sabido que la lisina es un aminoácido muy reactivo y el proceso que sea menos agresivo será el mejor desde el punto de vista nutritivo. En la extrusión las moléculas proteicas se alinean a largo de la matriz o dado. En ausencia de cantidades importantes de almidón, la cocción por extrusión reduce la solubilidad de la proteína cuando la temperatura aumenta, disminuyendo su digestibilidad (263). Gracias a

esto muchas enzimas son desnaturalizadas por la extrusión y pierden, por tanto, sus propiedades funcionales. (272)

En productos con elevado contenido en almidón, la proteína queda dentro de la matriz formada por el almidón, con lo que queda enredada y encapsulada. No obstante, las enzimas digestivas del tracto intestinal disuelven la matriz de almidón, liberando la proteína. (263)

#### *1.13.2.7 Efecto de la extrusión sobre la fibra*

En el caso del trigo se puede decir que la fibra se solubiliza, incrementando la disponibilidad para su fermentación. Así por ejemplo al extrusar salvado de trigo ocurre una redistribución de la fibra, pasando parte de la fibra insoluble a fibra soluble, la cual se incrementa sensiblemente. (277)

#### *1.13.2.8 Vitaminas*

Cada vitamina tiene sus propias características de estabilidad durante los procesos térmicos. Los efectos en la estabilidad en las vitaminas durante la extrusión son complicados debido a la acción de la humedad, fricción, altas temperaturas y presiones. (263)

Las vitaminas liposolubles A, D y E, en general, son razonablemente estables durante la extrusión. El nivel de humedad del producto durante la extrusión tiene el mayor efecto sobre la retención de vitaminas. Como norma general, un alto nivel de humedad en el proceso da más vitaminas retenidas.

Las vitaminas hidrosolubles, como la vitamina C o las del grupo B, pueden perder estabilidad durante la extrusión. La extrusión húmeda produce una pérdida de vitamina C y tiamina. (278)

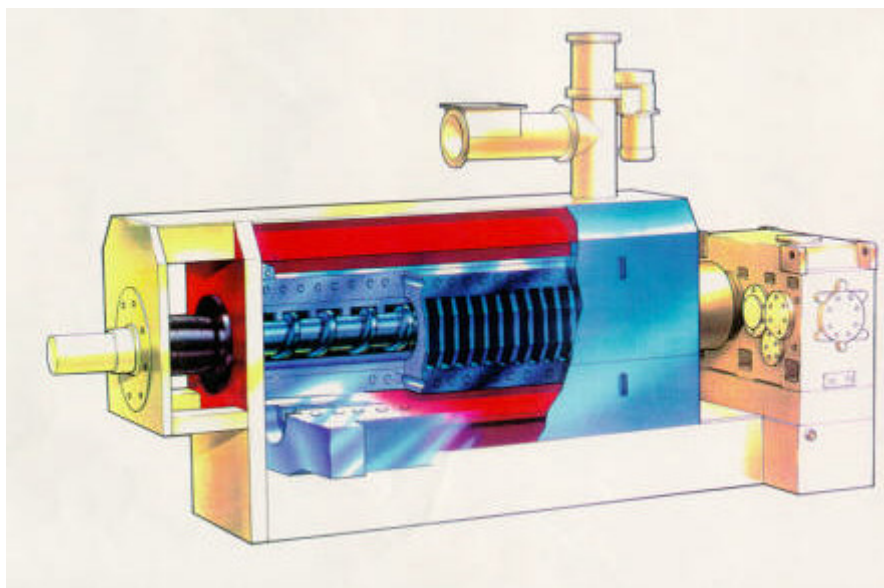
### **1.13.3 Prensa**

Recientemente se ha incrementado el interés en las prensas a pequeña escala para la extracción de aceite de oleaginosas. Esto surgió como alternativa para la obtención, a nivel local, de aceite tanto comestible como para la producción de biodiesel para autoconsumo. En este caso no solo es importante la calidad del aceite, sino también hay que tener en cuenta la calidad de la torta de extracción, lo que comúnmente se denomina expeller. Hoy día, existe un marcado interés en incrementar la eficiencia de extracción de aceite a gran escala para reducir los gastos energéticos, lo que se ha logrado con el uso de la extrusión previa. (279)

En sí, el proceso consiste en moler la semilla con un molino de martillos o con rodillos estriados, de esta forma se obtiene una pasta o harina donde se ha conseguido la ruptura de la pared celular, lo que expone el aceite localizado en el interior de la célula. (280)

El resultado de la molienda se somete a extracción por presión en una prensa hidráulica (discontinua) o en prensas de tornillo (continua) (Figura 17). En general la prensa de tornillo, simple o doble, más moderna, ha reemplazado a muchas prensas hidráulicas porque permite un proceso continuo, tiene mayor capacidad, requiere menor mano de obra y generalmente extrae mayor cantidad de aceite. (280)

**Figura 17:** Modelo de prensa a tornillo para la extracción de aceite



Adaptado de Desmet Ballestra. (280)

Posteriormente se eliminan las impurezas "gruesas" del aceite en un tamiz vibratorio y el abrillantamiento final se obtiene por filtración. (280)

Puede haber calentamiento previo a la extracción o no, dependiendo del tipo de semilla o fruto a extraer y de la calidad del aceite que se desea obtener. Los aceites obtenidos sin calentamiento, en frío, contienen menor cantidad de impurezas y su calidad es tal que suelen ser comestibles sin posterior refinado o procesado. Al presionar la torta mientras es calentada se extrae más aceite, pero también mayor cantidad de impurezas de naturaleza no glicérica (fosfolípidos, pigmentos, materia insaponificable, etc). (280)

La calidad del aceite se puede medir a través de diversos parámetros, los cuales pueden ser contaminantes no-triacilglicéridos, AG libres y productos de oxidación. Normalmente se define como un "aceite de buena calidad" a aquel que posee mínimos contaminantes y productos de oxidación, pero si posee antioxidantes como los tocoferoles. Los componentes no-triacilglicéridos pueden tener una importante influencia en el curso de la oxidación y su identificación y extracción a través del proceso de refinado es crucial. (279)

En el caso del expeller la calidad del producto se mide por los aportes nutricionales que este posea, normalmente está dado por el aceite residual y por el grado de tostado que este pueda alcanzar, dado que durante el proceso se genera calor con la consecuente desnaturalización de las proteínas. Esta desnaturalización es deseable en algunos tipos de oleaginosas como ser el poroto de soja, dado que se inactivan sus factores antinutricionales. (265)

### **1.14 Digestión, absorción y distribución de lípidos en las aves**

Dentro del término lípidos se incluye un grupo heterogéneo de sustancias cuya característica común es su solubilidad en solventes orgánicos. Dentro de este grupo los AG, triacilglicéridos, fosfolípidos, esteroides y vitaminas liposolubles son los más importantes, nutricionalmente hablando. (272)

Los triacilglicéridos son ésteres de AG con el glicerol y son la principal forma de almacenamiento de energía tanto en plantas como en animales, constituyendo el 90% de las grasas y aceites (272). Por lo tanto, son también un importante ingrediente energético para alimentación animal.

#### **1.14.1 Emulsión y formación de micelas**

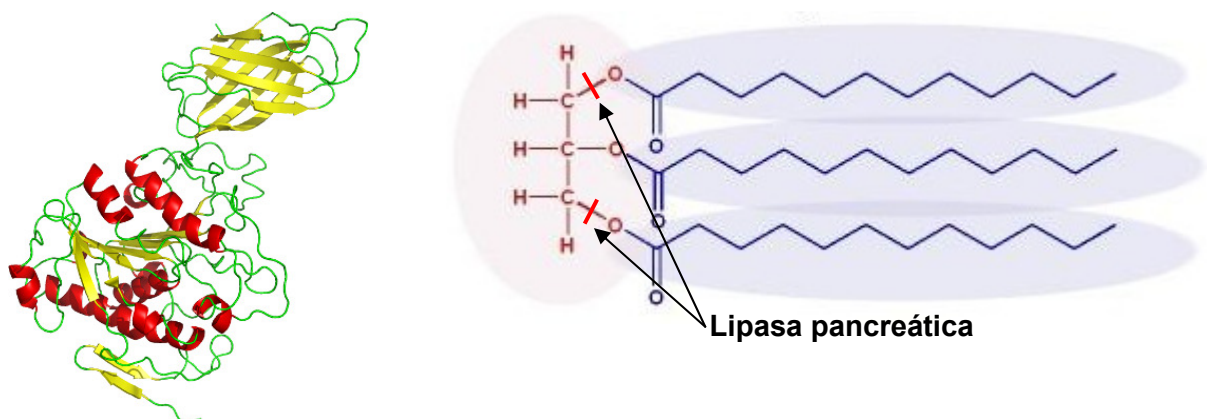
Las aves, a diferencia de los mamíferos presentan muy baja actividad lipolítica en el estómago por lo que la óptima emulsión de la grasa para la posterior formación de micelas y absorción de lípidos a nivel intestinal parece ser debida a la existencia del reflejo entero-gástrico. Mediante este mecanismo, parte de los triacilglicéridos hidrolizados en el duodeno vuelven nuevamente a la molleja, acompañados por parte de las sales biliares, donde intervendrán en la correcta emulsión de la grasa. (281)

La grasa emulsionada está formada por pequeños agregados esféricos de 200 a 5000 nm de diámetro, constituidos por lípidos polares (fosfolípidos, glicolípidos y monoacilglicéridos).

Gracias a la característica anfotérica de estos lípidos se pueden situar formando una monocapa en la interfase óleo-acuosa, dirigiendo su extremo polar hacia el agua y su extremo apolar hacia el resto de sustancias lipídicas. Dentro de estos agregados se engloban los lípidos menos polares (triacilglicéridos, esteroides, vitaminas liposolubles) y los totalmente apolares (como las ceras, ésteres de vitaminas o de esteroides). Las sales biliares entran en contacto con la grasa emulsionada disolviendo algunos de sus constituyentes y proporcionándole carga negativa. Es de vital importancia que las sales biliares se mantengan en solución a los niveles de pH que se dan en la molleja. Para ello se forman conjugados de las sales biliares con la taurina que permiten su disolución incluso a niveles de pH cercanos a 1.

Ya en el duodeno, la carga negativa proporcionada por las sales biliares atrae a la colipasa cuya función es la de mantener la lipasa pancreática cerca del glóbulo de grasa para permitir su acción. La lipasa pancreática hidroliza preferentemente los AG situados en los carbonos 1 y 3 del triacilglicéridos, dando lugar a 2-monoacilgliceroles y AG libres, con carácter más polar (Figura 18). Se forman así partículas más pequeñas denominadas micelas cuyo diámetro aproximado es de 3-10 nm.

**Figura 18:** Estructura y acción de la lipasa pancreática



Adaptado de Walker et al. (282)



Otras enzimas pancreáticas involucradas en la digestión de lípidos son las fosfolipasas A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> y la carboxil-ester-hidrolasa. Dichas enzimas catalizan la hidrólisis de los fosfolípidos (dando AG libres y lisofosfolípidos) y diferentes esteres de AG, como los de colesterol.

Los derivados lipídicos más polares pasan a la fase acuosa del intestino y entran a formar parte de las micelas, junto con las sales biliares, englobando a otros lípidos no polares. El carácter hidrofílico de las micelas les permite atravesar la capa acuosa adyacente a la membrana celular y entrar en contacto con la membrana del enterocito para la absorción de los lípidos.

### **1.14.2 Absorción de lípidos**

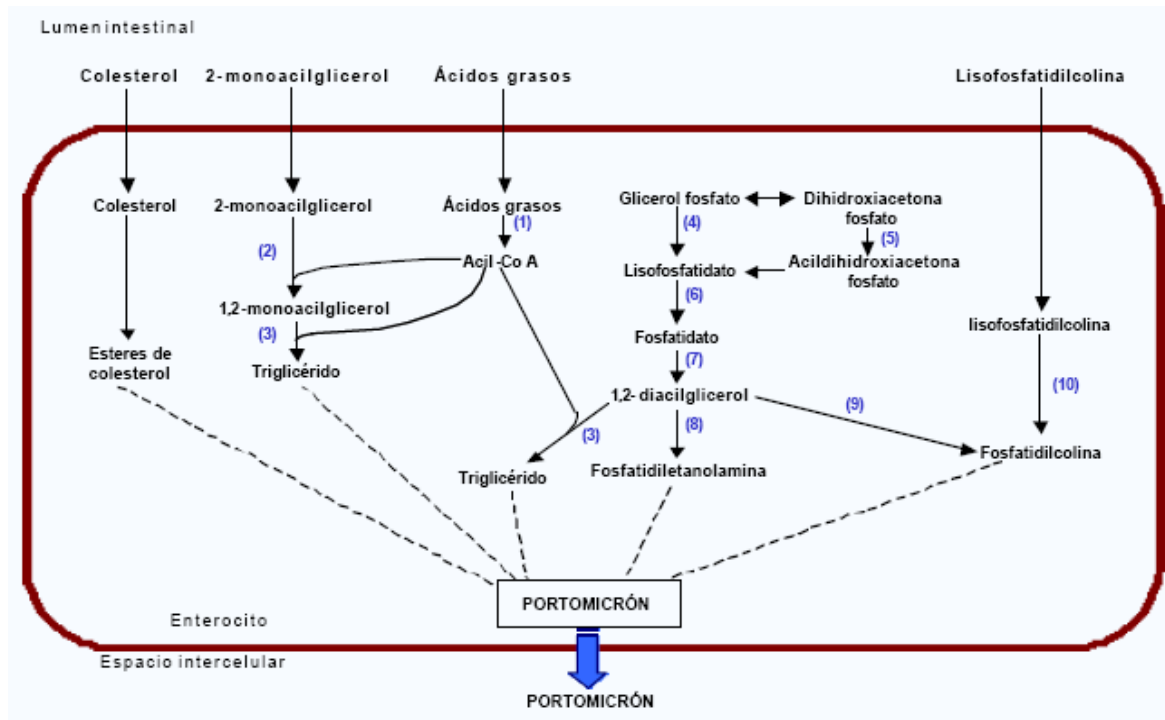
El proceso de transporte de lípidos a través de la membrana de la célula intestinal se realiza mediante un proceso de difusión pasiva, principalmente a nivel del yeyuno. Existen diferentes factores que determinan el grado de absorción de las grasas:

- **AG libres o monoacilglicéridos:** Tras la hidrólisis de los triacilglicéridos se liberan AG libres y monoacilglicéridos. Gracias a los 2 grupos hidroxilo de los monoacilglicéridos su grado de polaridad es mayor que el de los AG libres, lo cual favorece su absorción.
- **Grado de insaturación:** Las proteínas transportadoras de AG (FABP, por sus siglas en inglés) tienen mayor afinidad por los AGPI y éstos, además, tienen más capacidad para formar las micelas por lo que su grado de absorción es mayor respecto a los AGS.
- **Longitud de cadena:** a menor longitud de cadena del AG mayor polaridad con relación al tamaño de la molécula, y por lo tanto, mayor capacidad de interacción con el medio acuoso. De hecho, los AG de cadena media y corta no necesitan estar incorporados en las micelas para ser absorbidos, ni necesitan proteínas transportadoras citosólicas (FABP), ni las lipoproteínas plasmáticas, ya que son transportados unidos a la albúmina.
- **Interacciones:** La combinación de AGPI y AGS mejora la absorción de los últimos de forma que a partir de un 2% de aceite de soja sobre el total de grasa de la dieta, mejora

la energía metabolizable del sebo, haciéndose máxima esta mejoría a partir de un 3% de inclusión de grasa en la dieta (283). La mayor facilidad de los AGPI para formar micelas mejora también la incorporación de los AGS a éstas, facilitando su absorción. Tal es dicho sinergismo que varios autores han establecido ecuaciones exponenciales que relacionan el grado de insaturación con la digestibilidad y el contenido en energía metabolizable de la dieta (284,285). El mismo mecanismo se produce al combinar monoacilglicéridos con AG libres. (286)

Dentro de la célula intestinal se vuelven a formar los triacilglicéridos, fosfolípidos y ésteres de colesterol que serán integrados en los portomicrones para su paso a la circulación portal. En la Figura 19 se esquematizan estas vías de síntesis. Cabe aclarar, que en el caso de las aves, la reesterificación de los AG absorbidos no es total y hasta un 50% pueden pasar directamente a la sangre y ser transportados por la albúmina. (287)

**Figura 19:** Síntesis de lípidos en el enterocito y formación de portomicrones



- |  |   |
|--|---|
| (1) Acil-CoA sintetasa                       | (6) Lisofosfatidato aciltransferasa       |
| (2) Monoacilglicerol aciltransferasa         | (7) Fosfatidato fosfohidrolasa            |
| (3) Diacilglicerol aciltransferasa           | (8) Etanolamina fosfotransferasa          |
| (4) Glicerol fosfato aciltransferasa         | (9) Colina fosfotransferasa               |
| (5) Dihidroxiacetona fosfato aciltransferasa | (10) Lisofosfatidilcolina aciltransferasa |

Adaptado de Crespo. (288)

### 1.14.3 Metabolismo de las lipoproteínas

Las lipoproteínas son complejos lipoproteicos que permiten el transporte de los lípidos a través de la sangre (Figura 20). Están compuestos por un núcleo hidrofóbico (lípidos no polares) y una capa externa de lípidos polares y apoproteínas. Según su contenido en triacilglicéridos y su densidad se diferencian 5 tipos de lipoproteínas en el pollo. (Tabla 13)

Las apoproteínas, aparte de aportar carácter hidrofílico a las lipoproteínas, juegan un papel muy importante en el metabolismo y reconocimiento de estas macromoléculas por los tejidos corporales. Existen al menos 13 apoproteínas en mamíferos con diferentes funciones y aunque en pollos no están tan bien identificadas ejercen funciones similares. (Tabla 14)

Figura 20: Metabolismo de las lipoproteínas en aves

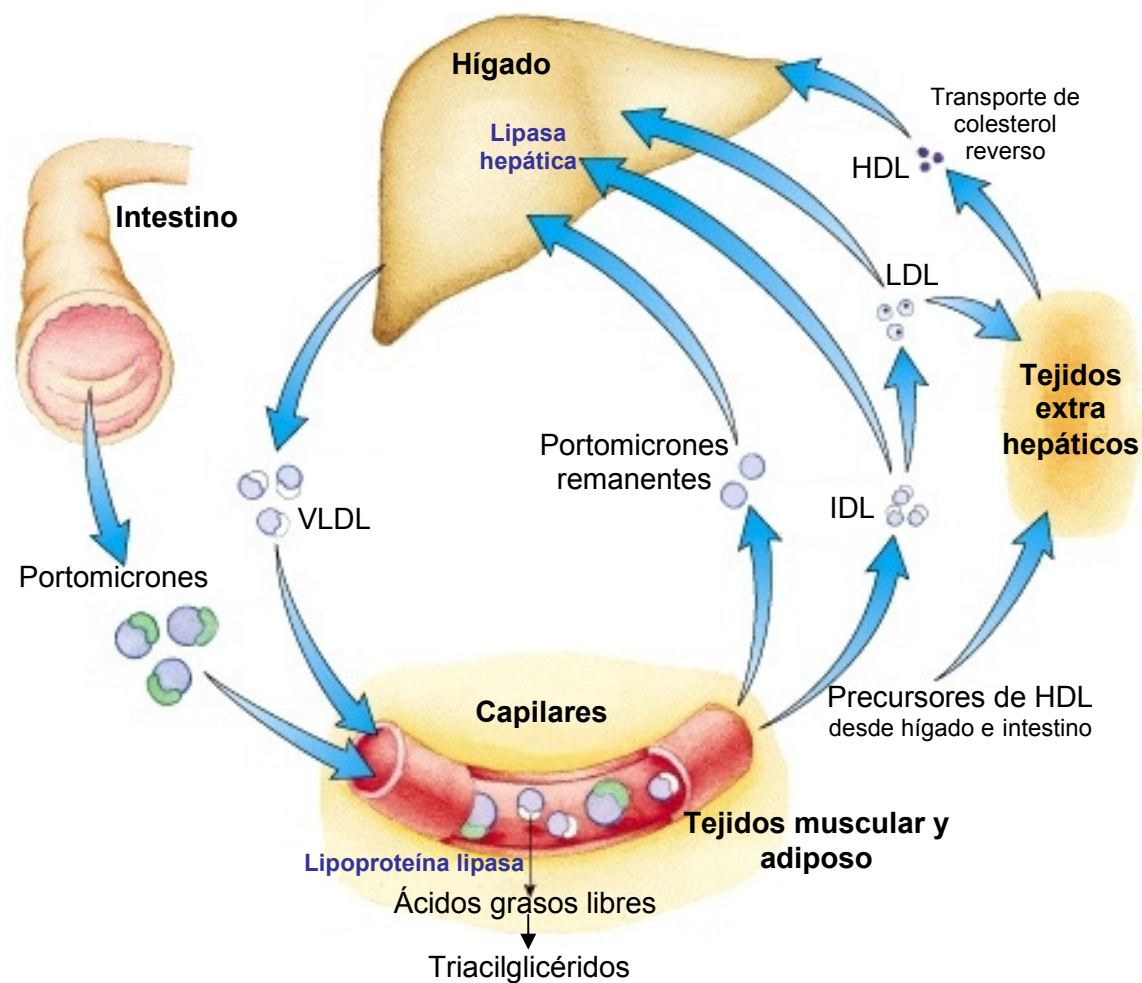


Tabla 13: Principales características de las lipoproteínas de pollos

	PM	VLDL	IDL	LDL	HDL
<b>Densidad</b>	<1,023	<1,023	1,013-1,023	1,123-1,046	1,052-1,130
<b>Composición</b>					
Triacilglicéridos	88,8	59,3	16,3	7,9	2,5
Fosfolípidos	6,2	14,2	20,2	22,9	28,6
Colesterol	3,6	5,2	7,7	9,7	3,2
Ésteres de Colesterol		11,1	30,9	32,5	22,5
Proteínas	1,4	11,3	25,4	26,8	43,3

PM: Portomicrones; VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad; IDL: Lipoproteínas de densidad intermedia; LDL: Lipoproteínas de baja densidad; HDL: Lipoproteínas de alta densidad. (287)

**Tabla 14:** Apoproteínas en humanos y aves

<b>Función</b>	<b>Humano</b>	<b>Aves</b>
<b>Componente de lipoproteínas</b>		
QM/PM	A-I, A-II, A-IV, C-II, E, B <sub>48</sub>	B, C-II
VLDL	A-I, A-II, B <sub>100</sub> , C-II, D, E	A-I, B, C-II
LDL	B, C	A-I, B
HDL	A-I, A-II, C, D, E	A-I, C-II
IDL	E	A-I, B
Secreción de lipoproteínas	B <sub>48</sub> , B <sub>100</sub>	B
<b>Activación de enzimas</b>		
LPL	C-II	C-II
LCAT	A-I, C-I, A-IV	A-I
LH	A-II	A-I
<b>Reconocimiento por receptores</b>		
Receptor de LDL, IDL	B <sub>100</sub> , E	B
Receptor de QM/PM remanentes	E	A-I
Receptor de HDL	A-I	B, C-II
Inhibición del reconocimiento por receptores	C-I, C-II, C-III, (A-II)	
Transferencia de lípidos	D	
Transporte inverso de colesterol	A-I, A-IV, E	

PM: Portomicrones; QM: Quilomicrones; VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad; IDL: Lipoproteínas de densidad intermedia; LDL: Lipoproteínas de baja densidad; HDL: Lipoproteínas de alta densidad; LPL: Lipoproteína lipasa; LCAT: Lecitina colesterol acil transferasa; LH: Lipasa hepática. (287,289)

#### 1.14.3.1 Metabolismo de los portomicrones

A diferencia de los quilomicrones de mamíferos, los portomicrones pasan a la circulación portal, por lo que son dirigidos directamente al hígado. Sin embargo, al igual que en mamíferos, la captación por parte del hígado no sucede hasta después de ser parcialmente metabolizados en los tejidos extrahepáticos, con un tiempo medio de circulación de 3-4 minutos. (287)

Los portomicrones circulantes son sustrato de la enzima lipoproteína lipasa, que se encuentra anclada en el endotelio capilar y es activada por la Apo C-II. En este proceso se produce la hidrólisis de los triacilglicéridos y parte de los fosfolípidos, liberándose AG que serán captados por los tejidos o transportados por el plasma unidos a la albúmina. El resto de fosfolípidos de los portomicrones junto con las Apo C, serán transferidos a las lipoproteínas de alta densidad (HDL: High Density Lipoprotein), quedando un portomicrón remanente rico en ésteres de colesterol que será captado por el tejido hepático (con

receptores para la Apo B). La lipoproteína lipasa está regulada por diferentes hormonas y puede presentar variaciones en su actividad y en su afinidad por ciertos AG.

#### *1.14.3.2 Metabolismo de las VLDL*

Las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL: very low density lipoprotein) son sintetizadas en el hígado y liberadas a la circulación conteniendo triacilglicéridos, colesterol, fosfolípidos y las correspondientes apoproteínas (Tabla 14). En el pollo, el hígado es el principal sitio de síntesis de AG (290), por lo que la deposición corporal de grasa dependerá en gran medida de la secreción y los niveles plasmáticos de VLDL. De hecho, existe una clara correlación entre los niveles plasmáticos de VLDL y el engrasamiento corporal en el pollo, siendo este parámetro bioquímico un factor de selección para las líneas grasas y magras de pollos.

En cuanto a la secreción de VLDL son menos conocidos los factores que regulan este proceso, sin embargo, parece ser que la enzima  $\Delta 9$ -desaturasa juega un papel importante, tal y como lo demuestran los diferentes trabajos de Legrand (291-295). El mecanismo por el cual esta enzima favorece la secreción de VLDL no está muy claro, aunque se han considerado algunas hipótesis. La enzima  $\Delta 9$ -desaturasa incorpora un doble enlace en el carbono 9 de los AG, formando ácido oleico y palmitoleico a partir del esteárico y palmítico, respectivamente (296,297). La introducción de este doble enlace produce una disminución en el punto de fusión del AG, lo cual favorecería su incorporación a las lipoproteínas. Por otro lado, también existe la posibilidad que el ácido oleico impida la degradación intracelular de la Apo B, apoproteína necesaria para la síntesis de VLDL. (298)

Al igual que los portomicrones, las VLDL son sustrato de la lipoproteína lipasa. Una vez hidrolizados los triacilglicéridos, parte del colesterol, fosfolípidos y Apo-C son transferidos a las HDL. Las VLDL hidrolizadas pasan a formar las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL: Intermediate Density Lipoprotein) y las lipoproteínas de baja densidad (LDL: Low

Density Lipoprotein) con mayor densidad que las VLDL, debido a su mayor contenido proteico.

#### *1.14.3.3 Metabolismo de las IDL y LDL*

Como se muestra en la Tabla 13 las IDL presentan mayor contenido en colesterol y ésteres de colesterol. Por su carencia en Apo-C, dejan de ser sustrato de la lipoproteína lipasa, pudiendo ser captadas por el hígado o metabolizadas a LDL. La conversión de IDL a LDL parece ser mediada, al menos en mamíferos, por la lipasa hepática, más que por la lipoproteína lipasa (289), aunque parece ser que dicha enzima presenta una actividad inferior en las aves (287). En el proceso vuelven a hidrolizarse triacilglicéridos y fosfolípidos, quedando una partícula muy rica en colesterol.

Las LDL pueden ser captadas por gran variedad de tejidos, constituyendo una importante fuente de colesterol para la integridad de la membrana celular y la síntesis de hormonas esteroideas. La retirada de las IDL y LDL de la circulación es realizada por endocitosis mediada por receptor y posterior degradación en los lisosomas.

#### *1.14.3.4 Metabolismo de las HDL*

Las HDL pueden ser sintetizadas por el hígado o ser producto de la hidrólisis de lipoproteínas ricas en triacilglicéridos. Su composición se presenta en la Tabla 13. En mamíferos se han identificado diferentes formas de HDL (nascentes, HDL<sub>1</sub>, HDL<sub>2</sub> y HDL<sub>3</sub>) con diferente tamaño y composición (289). Sin embargo, hasta el momento en aves sólo se ha identificado una única forma (287). Actúan como transporte del colesterol, tanto a los tejidos periféricos como hacia el hígado (transporte inverso de colesterol). En mamíferos, además, juegan un importante papel en el metabolismo de los quilomicrones y VLDL, ya que

les transfieren las Apo C y E y capta el colesterol y fosfolípidos tras la hidrólisis de estas lipoproteínas. En aves las HDL parecen ser también el principal reservorio de la Apo-C. En mamíferos, las HDL son el principal sustrato de la lecitín-colesterol acil-transferasa (LCAT) activada por la Apo-AI y que esterifica el colesterol con la lecitina haciéndolo pasar al centro de la lipoproteína (parte hidrofóbica) y permitiendo proseguir su captación. En aves, la Apo-AI está también presente en las VLDL, IDL y LDL, por lo que todas estas lipoproteínas son sustrato para la esterificación del colesterol. (287)

### 1.15 Peroxidación lipídica

En los últimos años se han producido una serie de cambios en los hábitos alimenticios, observándose un aumento del consumo de productos precocidos con mayor riesgo a presentar elevados niveles de oxidación. Además, se ha recomendado el consumo de alimentos con mayores niveles de AGPI en detrimento de los AGS, productos de mayor susceptibilidad a la oxidación.

La peroxidación lipídica (PL) de los alimentos provoca una reducción de su valor nutritivo, debido a la destrucción de AGPI, vitaminas liposolubles y aminoácidos. Además, altera las características organolépticas, dando lugar a la aparición de sabores y olores desagradables que reducen la aceptabilidad del alimento por parte del consumidor (299-301). Aunque quizás, el efecto más peligroso sea el derivado de la formación de compuestos de la oxidación, los cuales una vez ingeridos pueden depositarse en los tejidos y ser los responsables de la aparición de diversas patologías. (302-304)

Todas las membranas celulares son especialmente vulnerables a la oxidación debido a su alta concentración de AGPI, los cuales abundan en la naturaleza y son generados por la acción de desaturasas sobre los AGS (297). La PL es el mecanismo principal de injuria celular en los organismos aeróbicos sujetos a estrés oxidativo y es uno de los ensayos más utilizados para observar el daño producido por radicales libres. (305)



Los lípidos pueden oxidarse por vía enzimática dando lugar a diversos compuestos con diferente actividad en el organismo. No obstante, los procesos oxidativos que se producen en los alimentos y que afectan a sus características nutricionales y organolépticas son, principalmente, los derivados de una vía no enzimática, y son los que se describen a continuación.

La PL y la formación de peróxidos lipídicos ha sido ampliamente estudiada (306). Esta puede iniciarse por el agregado de ascorbato en presencia de oxígeno y  $\text{Fe}^{+2}$  o  $\text{Fe}^{+3}$  (307-312), o bien de prooxidantes más potentes como ter-butil hidroperóxido (313) a varias preparaciones tisulares tales como homogenatos, mitocondrias, microsomas, núcleos obtenidos de diversos tejidos y especies.

Dentro de las macromoléculas celulares, los AGPI exhiben la sensibilidad más elevada al daño oxidativo. Se ha aceptado que dicha sensibilidad se incrementa en función de los dobles enlaces (314). Los fosfolípidos de membrana son particularmente susceptibles a la oxidación no solo por su alto contenido de AGPI, sino también debido a su asociación en las membranas celulares con sistemas no enzimáticos y enzimáticos capaces de generar radicales libres pro-oxidativos.

Los radicales libres son generados en las células a través de varios tipos de reacciones bioquímicas y aunque pudieran ser potencialmente perjudiciales, debido a su alta reactividad química, son especies intermediarias necesarias para la normal actividad metabólica de la célula viviente. La concentración intracelular de los radicales libres es controlada fisiológicamente por radicales secuestradores, por restricciones espaciales y limitaciones en su difusión intracelular. Sin embargo, en ciertos estados de enfermedad, bajo la acción de xenobióticos o radiación, durante los procesos de envejecimiento, el control de los radicales libres generados endógenamente pueden ser perjudiciales y tener serias consecuencias para numerosas funciones celulares. (315-318)

Además, se ha provisto evidencia de la relación entre los procesos de PL, genotoxicidad y carcinogénesis. (315,319-321)

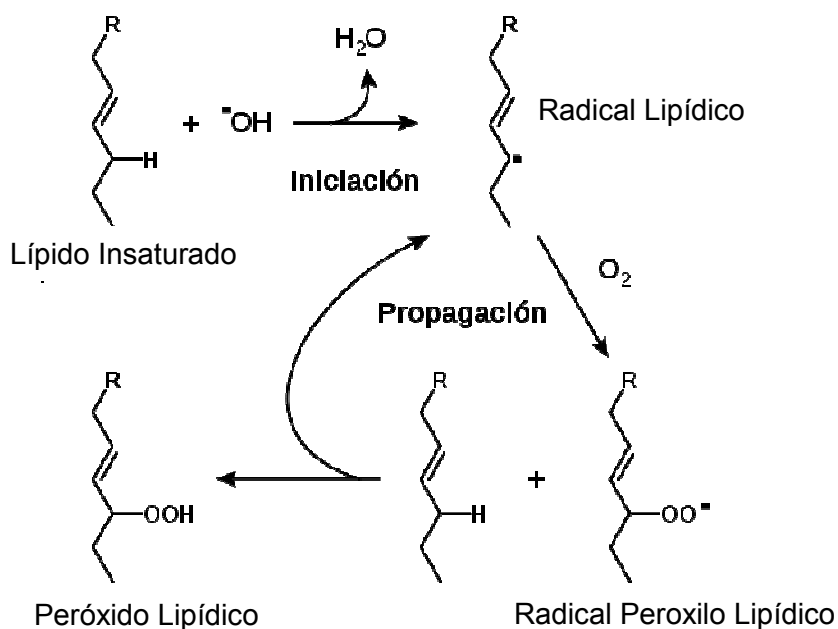
La PL no enzimática es una secuencia de reacciones caracterizada por 3 pasos diferentes conocidos como iniciación, propagación y terminación.

El paso de iniciación resulta del ataque del radical libre sobre grupos metilénicos entre o adyacentes a las bandas etilénicas del AGPI, y es seguido por una reacción en cadena (paso de propagación) que produce varios tipos de radicales libres secundarios tales como  $L^{\bullet}$  (radicales lipídicos primarios),  $LO^{\bullet}$  (radicales alcoxi) y  $LOO^{\bullet}$  (radicales peroxilo lipídico) y otros productos intermediarios.

Finalmente, en el paso de terminación, se forman un gran número de productos no radicales, principalmente alcanos y compuestos carbonílicos (cetonas y aldehídos).  
(306,322-327)

La Figura 21 muestra la representación esquemática de la peroxidación de un AG, inducida por radicales hidroxilo.

**Figura 21:** Representación esquemática de la peroxidación de un ácido graso inducida por radicales hidroxilos



Adaptado de Vickers. (328)

La PL no enzimática es una reacción en cadena mediada por radicales libres (Tabla 15) en la que un radical puede inducir la oxidación de un gran número de moléculas lipídicas principalmente fosfolípidos conteniendo AGPI. (329)

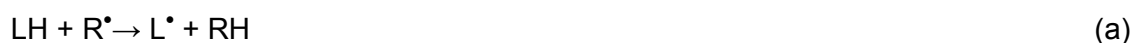
**Tabla 15:** Radicales libres implicados en las reacciones de oxidación

Radical	Nombre
$\text{O}_2\cdot$	Radical superóxido
$\text{HO}_2\cdot$	Radical perhidroxilo
$\text{HO}\cdot$	Radical hidroxilo
$\text{H}_2\text{O}_2$	Peróxido de hidrógeno
$\text{LOO}\cdot$	Radical peroxilo lipídico
$\text{LOOH}$	Hidroperóxido lipídico

Además hay que destacar que la presencia de metales de transición como el hierro y el cobre son capaces de promover las reacciones de oxidación de los lípidos (330) por reacción directa con la molécula lipídica como también por generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) en presencia de este último. (304,331)

La reacción en cadena de la PL es iniciada por la abstracción de un átomo de hidrogeno desde un grupo metileno de un residuo del AGPI (332). Los AGS y los AGMI son mucho menos reactivos y generalmente no participan en la PL. Por lo que estas clases de AG pueden experimentar oxidación pero no el proceso de la PL; por ejemplo, el ácido oleico con 18 átomos de carbono y un doble enlace (C18:1n-9) no experimenta el proceso de la PL.

La iniciación es generalmente realizada por un radical ( $R^\bullet$ ) que posee suficiente reactividad e interactúa con un lípido susceptible (LH):



Oxígeno molecular se adiciona rápidamente al radical lipídico carbono-centrado ( $L^\bullet$ ) formado en este proceso, generando un radical peroxilo lipídico ( $LOO^\bullet$ ):



El que a su vez puede abstraer un átomo de hidrógeno desde otro AGPI en forma similar a la ecuación (a):



La reacción (c) se denomina propagación, indicando que un golpe de iniciación puede causar la conversión de varias moléculas de AGPI a hidroperóxidos lipídicos.

El hidroperóxido lipídico (LOOH) es el primer producto de reacción de la PL relativamente estable. En condiciones donde la PL es continuamente iniciada, la reacción de terminación

limita la extensión del proceso, generando productos no radicales (PNR), y destruyendo dos radicales al mismo tiempo:



En presencia de iones de metales de transición, los LOOH pueden generar radicales relativamente estables capaces de reiniciar la PL por ciclos redox de estos iones metal:



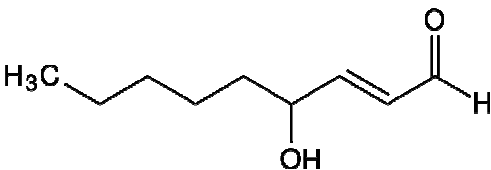
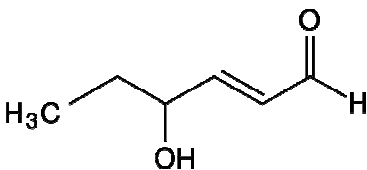
Los hidroperóxidos lipídicos en presencia o ausencia de iones metálicos pueden generar gran variedad de productos, incluyendo aldehídos de cadena larga y corta y fosfolípidos y colesterol conteniendo aldehídos, los cuales pueden ser usados para determinar el grado de PL en un sistema. (333)

Los lípidos que contienen AGPI están expuestos a la oxidación iniciada por radicales libres y pueden participar en reacciones en cadena que amplifican el daño a las biomoléculas.

La PL a menudo ocurre en respuesta al estrés oxidativo, formándose una gran variedad de compuestos cuando los hidroperóxidos lipídicos se destruyen en sistemas biológicos (334), entre los que aparecen los aldehídos en mayor proporción. Algunos de estos aldehídos son altamente reactivos y son considerados como segundos mensajeros tóxicos, que se diseminan e incrementan eventos iniciados por radicales libres. Los aldehídos más estudiados son: 4-hidroxi-2-nonenal y malondialdehído. El 4-hidroxi-2-nonenal es el principal aldehído formado durante la PL de AGPI n-6, tales como LA y AA. Ha sido demostrado que el 4-hidroxi-2-nonenal se acumula en membranas (entre 10 $\mu$ M a 5000 $\mu$ M) en respuesta al estrés oxidativo. (335)

Por otro lado la PL de AGPI n-3 tales como ALA y DHA genera un compuesto muy relacionado, 4-hidroxi-2-hexenal, que es un potencial mediador de la transición de la permeabilidad mitocondrial (336). Los 4-hidroxi-2-alquenaes representan los aldehídos más prominentes generados durante la PL.

**Tabla 16:** Aldehídos reactivos generados durante la peroxidación lipídica de AGPI

Ácido graso peroxidado	Aldehído reactivo generado
Ácido linoleico (18:2 n-6)	 4-hidroxi-2-nonenal
Ácido $\alpha$ -linolénico (18:3 n-3)	 4-hidroxi-2-hexenal
Ácido docosahexaenoico (22:6 n-3)	

Los aldehídos generados durante la PL han sido implicados como agentes causantes de varios efectos celulares. Comparados con los radicales libres, los aldehídos son relativamente estables y pueden difundir y aún escapar de la célula y atacar blancos alejados al sitio donde se produjo el evento original.

Estos aldehídos exhiben gran reactividad con biomoléculas, tales como proteínas, ADN y fosfolípidos, generando una variedad de aductos covalentes intra e intermoleculares. Estos aldehídos pueden también actuar como moléculas bioactivas en condiciones fisiológicas y/o patológicas. Pueden afectar y regular, a concentraciones muy bajas y no tóxicas, varias funciones celulares, incluyendo transducción de señales, expresión génica, proliferación celular y generalmente la respuesta de la célula o células blanco. (337)

Otros aldehídos reactivos importantes generados durante la PL son: cetoaldehídos, incluyendo malondialdehído (MDA) y glioxal (306,325,327). El MDA es, en muchas

ocasiones, el aldehído individual más abundante resultante de la PL y se ha demostrado que distorsiona la organización de aminofosfolípidos en la bicapa lipídica de eritrocitos. (338)

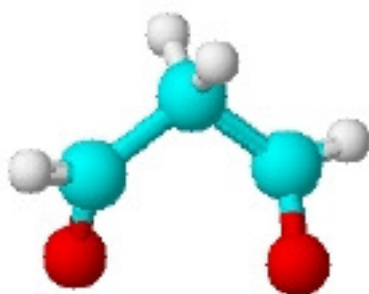
Al menos se conocen tres reacciones que provocan la ruptura de las cadenas: a) interacción de dos radicales, b) interacción de un radical con un metal, y c) reacción entre un radical y una molécula de “antioxidante”.

### **1.15.1 Evaluación de la oxidación lipídica de la carne**

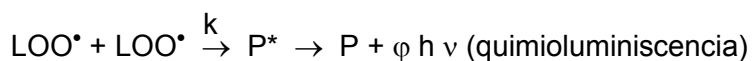
Existe un amplio abanico de técnicas analíticas para determinar la oxidación lipídica de la carne. Entre ellas las más utilizadas son aquellas que valoran los compuestos de oxidación como los hidroperóxidos, el MDA, los óxidos de colesterol y los compuestos volátiles o bien se puede cuantificar la emisión de fotones generados durante el proceso de peroxidación.

Las técnicas para la valoración de peróxidos son de baja sensibilidad y difíciles de adaptar al análisis de rutina de cantidades importantes de muestras (339). Es por ello que gran número de investigadores se han volcado a estudiar el nivel de oxidación de los alimentos y tejidos a través de la técnica de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS, por sus siglas en inglés). Esta técnica es una de las formas más antiguas y más frecuentemente utilizadas. Es un método simple y rápido de usar que valora el MDA (Figura 22), un dialdehído que se forma durante la fase de terminación.

**Figura 22:** Estructura del malondialdehído



No obstante esta técnica tiene sus limitaciones en algunos tipos de muestras como las liofilizadas. Además, en muestras conservadas durante largos períodos de tiempo se ha descrito una reducción del contenido de MDA y en consecuencia de los valores de TBARS (340,341), debido al resultado de la polimerización de los productos de la fase de terminación. Así, el MDA reacciona con un amplio rango de compuestos e incluso entre sí formando dímeros y trímeros de MDA, los cuales presentan una reducida reactividad frente al ácido tiobarbitúrico (335,342,343). Una variante de TBARS es TBARS inducido, el cual en vez de aportar un valor puntual de TBARS, valora la capacidad que posee la muestra de oxidarse a los largo del tiempo. Algo similar se mide con la quimioluminiscencia que cuantifica los fotones generados al interactuar dos radicales en la reacción de terminación, tal como se describe a continuación (344):



Esta reacción es particularmente interesante ya que es acompañada con quimioluminiscencia cuya intensidad (I) puede servir como una medida de la concentración del radical libre peróxido ( $\text{LOO}^\bullet$ ) de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$I = K \varphi k [\text{LOO}^\bullet]^2$$

Donde  $\varphi$  representa el quantum de quimioluminiscencia y  $k$  es un coeficiente dependiente de la sensibilidad neta del instrumento. El  $\text{LOO}^\bullet$  es un radical libre producido a partir de moléculas lipídicas,  $\text{P}^*$  representa a un producto altamente energético,  $\text{P}$  representa a un producto estable,  $h$  representa a la constante de Planck y  $\nu$  representa al coeficiente de la luz. (344)

La quimioluminiscencia es la emisión lumínica derivada a partir de una reacción química tal como la última reacción de la PL en la cual moléculas químicamente excitadas decaen hasta niveles electrónicos basales y emiten fotones. La medida de la emisión lumínica a partir de



una reacción química es muy útil desde el punto de vista analítico debido a que bajo condiciones experimentales apropiadas, la emisión lumínica está directamente relacionada con la concentración analítica de reactivo, permitiendo así un análisis cuantitativo preciso y sensible. En suma, la emisión lumínica está usualmente representada por estados cinéticos, los cuales simplifican los procedimientos manuales y al ocurrir en pocos segundos hace de esta una técnica muy rápida. La quimioluminiscencia ha sido ampliamente utilizada como un indicador de la formación de ROS en células y órganos, con buena correlación con valores de TBARS (345), permitiendo así el estudio de varias condiciones tanto patológicas como fisiológicas relacionadas con el estrés oxidativo. (306,346)

Otros compuestos producto de la oxidación son los derivados del colesterol, tales como el 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 7 $\beta$ -hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol, 25-hidroxicolesterol y colestanol entre otros. Estos óxidos del colesterol son importantes debido a sus efectos biológicos, lo que ha provocado la aparición de diferentes métodos para su aislamiento e identificación en los alimentos. (347-349)

Por otra parte encontramos las determinaciones de compuestos volátiles. Donde algunos autores han sugerido que la medida de oxidación aportada por el hexanal sería más precisa que la aportada por la técnica de TBARS (350). A su vez el contenido de compuestos volátiles está directamente relacionado con la presencia de olores y sabores rancios que son detectados por el consumidor. Además, existe una elevada correlación entre los valores de TBARS y los compuestos volátiles en la carne de pollo (351,352), a punto tal que se ha asignado un valor límite de TBARS. El umbral para la detección de olores y sabores en muslo de pollo cocido se sitúa a partir de los 0,8mg/kg. (351,352)

## 1.16 Vitamina E

La vitamina E fue descubierta en el año 1922 por Evans & Bishop (353), tras observar que una dieta semipurificada, pobre en grasas, producía incapacidad reproductiva en ratas.

La vitamina E es uno de los constituyentes lipídicos de las membranas celulares y lipoproteínas. Desempeña varias funciones, entre las que se pueden contar, actúa como modulador en la respuesta inmune (354) y expresión génica (355), y como protector de las proteínas que poseen selenio (356). Su acción principal es prevenir a los tejidos del ataque por radicales libres estando su acción relacionada a su capacidad de secuestrar radicales libres (357,358), y oxígeno singlete (359). El segundo rol de la vitamina E es estabilizar la estructura de las membranas formando complejos que desestabilizan moléculas, al mismo tiempo que previenen disturbios en el balance anfipático dentro de la estructura.

### 1.16.1 Estructura, propiedades y función de la vitamina E

En la definición de vitamina E se incluyen 8 compuestos activos muy afines entre sí, que se dividen en dos grupos, los denominados tocoferoles ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -) y los tocotrienoles ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -). Todas las formas comparten una estructura básica formada por un anillo 6-cromanol y una cadena lateral o cola fitol isopreniodes en la posición 2. En el caso de los tocoferoles la cadena isopreniodes es saturada, mientras que los tocotrienoles presentan 3 insaturaciones en los carbonos 3', 7' y 11' de la cadena. (360)

Las clases  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ - de los tocoferoles y tocotrienoles difieren en el número y posición de los grupos metilo unidos al anillo de benceno.

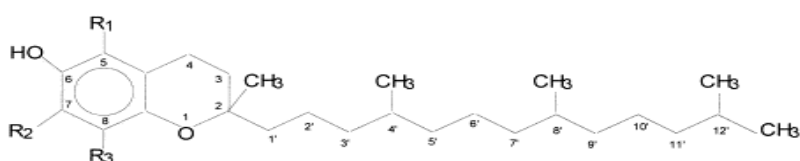
Se considera que todos los tocoferoles derivan del tocol y su estructura indica que existen tres centros de asimetría, en el carbono 2 de anillo cromanol y en los carbonos 4' y 8' de la cola fitol, de manera que según la posición de los grupos metilo en estos centros, se pueden formar 8 esteroisómeros. Cuando los grupos metilo se encuentran en el mismo plano, las

formas se denominan R, mientras que si se encuentran en planos diferentes son denominadas S.

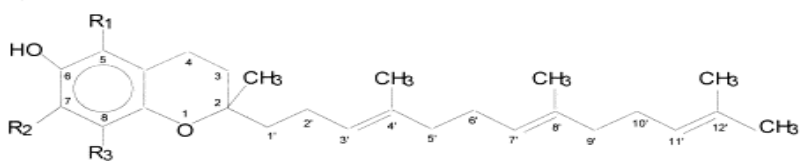
Los tocotrienoles sólo poseen un centro de asimetría en el carbono 2 del anillo cromanol, además de los centros de isomería geométrica en los carbonos '3 y '7.

**Figura 23:** Estructura química del tocol y tocotrienol

(a). Tocol



(b). Tocotrienol



Tocopherol /Tocotrienol

α-  
β-  
γ-  
δ-

R<sub>1</sub>

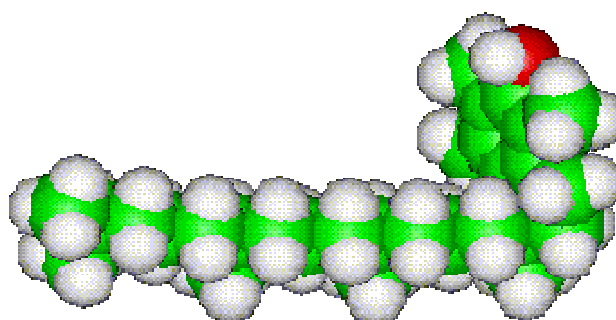
CH<sub>3</sub>  
CH<sub>3</sub>  
H  
H

R<sub>2</sub>

CH<sub>3</sub>  
H  
CH<sub>3</sub>  
H

R<sub>3</sub>

CH<sub>3</sub>  
CH<sub>3</sub>  
CH<sub>3</sub>  
CH<sub>3</sub>



Extraído de Wang & Quinn. (361)

Los tocoferoles de fuentes naturales tienen los grupos metilo en un mismo plano y se denominan 2R,4R,8R-α-tocoferol o RRR-α-tocoferol. (362)

Las fuentes sintéticas de la vitamina E son mezclas racémicas obtenida en el laboratorio a partir de los 8 estereoisómeros posibles del  $\alpha$ -tocoferol y se denominan *all-rac*-dl- $\alpha$ -tocoferol. De todos los compuestos activos que se compone la vitamina E, el RRR- $\alpha$ -tocoferol es el que tiene mayor actividad biológica, y por lo general es utilizado como estándar para establecer la actividad biológica.

Por otro lado, el orden de actividad de los tocoferoles es  $\alpha > \beta > \gamma > \delta$  (363). No obstante, la actividad biológica relativa varía según la forma estereoisomérica de cada tocoferol. En general, la configuración R del C2 del anillo cromanol es la responsable de su actividad biológica. (364)

### **1.16.2 Transporte de la vitamina E**

La absorción de la vitamina E, al ser una molécula liposoluble, está ligada a la absorción de la grasa de la dieta. Esta vitamina se absorbe principalmente en el intestino delgado, y para ello es imprescindible la secreción biliar y la solubilización micelar (365). En este sentido, las sales biliares procedentes del hígado y segregados al intestino delgado favorecen emulsión de las grasas, facilitan la acción de las lipasas pancreáticas sobre los lípidos con la posterior formación de micelas.

El ingreso del tocoferol dentro del entericito es un proceso pasivo, dado que no se han descrito proteínas transferidoras de tocoferoles a nivel intestinal en ninguna especie animal. (366)

La digestión y absorción de la vitamina E esta estrechamente ligada a otros compuestos lipídicos como los triacilglicéridos (367). Así, en general, la inclusión de grasa en la dieta mejoraría la absorción de esta vitamina (368). En principio, el hecho de aumentar los AGPI en la dieta mejora la absorción de los lípidos, y por lo tanto, mejoraría de la vitamina E. Aunque existen estudios que respaldan esta teoría donde encontraron que la presencia de AGPI de cadena larga incrementó la absorción fecal de vitamina E tanto en ratas (369) como en

pollos (370), por otro lado algunos autores (368) han hallado que la presencia de AGPI en la dieta reduce la absorción de esta vitamina.

Luego de absorbida, la vitamina E pasa a formar parte de los quilomicrones para su secreción a la linfa en mamíferos, o de los portomicrones para su circulación portal en las ave Figura 20. Debido a la hidrofobicidad de la vitamina E, su transporte y distribución en medios acuosos se realiza en lipoproteínas en forma conjunta a otros lípidos.

Una vez en el hígado, la vitamina es secretada preferentemente en VLDL, pero también puede ser secretada sin ninguna modificación en portomicrones. Tanto las VLDL como los portomicrones pueden ser hidrolizados por la lipoproteína lipasa. Del catabolismo de estas estructuras, una parte de la vitamina E es captada por el tejido subyacente, el resto puede regresar al hígado en forma de remanentes de portomicrones o puede ser transferida a las HDL y a las LDL. La lipoproteína lipasa también puede actuar sobre las HDL y LDL para que la vitamina E pueda acceder a los tejidos.

Existe en el hígado una proteína citosólica, la proteína transportadora de  $\alpha$ -tocoferol ( $\alpha$ -TTP), de 30-35Kda (371) que media el transporte del  $\alpha$ -tocoferol entre microsomas y liposomas unidos a la proteína que se dirigen a la circulación (372,373), evitando, de esta manera, su eliminación por vía biliar (374). Esta proteína posee afinidad selectiva por los distintos isómeros del tocoferol en el orden  $\alpha > \beta > \gamma > \delta$ .

Se hallaron tres factores importantes concernientes a la especificidad de unión, los tres grupos metilo del anillo cromanol son importantes para el reconocimiento por el  $\alpha$ -TTP, pero el grupo metilo en la posición 5 es especialmente crítico para la afinidad diferencial entre  $\beta$  y  $\gamma$ -tocoferol. El grupo hidroxilo en el anillo cromanol es esencial para el reconocimiento por  $\alpha$ -TTP. El  $\alpha$ -TTP también reconoce la cadena de fitilo y su orientación (375). Por el momento esta proteína ha sido aislada del hígado de ratas (373,376) y de humanos (377). Algunos trabajos han demostrado una incorporación preferencial del isómero  $\alpha$ -tocoferol a tejidos de pollos y pavos tras la administración de una dieta con una mezcla de isómeros de

tocoferoles (378,379). Por lo tanto es factible pensar que esta proteína se encuentre en las aves.

La ingesta dietaria de vitamina E ha sido examinada en detalle en la rata (380). Cuando se suplementó la dieta con vitamina E (1g/kg de dieta) la concentración de  $\alpha$ -tocoferol en el plasma alcanzó un nivel máximo luego de 48h, y el hígado fue el principal órgano donde se acumuló la vitamina. Luego de 6 semanas se fueron incrementando los niveles en riñón, corazón, músculo y cerebro. Los niveles de vitamina E sólo descendieron cuando se retiró el suplemento dietario (381). Las fracciones subcelulares que poseen la mayor concentración de vitamina E son las membranas del aparato de Golgi y liposomas.

La excreción de vitamina E en aves ha sido poco estudiada. El producto primario de la oxidación del  $\alpha$ -tocoferol es la tocoferil quinona, la cual puede ser parcialmente reducida a tocoferil hidroquinona. Estos compuestos pueden ser conjugados con el ácido glucurónico y secretados en la bilis para su eliminación por vía fecal (382,383). No obstante, la formación de la tocoferil quinona *in vivo* es escasa debido, tal y como se ha comentado, al reciclaje del  $\alpha$ -tocoferol una vez que se ha formado el radical tocoferilo. Los compuestos de la oxidación también pueden ser metabolizados a ácido  $\alpha$ -tocoferónico y eliminados vía renal. No obstante, la principal vía de eliminación es la biliar, mientras que solo una pequeña parte es eliminada por vía urinaria.

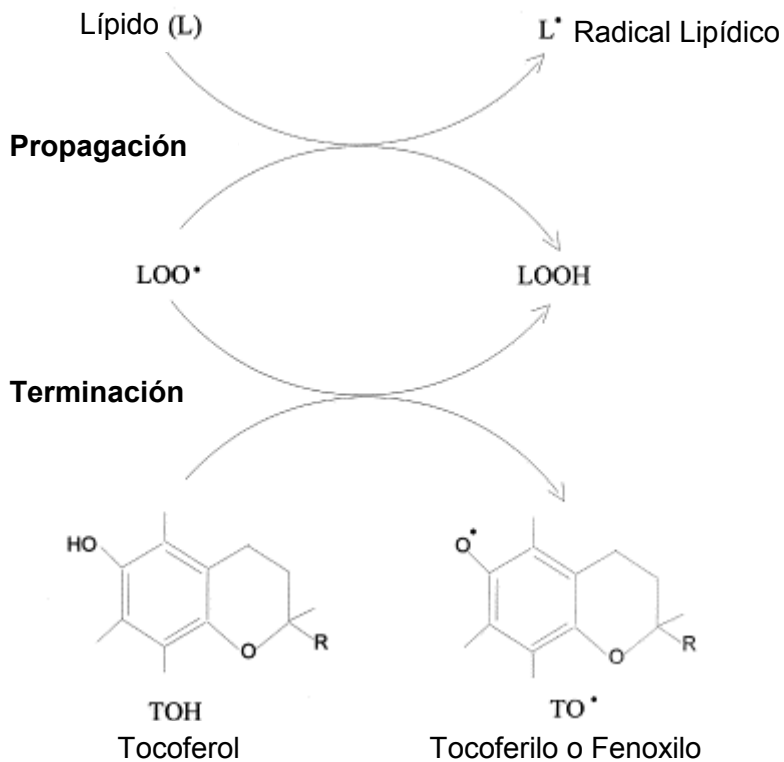
El depósito de  $\alpha$ -tocoferol es los tejidos de los pollos alimentados con dietas suplementadas con  $\alpha$ -tocoferol sigue el siguiente orden: corazón  $\geq$  pulmón > hígado > tejido adiposo > muslo > pechuga > cerebro (378,384,385). Se han observado marcadas diferencias en el depósito de  $\alpha$ -tocoferol según la capacidad oxidativa de la fibra muscular. En este sentido, las fibras tipo I y IIa de metabolismo oxidativo, presentes en el muslo acumulan más  $\alpha$ -tocoferol que aquellas del metabolismo glucolítico presentes en la pechuga. (386,387)

### **1.16.3 Mecanismos moleculares de acción**

Debido a que la vitamina E es lipofílica se encuentra en ambientes hidrofóbicos (depósitos de grasa, órganos almacenadores de aceite y en membranas celulares). Es debido a su localización preferencial que la vitamina E actúa como un estabilizador de membranas.

#### **1.16.3.1 Secuestrador de radicales libres**

El  $\alpha$ - y el  $\gamma$ -tocoferol constituyen los componentes esenciales de la defensa celular contra los oxidantes endógenos y exógenos. La reacción antioxidante de  $\alpha$ -tocoferol es no enzimática y rápida. El rol principal del  $\alpha$ -tocoferol como antioxidante es actuar como un secuestrador de radicales peroxilo lipídicos, que son especies propagadoras de la PL (358). El anillo cromanol es el encargado de esta función, mientras que la cola es la que aporta las características de liposolubilidad y es la responsable de su posición a nivel de las membranas celulares (388,389). El  $\alpha$ -tocoferol reacciona con el radical peroxilo antes de que este sea capaz de atacar el sustrato lipídico blanco tanto por transferencia de hidrógenos o mediante transferencia de electrones; luego el protón es transferido en forma de hidroperóxido lipídico y radical tocoferilo. (Figura 24)

**Figura 24:** Reacciones secuestrantes de  $\alpha$ -tocoferol

Extraído de Wang & Quinn. (361)

La medición *in vitro* de la velocidad relativa de propagación en cadena y de la velocidad de inhibición producida por el  $\alpha$ -tocoferol indicó que el mismo secuestra los radicales peróxido con una velocidad considerablemente más elevada que con la que los radicales peróxido reaccionan con el lípido sustrato.

Se sabe que la eficiencia secuestrante de radicales de  $\alpha$ -tocoferol es dependiente de la actividad del radical atacante. Los tocoferoles reaccionan con otros oxidantes reactivos incluyendo oxígeno singlete (390), radicales alcoxilo (391), peroxinitrito (392), dióxido de nitrógeno (393), ozono (394) y superóxido (395). Se ha visto que el  $\gamma$ -tocoferol es un antioxidante más potente que  $\alpha$ -tocoferol contra las especies reactivas del nitrógeno (396). Los radicales hidroxilo ( $OH^*$ ) son las principales especies reactivas y pueden atacar las moléculas cercanas a un rango limitado de difusión. Los radicales alcoxilo ( $LO^*$ ) son menos



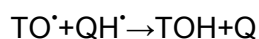
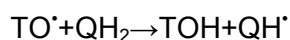
reactivos que el radical hidroxilo, pero son más reactivos que los radicales peroxilo ( $\text{LOO}^{\cdot}$ ). Debido a la elevada reactividad de los radicales hidroxilos y alcoxilo y la concentración relativa de  $\alpha$ -tocoferol en otras membranas lipídicas, es improbable que el mismo pueda proveer protección directa contra el ataque de estos radicales.

#### 1.16.3.2 Ciclo redox

La eficiencia antioxidante del tocoferol se amplifica mediante la regeneración del mismo a partir de sus productos de oxidación. Esto se denomina ciclo redox del  $\alpha$ -tocoferol y se cree que es importante en la función antioxidante del mismo (397). Se ha demostrado la regeneración del  $\alpha$ -tocoferol *in vitro* a partir del radical tocoferoxilo mediado por vitamina A (398), vitamina C (399) y coenzima Q (400). Existen sin embargo dudas acerca de la significancia de la regeneración de las vitaminas A y C *in vivo* (401), esto no ocurre con la coenzima Q. Se sabe claramente que la coenzima Q es un transportador móvil de protones en la transducción de la energía en las membranas mitocondriales y de cloroplastos. Los mecanismos antioxidantes del tocoferol y la coenzima Q ocurren individualmente o en tándem. En el primer caso, tienen lugar reacciones independientes con los radicales peroxilo y en ello cada antioxidante actúa como un secuestrador de radicales (402). En el segundo caso, existe un ciclo redox en el cual el tocoferol actúa como el secuestrador primario de radicales peroxilo, y la coenzima Q, recicla el tocoferol a partir del radical fenoxilo. (403)

Las reacciones antioxidantes independientes del tocoferol y la coenzima Q, en la que ambas actúan como donantes primarios de hidrógeno para los radicales peroxilo, son similares a lo que ocurre en la reacción de terminación. En esa reacción tanto el tocoferol como la coenzima Q sufren la oxidación de un electrón hacia radical tocoferilo ( $\text{TO}^{\cdot}$ ) y ubiquinona (Q) respectivamente y subsecuentemente forman quinonas que no ejercen actividad antioxidante. Sin embargo, el modo de reacción antioxidante del tocoferol y la coenzima Q es diferente. El tocoferol actúa como el primer donante de hidrógeno a un

radical peroxilo, pasando este a radical fenoxilo del tocoferol, el tocoferilo (TO<sup>•</sup>), que posteriormente es reducido por la coenzima Q (ciclo de reciclaje del tocoferol).



Lo que todavía se desconoce es cuando actúan en la reducción del tocoferol, la forma reducida de la coenzima Q, el ubiquinol (QH<sub>2</sub>) y/o su forma semireducida, la ubisemiquinona (QH<sup>•</sup>).

Los efectos antioxidantes directos del tocoferol en mitocondrias y microsomas están bien documentados (357). Se ha demostrado que en los transportadores de electrones en microsomas, mitocondrias y partículas submitocondriales, así como también en los complejos mitocondriales integrados dentro de los liposomas se regenera el tocoferol a partir de radicales fenoxilo mediante la reducción dependiente de ubiquinona, sugiriendo que las interacciones tocoferol/coenzima Q podrían ser importantes en la protección antioxidante del transporte electrónico en las membranas (403). Neužil & Stocker (404), demostraron que coenzima Q puede actuar como un efectivo secuestrador de radicales peroxilo y radicales de oxígeno, a su vez Ernster et al. (405), hallaron que la coenzima Q reducida fue capaz de inhibir la PL en experimentos llevados a cabo en mitocondrias y partículas submitocondriales desprovistos de tocoferol. Todo esto nos indicaría que también es posible la acción antioxidante directa de la coenzima Q.

La pregunta acerca de si son las interacciones tocoferol/coenzima Q, o sus reacciones independientes los mecanismos antioxidantes predominantes en los mecanismos de transporte electrónico continúa aún siendo tema de discusión. En LDL esa reacción es esencial para prevenir la cadena de propagación que producirían los radicales tocoferilo. (404)

Está bien documentada la oxidación de las diferentes clases de tocoferoles (α-, β-, γ- y δ-tocoferol) mediante diferentes sistemas de generación de radicales superóxido vía la formación de intermediarios de sus respectivos radicales fenoxilo (406). Del mismo modo, se

ha visto que la reducción de radicales fenoxilo generados a partir de un homólogo hidrosoluble de la vitamina E, el Trolox, ocurre a una velocidad significativa sugiriendo que el superóxido podría contribuir al ciclo redox de los radicales fenoxilo, a pesar del reordenamiento de los radicales fenoxilo a quinonas, y a que los productos de oxidación subsecuentes se vuelvan más eficientes. En el último caso la regeneración de tocoferol a partir de un radical fenoxilo, ocurrido por oxidación del superóxido conductor podría requerir un mecanismo de ciclo redox de la coenzima Q. La producción masiva de superóxido tanto intracelular (mediante mitocondrias y microsomas) (407) como extracelularmente (mediante NADPH oxidasa en las membranas de células inflamatorias plasmáticas) sugiere que las interacciones tocoferol/coenzima Q podrían ser esenciales para la regulación de la oxidación del superóxido tanto en el transporte electrónico de las membranas como en las LDL. (408)

#### *1.16.3.3 Efecto de la vitamina E en las membranas*

Es aún motivo de conjetura la influencia que ejerce en la estabilidad de las membranas la interacción de  $\alpha$ -tocoferol con sus constituyentes. Existe evidencia que indica que la formación de complejos con ciertos componentes de la membrana tiende a estabilizar la bicapa (409-411), mientras que otras evidencias sugieren que el  $\alpha$ -tocoferol desestabiliza las membranas y ocasiona fusión de las mismas. (412)

A su vez se ha llegado a la conclusión que son los tres grupos metilo unidos al anillo aromático los que poseen elevada afinidad por los lípidos insaturados en lugar de la cadena lateral isoprenoide.

#### *1.16.3.4 Rol del $\alpha$ -tocoferol en la señalización celular*

El rol del  $\alpha$ -tocoferol en la señalización celular especialmente en relación con la proteína quinasa C, ha sido ampliamente estudiado (413). El  $\alpha$ -tocoferol disminuye la actividad de la

proteína quinasa C (414-416), incrementa la actividad de la fosfatasa A2 (416), y controla la expresión del gen de la  $\alpha$ -tropomiosina (417). Estas actividades no estarían relacionadas con las acciones antioxidantes de la vitamina E.

El mecanismo de inhibición de la proteína quinasa C puede atribuirse a la atenuación en la formación de diacilglicerol, un lípido que activa a la proteína quinasa C (418,419). Cachia et al. (420) han sugerido que la inhibición de la actividad de la proteína quinasa C no es debida directamente a la capacidad antioxidante del  $\alpha$ -tocoferol pero requiere la integración de éste a la membrana, de modo que interactúe con la proteína quinasa C. EL  $\alpha$ -tocoferol adicionado *in vitro* modula la expresión de algunas proteínas/enzimas en varios tipos de células involucradas en la aterogénesis (421). Estudios recientes en el metabolismo del ácido araquidónico han demostrado que el  $\alpha$ -tocoferol puede regular las actividades de la fosfolipasa citosólica A<sub>2</sub> (421,422) y la ciclooxigenasa. (421)

### 1.17 Análisis sensorial

La calidad sensorial es uno de los componentes más destacados de la percepción de calidad en los consumidores de huevos y carne de aves. (25)

Las modificaciones en la alimentación animal para la obtención de productos enriquecidos implican cambios significativos en su composición química y propiedades físicas de la carne del ave. Estos cambios pueden alterar sus propiedades organolépticas (aroma y sabor) y, por lo tanto, su aceptabilidad por parte de los consumidores.

En la evaluación sensorial son utilizados los cinco sentidos del ser humano. En términos de alimento, los dos más importantes son el olfato (el cual detecta la existencia de compuestos volátiles en la nariz, por olfacción directa o bien retro-nasal luego de tragar el alimento) y el gusto (detección de compuestos solubles como el dulce, salado, amargo, ácido y umami sobre la lengua) (423). El 80% de lo que se detecta como sabor es procedente de la sensación de olor (424). En el caso de la carne, las papilas gustativas detectan

principalmente los sabores dulce, ácido, amargo y umami por los componentes presentes. (425)

Sin embargo, los otros tres sentidos son muy importantes. La visión permite al consumidor evaluar la calidad del alimento antes de probarlo (por ejemplo, la frescura de las frutas) e influirá en su percepción del sabor y el aroma. La audición es particularmente importante en productos como los vegetales crujientes, chips de papa y cereales, la falta de un sonido crujiente durante la masticación será interpretada como una baja calidad del producto. Finalmente el tacto juega un rol importante cuando tomamos el producto directamente con las manos o cuando lo ponemos en la boca, el helado no sería agradable sin la presencia de una densidad apropiada y que se derrita en la boca. (423)

Otro integrante importante es el sistema trigémino, el cual transmite información de irritación, como con el ají picante o la mostaza de Dijon, estos receptores están mayormente presentes alrededor de la cavidad oral; en este mismo sistema también encontramos los receptores de temperatura que son cruciales a la hora de disfrutar un café caliente o un jugo de naranja frío.

Los objetivos buscados en la evaluación sensorial pueden ser categorizados en cuatro secciones: psicofísicas, evaluación sensorial I, evaluación sensorial II y prueba de aceptabilidad.

En lo psicofísico, el investigador está interesado en conocer como trabajan los sentidos del ser humano. Esto involucra investigar la relación entre el ingreso del alimento y la respuesta del sujeto, así como los mecanismos que le permiten al sujeto generar la respuesta. Resultados obtenidos de este tipo de estudios son esenciales para el diseño de protocolos apropiados para la evaluación de alimentos.

En la evaluación sensorial I, los sentidos humanos son usados como instrumentos, de manera similar a un instrumento de medición tradicional. Por ejemplo, la nariz puede ser usada como una alternativa al cromatógrafo gaseoso. La información colectada permite la descripción del producto como cuan dulce o crujiente es o, cuan grande es la diferencia

entre dos productos. Aquí no se está interesado en conocer cómo el consumidor percibe el producto sino cuáles son sus propiedades sensoriales intrínsecas y cómo ellas difieren entre productos. Este abordaje es complementario a las mediciones químicas y físicas instrumentales. La evaluación sensorial I tiene aplicación para el control de calidad como la detección de sabores extraños, los métodos aquí empleados son pruebas discriminantes y análisis descriptivos. Se deben utilizar los procedimientos más sensibles y un panel altamente entrenado. Las condiciones de prueba deben ser muy controladas y la experimentación deberá ser llevada a cabo en laboratorios especialmente diseñados.

En la evaluación sensorial II, el interés está puesto en saber cómo el consumidor percibe un producto o diferencias entre varios. Este no involucra mediciones hedónicas y se enfoca en conocer, por ejemplo, si el consumidor puede discriminar entre un producto reformulado y su original. En este caso, los protocolos de prueba deben ser lo más parecido posible a las situaciones de la vida real, de esta manera los hallazgos pueden ser generalizados a la población estudiada. Así, las pruebas discriminantes son más apropiadas mientras que aproximaciones basadas en la descripción sensorial del producto deben ser usadas con extremo cuidado si los consumidores no están entrenados para describir sus percepciones de manera fiable.

Las pruebas de aceptabilidad involucran las mediciones de respuestas hedónicas por parte de los sujetos. En este tipo de pruebas se determina el producto que más gusta, el que menos, incluso se puede determinar la relación entre ellos. Esta es, en realidad, la información más segura que se puede obtener de consumidores no entrenados. Los protocolos utilizados involucran escalas hedónicas como, ¿cuánto le gusta este producto?, o pruebas de preferencia que responden a la pregunta ¿cuál de esto dos productos prefiere? Esta información es a menudo combinada con la obtenida de la evaluación sensorial I para tratar de explicar o predecir la respuesta hedónica de los consumidores. Esto ha sido ampliamente aplicado en proyectos de optimización de productos. Alternativamente,

diferentes preguntas pueden ser realizadas, como aquellas relacionadas con el interés de compra o del agrado a alguna de sus características (color, sabor, aroma, etc.). (423)

Desde hace tiempo se conoce que la suplementación con aceite de pescado o con otras fuentes de AGPI n-3, como el aceite de lino, perjudica la calidad sensorial del huevo y de la carne de aves (426-430), incluso con aceite de pescado desodorizado. (431)

El principal sabor extraño detectado por los panelistas es el “sabor a pescado” del huevo o de la carne de pollo en aves alimentadas con piensos suplementados en AGPI n-3. La intensidad del sabor extraño dependería de la dosis utilizada que, a su vez, está directamente relacionada con la cantidad retenida en las producciones (25). Cuando se utiliza chía como fuente de AGPI n-3 para enriquecer alimentos, aparece una diferencia importante y es que no se transmite el “sabor a pescado”. (126)

La percepción de sabores inadecuados (“sabor a pescado” del huevo y de la carne) varía de un país a otro (429) pero, en general, se obtienen diferencias significativas con respecto al grupo control con niveles de suplementación del pienso por encima del 1,5% de aceite de pescado o de lino.

Una explicación de este efecto podría estar en una mayor susceptibilidad a la oxidación de la grasa de los productos enriquecidos. Aunque la yema de huevo se considera de forma general un medio particularmente estable frente a la oxidación de los lípidos (378,432), la situación varía en el caso de carne y huevos enriquecidos en AGPI CL, que serían fácilmente enranciables.

Una elevada correlación entre valoración sensorial y nivel de oxidación o enranciamiento de los lípidos (estimada por su valor de TBARS) ha sido observada por varios autores (351,352,427,429). Si se acepta esta relación, podría resultar de interés el enriquecimiento adicional de los productos animales con sustancias antioxidantes. En este sentido, la incorporación de vitamina E al pienso ha demostrado ser útil para disminuir la pérdida de sabor en carne de pollos y pavos (351,384,433-436). Sin embargo, esta alternativa es costosa y no siempre se obtienen resultados positivos. (437)

Finalmente, otra hipótesis para explicar la peor calidad sensorial de los productos animales enriquecidos en AGPI n-3 sería la presencia de restos de compuestos volátiles. Sin embargo, el suministro de un aceite de pescado desodorizado, en el que se habían eliminado la mayoría de los compuestos volátiles, no mejoró la aceptación de huevos procedentes de gallinas que recibían piensos suplementados con un 2% de aceite de pescado (431). El uso de niveles superiores al 2% (4 ó 6%) de aceite de pescado dio lugar en este trabajo a la obtención de huevos inaceptables por parte del consumo, cualquiera fuese el tipo de aceite utilizado.



## **2 OBJETIVOS**

## 2.1 Objetivo general

- Evaluar distintos procesos aplicados a la semilla de chía para producir carne de pollo enriquecida en ácidos grasos de la serie n-3

## 2.2 Objetivos parciales

- 🐝 Determinar el efecto de los diferentes procesos aplicados a la semilla de chía sobre el aprovechamiento de la energía
- 🐝 Comparar el desempeño zootécnico de aves alimentadas con una dieta estándar y con chía sometida a diferentes procesos
- 🐝 Desarrollar un sistema “in vitro” donde se logre peroxidar la carne de pollo y medirla por quimioluminiscencia
- 🐝 Comparar la carne de pollos alimentados con una dieta estándar y con chía sometida a diferentes procesos en lo que refiere a:
  - 📊 Perfil de ácidos grasos
  - 📊 Estabilidad oxidativa
  - 📊 Cinética de la oxidación
  - 📊 Análisis sensorial

### **3 MATERIALES Y MÉTODOS**

### 3.1 Materiales

La semilla de chía, chía extrusada y expeller de chía fueron suministradas por la empresa Nutracéutica Sturla SRL (Lomas de Zamora, BA, Argentina). El coccidiostato utilizado en las dietas fue maduramicina Nutremad (Inmobal Nutrer S.A. – Avellaneda, BA, Argentina) y el núcleo vitamínico-mineral fue Rovimix<sup>®</sup> Parrilleros (DSM – Tortuguitas, BA, Argentina) que fue donado gentilmente por la empresa productora.

La sacarosa, hexano (grado HPLC) y metanol (grado HPLC) provinieron de J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA) y el etanol (grado HPLC) de J.T. Baker (México DF, México). El ácido tiobarbitúrico (TBA), el fenil-metil-sulfonil-fluoruro (PMFS), 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP), ter-butil hidroperóxido y el pirogalol fueron obtenidos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). El ácido tricloroacético (TCA) y el hidróxido de potasio de Merck (Darmstadt, Hesse, Alemania).

Los estándares de ácidos grasos utilizados fueron PUFA-2 Animal Source de Supelco (Bellafonte, PA, USA) y Nu Check Prep. Inc. (Elysian, MN, USA), el de DL- $\alpha$ -tocoferol de Merck (Darmstadt, Hesse, Alemania) y el de  $\gamma$ -tocoferol de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

Cloroformo; éter de petróleo y metanol (grado analítico) fueron adquiridos en Merck Química Argentina (Buenos Aires, Argentina). Otras drogas (grado analítico) empleadas en la realización de este trabajo se obtuvieron de fuentes comerciales reconocidas.

## 3.2 Procesos aplicados a la semilla de chía

### 3.2.1 Molienda

La semilla de chía entera correspondiente a cada dieta fue mezclada con el maíz y molida en un molino de martillos Giuliani de  $3000\text{kg}\cdot\text{h}^{-1}$  (Giuliani S.A. – Rafaela, Santa Fe, Argentina) con una zaranda con perforaciones de 2mm.

### 3.2.2 Extrusado

Para la obtención de la chía extrusada se utilizó una extrusora de tornillo simple con inyección de vapor y un caudal de  $150\text{kg}\cdot\text{h}^{-1}$ . La temperatura alcanzada por el producto fue de  $95\text{-}100^\circ\text{C}$ .

La partida de chía con que se corrió el ensayo presentó una merma importante de extracto etéreo (9,7%), por lo que se volvió a realizar una pequeña prueba mezclando la chía con harina de soja (50% de cada uno), obteniéndose resultados satisfactorios.

### 3.2.3 Prensa (expeller)

El expeller de chía se consiguió mediante un proceso patentado por la empresa Nutracéutica Sturla SRL (438) donde se utilizó una prensa en frío de canastos tipo Ciastor con un caudal de  $220\text{kg}\cdot\text{h}^{-1}$ . La temperatura que alcanzó el aceite fue menor a  $45^\circ\text{C}$  y el expeller de  $60\text{-}70^\circ\text{C}$ , este último se dejó enfriar a temperatura ambiente y fue molido en una moledora de disco (Industrias Tomadoni S.A. – Ciudadela, BA, Argentina) para obtener un producto uniforme. Con este proceso se logró la remoción de aproximadamente un 17% de aceite.

Si se desea optimizar la extracción de aceite se puede utilizar extrusión previa (438), pero no fue este el caso.

### 3.3 Determinaciones analíticas en los ingredientes

Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Calidad de Alimentos del INTA EEA Pergamino.

#### 3.3.1 *Análisis proximal*

Muestras de maíz, harina de soja, poroto de soja desactivado por vapor, chíá molida, chíá extrusada y chíá expeller fueron analizadas por métodos aprobados para determinar el contenido de humedad, proteína, extracto etéreo, fibra cruda y cenizas.

##### 3.3.1.1 *Humedad*

La determinación de humedad se realizó empleando el método AACC 44-16.01 (439). Se pesaron 3g de muestra completamente homogénea en cápsulas previamente secadas y taradas. Se colocó la muestra en una estufa modelo modelo SL60S (SanJor – San Andrés, BA, Argentina) durante 24h a 105°C y luego se pasó a un desecador y se pesó cuando alcanzó temperatura ambiente. El cálculo se realizó por diferencia de peso.

##### 3.3.1.2 *Proteínas*

Se utilizó el método AACC 46-12.01 (440). Para la determinación, el método de Kjeldahl calcula la proteína bruta que es equivalente a la materia nitrogenada total mediante una digestión ácida ( $H_2SO_4$ ), por lo tanto el nitrógeno presente es convertido a sal de amonio, que es destilado y transformado en amoníaco (digestión alcalina), que también se destila y cuantifica por medio de una titulación indirecta del ácido sulfúrico que queda sin reaccionar. Para su determinación se pesaron 0,1g de muestra que se colocaron en un tubo de digestor con 4ml de  $H_2SO_4$  concentrado y una mezcla reactiva de  $K_2SO_4$ ,  $CuSO_4$  y Se. Dicho tubo fue calentado en un block digestor (Biotec – Pergamino, BA, Argentina) a gas a 320°C por 1h y

posteriormente fue puesto en una unidad de destilación (Biotec – Pergamino, BA, Argentina).

El amoníaco fue capturado en una solución de ácido bórico al 2%, siendo titulado con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,05N. Se utilizó una solución indicadora de rojo de metilo-azul de metileno en etanol.

El porcentaje de nitrógeno se calculó por la siguiente fórmula:

$$\%N = \frac{(V1 - V2) * meqN * NormH_2SO_4}{M} * 100$$

Donde:

%N: porcentaje de nitrógeno;

V1: volumen en ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gastados en la muestra;

V2: volumen en ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gastados en el blanco;

meq N: miliequivalente de nitrógeno;

Norm H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: normalidad de la solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para la titulación;

M: masa de la muestra en gramos.

Los resultados se reportaron como porcentaje de proteína, usando el valor de 6,25 como factor de conversión de porcentaje de nitrógeno a porcentaje de proteínas.

### 3.3.1.3 Extracto etéreo

Para la determinación se utilizó el método AACC30-25.01 (441). Con esta técnica se determina el extracto etéreo por medio de una extracción en forma directa con solventes orgánicos que en este caso fue hexano con un equipo de Twisselman.

El valor de extracto etéreo se determinó a través de la siguiente relación:

$$\%grasa = \frac{P - p}{M} * 100$$

Donde:

P: masa del matraz con grasa en gramos;

p: masa del matraz vacío en gramos;

M: masa de la muestra en gramos.

#### 3.3.1.4 Fibra cruda

La fibra cruda se define como el residuo obtenido tras el tratamiento de los vegetales con ácidos y álcalis. Es decir, se refiere fundamentalmente a los elementos fibrosos de la pared de la célula vegetal, que en su mayor parte corresponden a celulosa, pectinas y lignina. Para la determinación se utilizó el método AACC 32-10.01 (442). La fibra cruda fue determinada por una digestión secuencial de la muestra con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 1,25% y luego con NaOH al 1,25%. El residuo insoluble se obtuvo por filtración, el cual fue secado y pesado.

Por lo tanto los cálculos respectivos son:

$$\%FC = \frac{M_{Placa - tara}}{M} * 100$$

Donde:

%FC: porcentaje de fibra cruda;

M<sub>Placa</sub>: masa de la placa de filtración con el material retenido en gramos;

tara: masa de la placa de filtración;

M: masa de la muestra en gramos.

#### 3.3.1.5 Cenizas

Para la determinación, se utilizó el método AACC 08-01.01 (443). El procedimiento consistió en colocar un crisol a masa constante, en el cual se pesaron 2g de muestra; se colocó el



crisol en una mufla Dalvo (Ojalvo S.A. – Santa Fe, SF, Argentina) modificada con un termostato digital para efectuar la calcinación completa a 550°C por 5hs, hasta obtener cenizas grises o blancas. Se dejó enfriar en la mufla y se transfirió al desecador para su completo enfriamiento, se determinó la diferencia de masa del crisol y se calculó el valor a través de la siguiente fórmula:

$$\%cenizas = \frac{(P-p)}{M} * 100$$

Donde:

P: masa del crisol con las cenizas en gramos;

p: masa del crisol vacío en gramos;

M: masa de la muestra en gramos.

### **3.3.2 Actividad ureásica**

Esta prueba es utilizada para conocer si la enzima ureasa ha sido inactivada por acción del calor, sirve como un indicador indirecto de la concentración de inhibidores de tripsina. Se basa en la variación del pH.

La determinación se realizó de acuerdo al método AACC 22-90.01 (444). Se colocaron 200mg de muestra molida en dos tubos. En el primero se adicionó 10ml de solución buffer y en el segundo 10ml de solución buffer urea (urea granulada al 3% p/v en buffer fosfato de potasio (0,05M pH 7,0)) y fueron llevados a un baño termostatzado (Biotec – Pergamino, BA, Argentina) por 30°C ± 0,5 por 30min. Pasado el tiempo de incubación los tubos se dejaron a temperatura ambiente por 3min y se les midió el pH con un phmetro Orion Portable Meter 200 (Thermo Fisher Scientific Inc. - Boston, MA, USA). El resultado surgió del diferencial de pH de ambos tubos.

### 3.3.3 *Análisis de ácidos grasos*

En los ingredientes la determinación del perfil de ácidos grasos se llevó a cabo según el método Ce 2-66 del AOCS (445). Brevemente se realizó la extracción de aceite en frío utilizando hexano y un mortero, se colocó en un tubo y se centrifugó. El sobrenadante fue transesterificado por transesterificación directa *in situ* con catálisis alcalina con KOH 2N. El sobrenadante fue inyectado en un cromatógrafo gaseoso modelo CLARUS 500 (PerkinElmer Corp. – Shelton, CT, USA) equipado con un detector de ionización de flama; en el mismo se utilizó una columna capilar modelo Elite Wax (polietileno glicol) (PerkinElmer Corp. – Shelton, CT, USA) de 30m x 0,32mm de diámetro interno recubierta (espesor de 0,25µm) y se utilizó nitrógeno como gas de transporte. La temperatura fue programada para comenzar a 180°C e incrementar la temperatura a 190°C a 1°C.min<sup>-1</sup>. La temperatura del inyector fue de 240°C y la del detector a 280°C. El tiempo de corrida fue de 11min.

Los ácidos grasos individuales fueron identificados por comparación de los tiempos de retención relativos con estándares de ácidos grasos de Nu Check. La composición total fue expresada como el área % de los ácidos grasos totales.

### 3.3.4 *Determinación de energía metabolizable*

Los valores de energía metabolizable verdadera fueron determinados utilizando gallos adultos siguiendo la metodología descrita por Sibbald (446). Las aves fueron alojadas en jaulas individuales y ayunadas durante 24hs para asegurar el vaciado del tracto gastrointestinal. Transcurrido este tiempo, a un grupo de aves se les suministró 40g de material a analizar, mientras que otro grupo siguió en ayunas para calcular la pérdida de energía de origen endógeno. Las excretas de sendos grupos recolectadas durante 48hs fueron secadas en estufa Dalvo (Ojalvo S.A. – Santa Fe, SF, Argentina) a 60°C durante 48-72hs. Posteriormente se determinó la energía bruta tanto de los ingredientes como de las excretas con una bomba calorimétrica isoperibólica Parr 1261 (Parr Instrument Company –

Moline, IL, USA) acorde a lo expresado en el método estándar ASTM D2015-85 (447) y se calculó el contenido de energía metabolizable verdadera según la siguiente ecuación:

$$EMV = \frac{EBa - (EBexc - EBend)}{AC}$$

Donde:

EMV: energía metabolizable verdadera en bien, kcal/kg;

EBa: energía bruta alimento en kcal/kg;

EBexc: energía bruta excretas en kcal/kg;

EBend: energía bruta endógenos en kcal/kg;

AC: alimento consumido en kilogramos.

### 3.4 Animales e instalaciones

La prueba experimental a campo se llevó a cabo en la Sección Avicultura del INTA EEA Pergamino; se utilizaron 432 pollos parrilleros de la estirpe comercial Cobb (Granja Tres Arroyos S.A. – Colón, BA, Argentina) de un día de edad. Las aves fueron criadas a piso sobre viruta de madera, con una densidad de 10aves/m<sup>2</sup> alojados en óptimas condiciones de temperatura, humedad y ventilación. Tanto el alimento como el agua se administraron *ad libitum*.

A su llegada a las instalaciones, las aves fueron distribuidas en 24 lotes homogéneos de 18 individuos y alimentadas con una única dieta iniciadora hasta los 21 días de edad (fase pre-experimental) (Tabla 18). La iluminación fue continua los primeros 2 días y luego de 16hs diarias con 8hs de oscuridad.

### 3.5 Tratamientos

Las 24 unidades experimentales fueron distribuidas en 4 tratamientos con 6 réplicas cada uno. (Tabla 17)

**Tabla 17:** Descripción de los tratamientos empleados

<b>Tratamiento</b>	<b>Abreviatura</b>	<b>Descripción</b>
<b>1.- Maíz – Soja</b>	M-S	Control maíz – soja
<b>2.- Chía Molida</b>	ChM	Semilla de chía molida
<b>3.- Chía Extrusada</b>	ChT	Semilla de chía extrusada
<b>4.- Chía Expeller</b>	ChP	Expeller de chía

### 3.6 Dietas

Las aves recibieron las dietas experimentales en dos fases, crecimiento 22 a 35 días (Tabla 19) y terminador de 36 a 49 días de vida (Tabla 20). La elaboración de las mismas se llevó a cabo en la planta de fabricación de alimentos balanceados de la Sección Avicultura del INTA EEA Pergamino.

Las dietas fueron formuladas con el software N-utrition 2.0 (programación lineal a mínimo costo) (448) para cubrir las recomendaciones de Cobb (449) y de proteína ideal (450). Los ingredientes principales fueron maíz, poroto de soja desactivado, harina de soja, harina de carne y conchilla. Los tratamientos con chía se formularon isonutritivos con el control (salvo los AG) y se adicionó suficiente cantidad de cada fuente n-3 para alcanzar 1,5% de ALA en la dieta.

Tabla 18: Alimento iniciador (pre-experimental)

<b>Materias Primas (%)</b>	<b>Pre-experimental</b>
Maíz	49,586
Soja poroto vapor	10,000
Harina de Soja 40	17,922
Harina de girasol 29	13,303
Harina de carne 45	5,628
Aceite de girasol	2,000
Conchilla	0,308
Sal	0,343
DL-Metionina	0,257
L-Lisina HCl	0,325
L-Treonina	0,028
Núcleo vit.-miner. DSM	0,200
Coccidiostato	0,050
Colina HCl	0,050
<b>Nutrientes (%)</b>	
EMV (kcal/kg)	3250
Proteína	22,00
Lípidos	7,09
Fibra cruda	5,13
Cenizas	4,73
Ca	0,90
P disp.	0,45
Relación Ca/P disp.	2,00
Na	0,20
K	0,80
Cl	0,29
Balance electrolítico (meq/1000g)	210
Lisina	1,33
Met+Cis	0,98
Treonina	0,85
Triptófano	0,24
Valina	1,13
Arginina	1,55
Lisina dig.	1,19
Met+cis dig.	0,89
Treonina dig.	0,85
Triptófano dig.	0,24
Valina dig.	1,00
Arginina dig.	1,45
16:0 Ác. Palmítico	0,99
18:0 Ác. Esteárico	0,39
18:1 n-9 Ác. Oleico	2,13
18:2 n-6 Ác. Linoleico	3,43
18:3 n-3 Ác. Linolénico	0,37
18:2/18:3	24,08

Tabla 19: Alimento crecimiento (experimental)

<b>Materias Primas (%)</b>	<b>M-S</b>	<b>ChS</b>	<b>ChT</b>	<b>ChP</b>
Maíz	53,537	51,047	48,893	47,292
Soja poroto vapor	20,000	10,750	11,481	11,955
Harina de soja 40	18,519	23,823	22,897	19,790
Harina de carne 45	4,657	4,578	4,553	4,537
Aceite de girasol	1,876	2,610	2,458	2,796
Chía Molida		5,779		
Chía Extrusada			8,340	
Chía Expeller				12,263
Conchilla	0,465	0,416	0,385	0,325
Sal	0,322	0,323	0,323	0,322
DL-Metionina	0,220	0,218	0,215	0,209
L-Lisina HCl	0,096	0,132	0,131	0,170
L-Treonina	0,008	0,024	0,024	0,041
Núcleo vit.-miner. DSM	0,200	0,200	0,200	0,200
Coccidiostato	0,050	0,050	0,050	0,050
Colina HCl	0,050	0,050	0,050	0,050
<b>Nutrientes (%)</b>				
EMV (kcal/kg)	3450	3450	3450	3450
Proteína	21,00	21,00	21,00	21,50
Lípidos	8,45	9,55	9,47	9,77
Fibra cruda	3,73	3,94	4,53	4,90
Cenizas	3,31	3,23	3,20	2,99
Ca	0,90	0,90	0,90	0,90
P disp	0,40	0,40	0,40	0,40
Relación Ca/P disp.	2,25	2,25	2,25	2,25
Na	0,18	0,18	0,18	0,18
K	0,82	0,78	0,77	0,72
Cl	0,26	0,26	0,26	0,25
Balance electrolítico (meq/1000g)	216	204	202	192
Lisina	1,22	1,23	1,24	1,27
Met+Cis	0,88	0,90	0,91	0,95
Treonina	0,81	0,82	0,83	0,84
Triptófano	0,24	0,24	0,25	0,25
Valina	0,94	0,90	0,91	0,91
Arginina	1,45	1,49	1,52	1,58
Lisina dig.	1,10	1,10	1,10	1,10
Met+Cis dig.	0,80	0,80	0,80	0,80
Treonina dig.	0,70	0,70	0,70	0,70
Triptófano dig.	0,22	0,21	0,21	0,21
Valina dig.	0,97	0,93	0,93	0,92
Arginina dig.	1,35	1,34	1,35	1,35
16:0 Ác. Palmítico	0,93	0,88	0,89	0,90
18:0 Ác. Esteárico	0,38	0,39	0,41	0,42
18:1 n-9 Ác. Oleico	2,49	3,74	3,64	3,91
18:2 n-6 Ác. Linoleico	4,27	4,18	4,11	4,27
18:3 n-3 Ác. Linolénico	0,34	1,50	1,50	1,50
18:2/18:3	12,52	2,79	2,74	2,84

Tabla 20: Alimento terminador (experimental)

<b>Materias Primas (%)</b>	<b>MS</b>	<b>ChS</b>	<b>ChT</b>	<b>ChP</b>
Maíz	64,240	61,763	59,541	57,921
Soja poroto vapor	25,000	9,300	10,046	10,524
Harina de Soja 40	4,141	14,874	13,958	10,791
Harina de carne 45	4,936	4,818	4,792	4,775
Aceite de girasol	0,281	1,946	1,796	2,143
Chía Molida		5,905		
Chía Extrusada			8,522	
Chía Expeller				12,531
Conchilla	0,288	0,251	0,219	0,158
Sal	0,264	0,266	0,266	0,265
DL-Metionina	0,309	0,303	0,299	0,293
L-Lisina HCl	0,245	0,272	0,267	0,306
L-Treonina	0,067	0,073	0,066	0,065
Núcleo vit.-miner. DSM	0,150	0,150	0,150	0,150
Coccidiostato	0,050	0,050	0,050	0,050
Colina HCl	0,030	0,030	0,030	0,030
<b>Nutrientes (%)</b>				
EMV (kcal/kg)	3500	3500	3500	3500
Proteína	18,00	18,00	18,00	18,50
Lípidos	7,97	9,02	8,94	9,24
Fibra cruda	3,52	3,48	4,08	4,46
Ceniza	3,31	3,23	3,20	2,99
Ca	0,84	0,84	0,84	0,84
P disp.	0,40	0,40	0,40	0,40
Relación Ca/P disp.	2,10	2,10	2,10	2,10
Na	0,16	0,16	0,16	0,16
K	0,69	0,64	0,63	0,59
Cl	0,23	0,23	0,23	0,23
<b>Balance electrolítico (meq/1000g)</b>				
Lisina	1,10	1,10	1,11	1,13
Met+Cis	0,88	0,90	0,91	0,94
Treonina	0,73	0,73	0,73	0,73
Triptófano	0,19	0,19	0,20	0,20
Valina	0,94	0,90	0,91	0,91
Arginina	1,17	1,21	1,24	1,30
Lisina dig.	0,99	0,99	0,99	0,99
Met+Cis dig.	0,81	0,81	0,81	0,81
Treonina dig.	0,63	0,63	0,62	0,60
Triptófano dig.	0,17	0,17	0,17	0,17
Valina dig.	0,82	0,78	0,78	0,77
Arginina dig.	1,06	1,08	1,09	1,08
16:0 Ác. Palmítico	0,95	0,87	0,88	0,89
18:0 Ác. Esteárico	0,38	0,38	0,39	0,40
18:1 n-9 Ác. Oleico	2,18	3,24	3,13	3,41
18:2 n-6 Ác. Linoleico	4,03	3,88	3,81	3,97
18:3 n-3 Ác. Linolénico	0,39	1,50	1,50	1,50
18:2/18:3	10,42	2,59	2,54	2,65

Cada kg de núcleo aportó: vitamina A, 5300000UI; vitamina D3, 1560000UI; vitamina E, 15000mg; vitamina B1 (tiamina), 1000mg; vitamina B2 (riboflavina), 4000mg; vitamina B3 (niacina), 26000mg; vitamina B5 (ácido pantoténico), 6500mg; vitamina B6 (piridoxina), 2000mg; vitamina B8 (biotina), 50mg; vitamina B9 (ácido fólico), 600mg; vitamina B12 (cianocobalamina), 10mg; vitamina K3 (menadiona), 1700mg; Colina, 60000mg; Cu, 4000mg; Fe, 30000mg; I, 400mg; Mn, 50000mg; Se, 140mg; Zn, 40000mg; exp. csp 1000g.

### **3.7 Mediciones de parámetros zootécnicos**

Semanalmente se pesaron las aves (de manera individual) y el alimento sobrante. Con los datos obtenidos se calculó la conversión y la relación peso/conversión.

### **3.8 Acondicionamiento de muestras**

Al llegar a la edad de faena, 49 días de vida, se procedió al sacrificio de 6 aves por tratamiento aves cumpliendo con la normativa vigente. (451)

Las mismas fueron identificadas y pesadas antes del sacrificio. Luego del pelado, eviscerado y remoción de patas y cabeza se pesó la carcasa y la grasa abdominal. Paso seguido, de las carcasas se separó y pesó la pechuga y pata-muslo de las cuales la parte derecha se destinó a evaluación sensorial y la izquierda para las determinaciones analíticas; todas las muestras fueron envasadas individualmente y conservadas en refrigeración hasta el final de la faena. Posteriormente fueron congeladas (-18°C) y enviadas a sendos laboratorios para su posterior análisis.

### **3.9 Determinaciones analíticas en carne**

Las determinaciones de grasa intramuscular, colesterol, ácidos grasos, TBARS y vitamina E fueron realizadas en el Instituto de Tecnología de los Alimentos del INTA Castelar y las de



quimioluminiscencia en la Cátedra de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP.

Las muestras fueron conservadas en freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su análisis.

### **3.9.1 Grasa intramuscular**

Para la determinación de grasa intramuscular se utilizó la metodología propuesta por la AOAC 991.36. Una alícuota de 10g de pechuga y pata-muslo fue secada y extraída en un equipo Soxtec<sup>®</sup> Tekator modelo 2045 (Foss, Hillerød, Dinamarca) utilizando hexano en ebullición como solvente de extracción.

### **3.9.2 Determinación del perfil de ácidos grasos**

Los lípidos totales fueron extraídos con cloroformo:metanol (2:1, v/v) mediante una adaptación del procedimiento de Folch et al. (452). A partir de muestras alícuotas del extracto de cloroformo se determinaron la composición en ácidos grasos y el contenido de colesterol. En una muestra alícuota se prepararon los ésteres metílicos de acuerdo a la técnica de Pariza et al. (453). En la segunda muestra alícuota se determinó el contenido de colesterol por un método enzimático colorimétrico previa saponificación con solución de alcotra. Brevemente, la fase inferior fue saponificada con 2ml de hidróxido de potasio al 10% p/v en metanol. La fracción insaponificable (fase superior) fue retirada para, posteriormente, cuantificar el colesterol y la fase inferior (fracción saponificable) fue hidrolizada con ácido clorhídrico concentrado liberando, de esta manera, los ácidos grasos, los cuales fueron transmetilados con una solución al 20% de trifluoruro de boro en metanol, extraídos con hexano y cuantificados usando un cromatógrafo gaseoso modelo Chrompack CP900S (Chrompack International – Middelburg, Países Bajos) equipado con un detector de ionización de flama; en el mismo se utilizó una columna capilar modelo CP-SIL 88

(Chrompack International – Middelburg, Países Bajos) de 50m x 0,25mm de diámetro interno recubierta y se utilizó nitrógeno como gas de transporte. La temperatura fue programada a 70°C por 4min, luego se incrementó a 170°C a 13°C.min<sup>-1</sup>, de 170 a 200°C la temperatura subió 1°C.min<sup>-1</sup>. La temperatura del inyector y del detector fue mantenida a 250°C.

Los ácidos grasos individuales fueron identificados por comparación de los tiempos de retención relativos con estándares de ácidos grasos (PUFA-2 Animal Source). La composición total fue expresada como el área % de los ácidos grasos totales.

El UI fue calculado de acuerdo a la siguiente fórmula: suma de ácidos grasos x número de dobles ligaduras. (454)

### **3.9.3 Contenido de colesterol**

De la fracción insaponificable (superior) remanente de la saponificación realizada durante la extracción de ácidos grasos se tomó una muestra alícuota, cuya concentración fue determinada por un método enzimático – colorimétrico (BioSystems Reagents & Instruments, Barcelona, España).

### **3.9.4 Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico**

La determinación de TBARS se realizó por triplicado según el método de extracción ácida (61). Brevemente, alícuotas de 2,5g de carne picada se homogeneizaron en un homogeneizador Stomacher Lab Blender 400 (Seward Medical – Londres, UK) durante 3min en bolsas que contenían 12,5ml de una solución de TCA (10% p/v), luego se filtró por papel Whatman n°2. Iguales cantidades de sobrenadante y solución de TBA 0.02M se mezclaron, se dejaron incubar durante toda la noche hasta el desarrollo de un color rosado. Se determinó el desarrollo de color a 530 nm en un espectrofotómetro UV-Visible Lambda Bio-20 (Perkin Elmer Corp. – Norwalk, CT, USA) y los valores se compararon con los de una

curva estándar realizada con TEP. Los resultados fueron expresados en mg de MDA/kg de carne fresca.

### **3.9.5 Quimioluminiscencia**

Primeramente se preparó el homogenato con una alícuota de aproximadamente 5g de músculo (pechuga o pata-muslo) a la que se le adicionó 3 partes de solución A (conteniendo sucrosa 0,25M; Tris HCl (pH 7,4) 10mM; PMFS 0,001M) y todo fue homogeneizado en un homogeneizador Ultra-Turrax<sup>®</sup> T-25 (IKA Works Inc. – Wilmington, NC, USA) a 3000rpm por 2 minutos en un vaso de precipitado inmerso en hielo.

La peroxidación lipídica no enzimática se llevó a cabo incubando los homogenatos de músculos provenientes de pechuga y pata-muslo (400µl) en buffer fosfato de sodio 0,05 M, pH 7,4 a 37°C, volumen final 1ml. La reacción de lipoperoxidación se inició mediante la adición de 10µl de solución de ter-butil hidroperóxido (concentración final 50,5mM). La solución stock de ter-butil hidroperóxido fue preparada en metanol. Simultáneamente, se realizaron ensayos con homogenato sin la adición del prooxidante para determinar la línea de base. La emisión lumínica se determinó durante un período de 94min, cuantificada como cuentas por minuto (cpm) cada 7min, en un equipo Packard 1900TR TriCarb Liquid Scintillation Analyzer (Packard Instruments Company – Meriden, CT, USA) provisto de un programa de quimioluminiscencia (345). La suma del diferencial, muestra con y sin prooxidante, fue utilizada para comparar el efecto de los diferentes tratamientos.

Además se analizó la variación de la quimioluminiscencia a lo largo del tiempo con lo que se determinó el momento del pico máximo de quimioluminiscencia.

### 3.9.6 Contenido de vitamina E

Las vitaminas  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol se determinaron por cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC), de acuerdo a la metodología modificada de Butriss & Diplock (455) y aplicada para carnes según Descalzo et al. (61). Brevemente, se tomaron muestras de músculo de pechuga y pata-muslo que fueron picadas y homogeneizadas con buffer fosfato de potasio pH 7,2 con la adición de pirogalol al 1% de en etanol con un homogeneizador Ultra-Turrax<sup>®</sup> T-25 (IKA Works Inc. – Wilmington, NC, USA) por 2min a 3000rpm. Posteriormente se llevó a cabo la saponificación por 30min a 70°C con hidróxido de potasio 10N. Luego, las muestras fueron extraídas dos veces con n-hexano, evaporadas a sequedad bajo flujo de nitrógeno, resuspendidas en etanol absoluto y filtradas con una jeringa a través de una membrana de nylon con microporos de 0,45 $\mu$ m previo a la inyección. Las muestras fueron analizadas en un HPLC de fase reversa equipado con una bomba cuaternaria modelo P4000 (Thermo Separation Products Inc. – Piscataway, NJ, USA) con un desgasificador y un bucle de inyección manual de 20 $\mu$ l y conectado a una columna Alltech<sup>®</sup> Alltima<sup>®</sup> C18 (250mm x 4,6mm) y tamaño de partícula 5 $\mu$ m. El detector electroquímico Decade (Antec Leyden – Zoeterwoude, Países Bajos) fue equipado con una célula de flujo con Ag/AgCl y carbón cristalino como electrodos de referencia y trabajo respectivamente. La fase móvil para la detección electroquímica fue modificada de acuerdo a la técnica descrita por Rijke et al. (456). El flujo fue de 1ml/min y las células de referencia fueron programadas a +700mV. La recuperación de  $\alpha$ - y  $\gamma$ -tocoferol rondó el 98%. Se trazaron curvas de calibración con estándares de DL- $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol diluidos en etanol absoluto.

### 3.10 Evaluación sensorial

Las muestras fueron remitidas congeladas para su evaluación sensorial; las mismas fueron descongeladas (24hs en heladera 5°C $\pm$ 1) y cocidas en horno hasta una temperatura interna de 73°C (centro frío de la muestra), monitoreada con termocupla Testo 110 (Testo AG –

Lenzkirch, Alemania). El análisis sensorial se reiteró en el corte pechuga luego de mantener las muestras envasadas en bolsas Cryovac (Sealed Air Corporation – Elmwood Park, NJ, USA) de 60 micrones selladas al vacío utilizando una envasadora Multivac A300/16 (Multivac Sepp Haggenmüller GmbH & Co. – KG, Wolfertschwenden, Alemania) por 1,3 segundos hasta llegar a una presión interna de 5-6 milibares y congeladas (-18°C) durante 6 meses. Los músculos más representativos de las media pechuga, del muslo y la pata fueron extraídos y cortados en cubos de aproximadamente 1cm<sup>3</sup>.

El análisis sensorial se llevó a cabo en cabinas individuales (457) de forma aislada, sin interferencias, en sesiones de una hora y media.

Un panel analítico de ocho evaluadores, seleccionados y entrenados de acuerdo a las normas internacionales (458-467) y con experiencia en análisis sensorial, realizaron un análisis descriptivo cuantitativo utilizando una escala lineal no estructurada de 10cm. Las muestras fueron presentadas al panel en recipientes cerrados codificados con números aleatorios de tres dígitos. Para ciertos atributos, fueron desarrolladas referencias específicas. Se analizaron atributos de apariencia (color global, brillo superficial, uniformidad del color), olfato-gustativos (olor y sabor: intensidad de olor a pollo, intensidad de sabor (característico) a pollo, rancio, aceite, maní, chía, grasa, hígado/sangre/metálico, dulce, amargo, salado) y textura (jugosidad inicial, ternura, fibrosidad, untuosidad, cantidad de masticaciones, jugosidad final, persistencia, retrogusto). Los extremos de las escalas correspondieron a la intensidad del atributo: extremadamente suave, duro, seco, heterogéneo, baja persistencia, nada dulce, amargo o salado, no untuoso, pocas masticaciones (tierno) (límite inferior: 0) y extremadamente fuerte (intenso), tierno, jugoso, homogéneo, muy dulce, amargo o salado, untuoso, muchas masticaciones (correoso) (límite superior: 10).

### 3.11 Análisis estadísticos

La prueba de crecimiento se corrió en un diseño en bloques completamente aleatorizado, cada tratamiento contó con 6 réplicas de 18 aves cada una. Los datos fueron analizados estadísticamente utilizando un análisis de varianza de dos vías con el software InfoSTAT (468); en los casos que hubo diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) las medias fueron separadas por la prueba de comparaciones múltiples de Duncan.

En las pruebas de laboratorio se utilizaron muestras de 6 aves provenientes de una misma réplica y los datos fueron analizados estadísticamente utilizando un análisis de varianza de una vía con el software InfoSTAT (468); en los casos que hubo diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) las medias fueron separadas por la prueba de comparaciones múltiples de Duncan y cuando hubo pérdida de datos, los mismo fueron analizados con el procedimiento GLM de SAS (469), y Duncan para la separación de medias.

En el caso de la evaluación sensorial los datos fueron analizados con el procedimiento GLM de SAS (469) y se utilizó la prueba de Tukey para la separación de medias.

Todos los datos fueron expresados como medias de los tratamientos y en cada variable analizada se indicó el coeficiente de variación del ensayo.

## **4 RESULTADOS**

#### 4.1 Composición de materias primas

En la Tabla 21 figura la composición proximal de las materias primas utilizadas donde se puede visualizar como fue variando la composición nutricional de la chía cuando fue molida, extrusada o bien cuando se le extrajo parte de su aceite por prensado en frío. Cabe aclarar que estos resultados surgieron de muestras representativas, sin repeticiones, por lo que no tienen análisis estadístico. Con dichos valores se cargó la matriz nutricional del software de formulación para generar las diferentes dietas consumidas por los pollos en el transcurso de sus vidas.

**Tabla 21:** Análisis proximal y contenido de energía de las materias primas (base tal cual)

<b>Materia Prima</b>	<b>MS</b>	<b>Prot</b>	<b>EE</b>	<b>FC</b>	<b>Cen</b>	<b>AU</b>	<b>EB</b>	<b>EMV</b>	<b>EMV/EB</b>
	<b>%</b>					<b>ΔpH</b>	<b>Kcal/Kg</b>		<b>%</b>
<b>Maíz Semident.</b>	85,8	7,13	4,3	1,6	1,1	ND	3859	3565	92,4
<b>Soja Harina</b>	86,6	41,91	1,9	5,8	6,9	0,13	4198	2650	63,1
<b>Soja Poroto Vapor</b>	87,9	34,58	17,2	9,1	5,0	0,05	5087	3646	71,7
<b>Girasol Aceite</b>	ND	ND	98,0	ND	ND	ND	9500	9450	99,5
<b>Chía Molida</b>	92,4	20,8	34,4	13,7	5,5	ND	5858	3742	63,9
<b>Chía Extrusada</b>	91,2	17,9	24,7	16,8	4,8	ND	5397	3671	68,0
<b>Chía Expeller</b>	90,2	26,1	17,7	15,7	5,9	ND	4967	3220	64,8

MS: Materia Seca; Prot: Proteína; EE: Extracto etéreo; FC: Fibra cruda; Cen: Ceniza; AU: Actividad ureásica; EB: Energía bruta; EMV: Energía metabolizable verdadera; ND: No determinado.

No se observaron grandes diferencias en el contenido de materia seca entre procesos aplicados a la semilla de chía presentando la chía extrusada y chía expeller contenidos más bajos en relación a la semilla de chía molida.

El contenido de proteína cruda en chía expeller fue mayor, seguida por la chía molida y por último, con el menor contenido de proteína, se encontró la chía extrusada.

El extracto etéreo disminuyó en la chía expeller a 17,7%, respecto de la chía molida (34,4%), quedando la chía extrusada con un valor intermedio. Este resultado estaría indicando que, con el proceso de extrusión aplicado, hubo pérdida de aceite.



Por este motivo se decidió extrusar una mezcla de semilla de chía con harina de soja (en partes iguales). En estas condiciones fue posible extrusar semillas de chía sin que se produzcan pérdidas de aceite. (Tabla 22)

**Tabla 22:** Contenido de extracto etéreo en mezcla chía-harina de soja antes y después del extrusado (base seca)

<b>Material</b>	<b>EE (%)</b>
<b>Mezcla sin extrusar</b>	19,93
<b>Mezcla extrusada</b>	21,23

EE: Extracto etéreo.

El contenido de fibra cruda, de la chía extrusada y de la chía expeller fue mayor al de la semilla de chía molida.

El contenido de ceniza presentó pequeñas fluctuaciones.

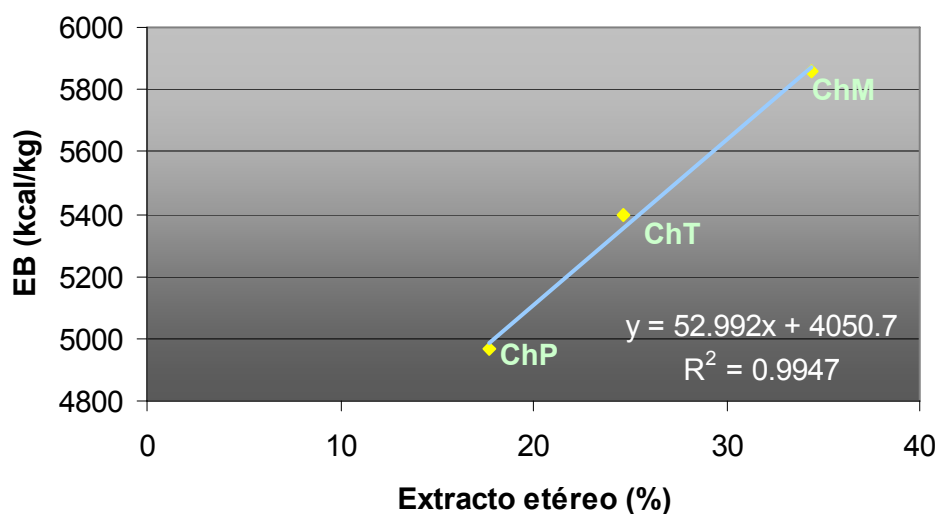
En cuanto a energía bruta (EB), la chía molida presentó el mayor valor (5858kcal/kg) seguida de la chía extrusada con un valor intermedio (5397kcal/kg) y por último la chía expeller con el menor valor (4967kcal/kg).

En tanto que la energía metabolizable verdadera (EMV) presentó la misma tendencia observada con EB, no obstante, la chía extrusada alcanzó un valor muy cercano al de la chía molida (3671 vs. 3742kcal/kg respectivamente), y más distanciada de estas se posicionó la chía expeller con 3220kcal/kg.

Asociando estos dos último valores surge la relación EMV/EB que permite cuantificar el aprovechamiento de la EB, donde se destacó la chía extrusada por sobre las demás con un 68,0% de aprovechamiento de la EB, seguida de la chía expeller con un 64,8% y por último la chía molida con un 63,9%.

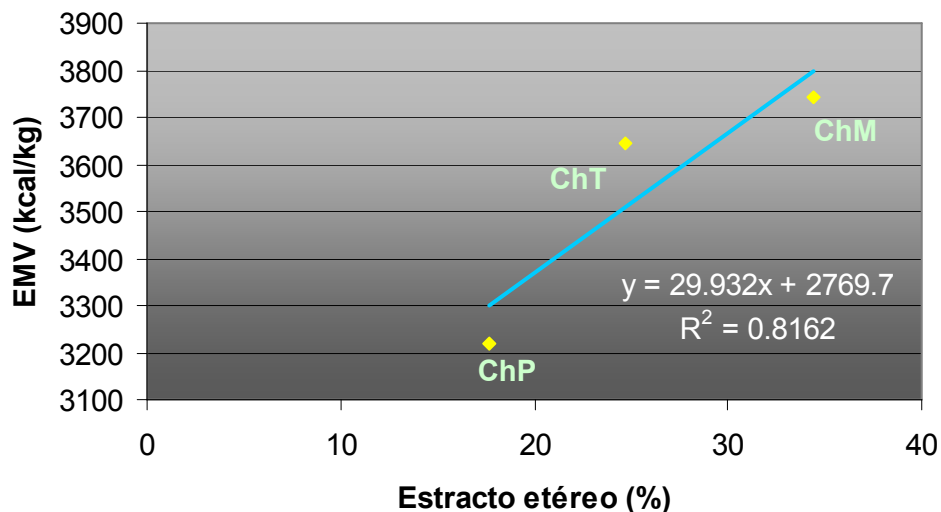
En la Figura 25 se muestra la relación entre el contenido de EE y la energía bruta (EB).

**Figura 25:** Relación entre el contenido de extracto etéreo y la energía bruta en semilla de chía con diferentes procesos



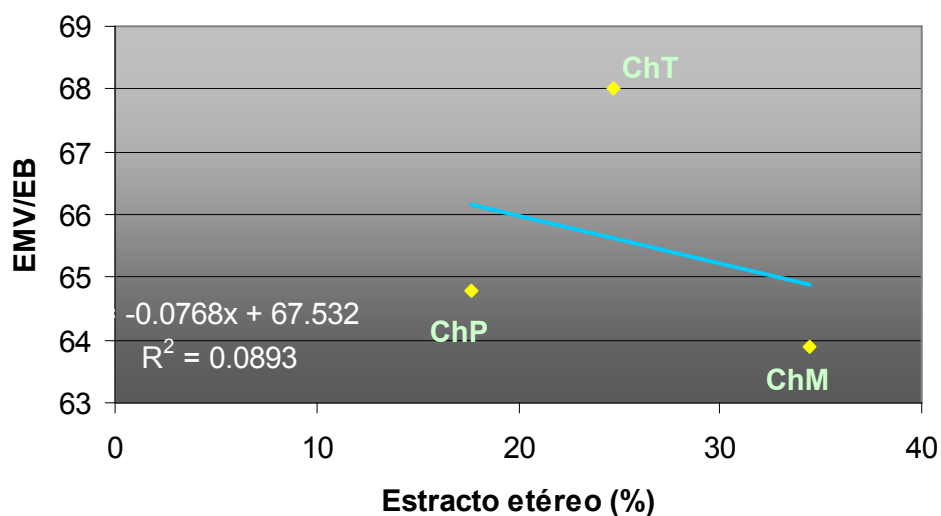
La EB aumentó en función del contenido de EE observándose una alta correlación entre estos parámetros (Figura 25). Teniendo en cuenta que la ordenada al origen fue de 4050,7kcal/kg y que el contenido de EB de la chía molida fue de 5858kcal/kg con 34,4% de EE, cada punto porcentual de lípidos representó 52,5kcal/kg. Haciendo el mismo cálculo, se obtuvo que cada punto porcentual de EE en chía extrusada aportó 54,5kcal/kg y en chía expeller 51,8kcal/kg.

En la Figura 26 se puede observar la relación entre EE y energía metabolizable verdadera (EMV).

**Figura 26:** Relación entre extracto etéreo y energía metabolizable verdadera

Al relacionar el contenido de EMV en función del EE (Figura 26) se observó algo parecido a lo ocurrido con EB (Figura 25). No obstante, la EMV de la chíá extrusada resultó estar por encima del valor esperado considerando el contenido de EE.

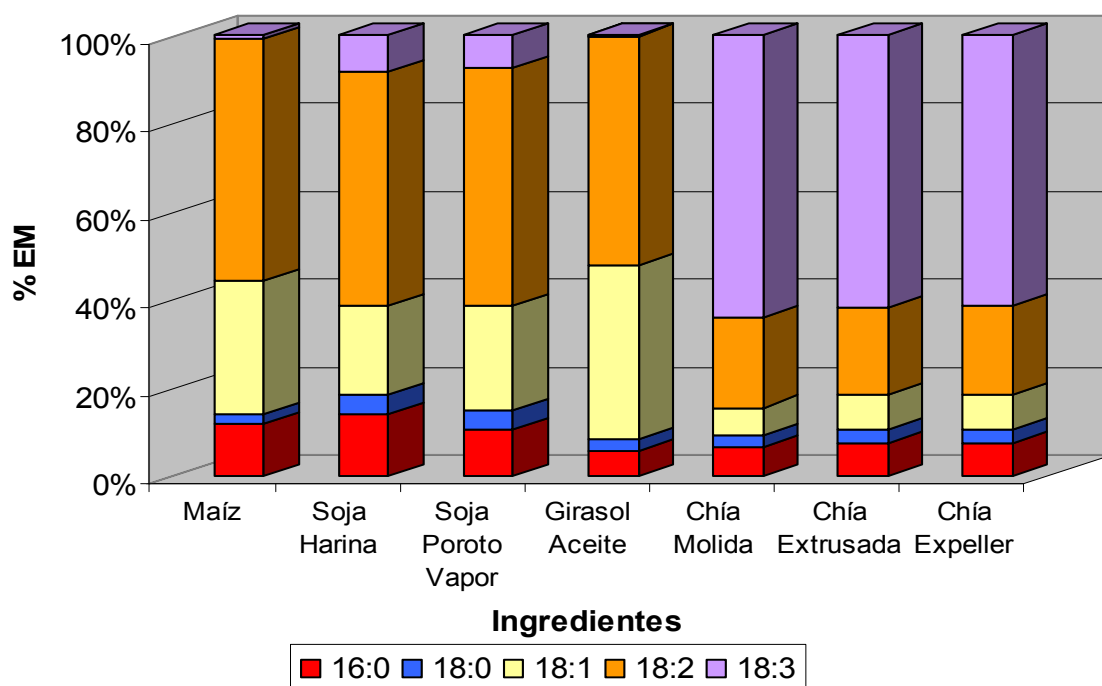
En la Figura 27 se correlaciona el contenido de EE y la relación EMV/EB.

**Figura 27:** Relación entre relación extracto etéreo y aprovechamiento de la energía bruta

En la Figura 27 se puede ver que la chía molida fue la que presentó menor aprovechamiento de la EB, seguido de la chía expeller y la chía extrusada con un 68% de aprovechamiento de la energía.

En la Figura 28 se muestra el perfil de ácidos grasos de las diferentes materias primas empleadas en la elaboración de las dietas experimentales.

**Figura 28:** Perfil de ácidos grasos de lípidos totales en materias primas



% EM: Porcentaje sobre ésteres metílicos.

El contenido de ácidos grasos de cada materia prima (%) expresado en base tal cual figura en la Tabla 23.

**Tabla 23:** Perfil de ácidos grasos de materias primas (base tal cual)

Materia Prima	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
	%				
Maíz	0,500	0,104	1,308	2,350	0,037
Soja Harina	0,269	0,080	0,380	1,014	0,156
Soja Poroto Vapor	1,828	0,707	4,078	9,298	1,290
Girasol Aceite	5,508	2,754	38,730	50,872	0,147
Chía Molida	2,243	0,853	2,253	7,055	21,992
Chía Extrusada	1,803	0,808	1,887	4,933	15,270
Chía Expeller	1,312	0,563	1,352	3,575	10,898

Los perfiles de ácidos grasos de la semilla de chía sometida a diferentes procesos (expresados como porcentaje sobre éster metílico) fueron similares (Figura 28). No obstante, al referir los resultados como porcentaje del material tal cual (Tabla 23), la chía molida presentó contenidos más altos en todos los ácidos grasos, seguida de la chía extrusada y por último la chía expeller.

## 4.2 Parámetros Zootécnicos

A continuación se presentan los resultados de consumo (Tabla 24 y Figura 29), peso (Tabla 25 y Figura 30), conversión (Tabla 26 y Figura 31) y relación peso/conversión. (Tabla 27 y Figura 32)

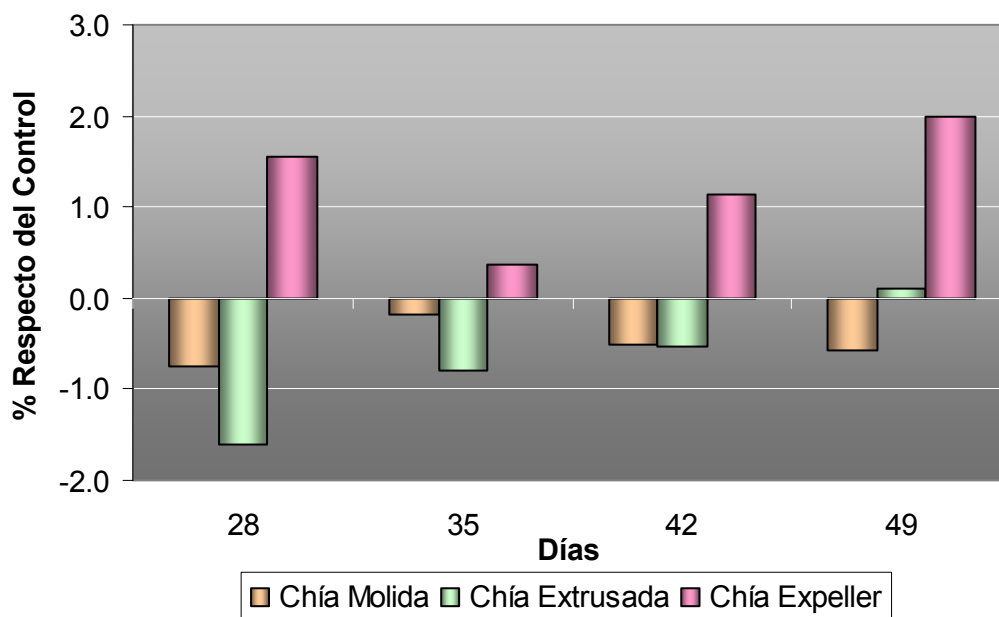
### 4.2.1 Consumo

**Tabla 24:** Consumo (g)

Tratamiento	Días			
	28	35	42	49
1.- Maíz – Soja	2142	3443	4907	6493
2.- Chía Molida	2126	3437	4882	6456
3.- Chía Extrusada	2108	3415	4881	6499
4.- Chía Expeller	2175	3456	4962	6622
CV (%)	1,96	1,80	2,02	2,47

No se observaron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) en consumo de alimento, pese a que el tratamiento con chía expeller presentó un consumo por encima de los demás. (Tabla 24 y Figura 29)

**Figura 29:** Consumo (% respecto del control)



#### 4.2.2 Peso

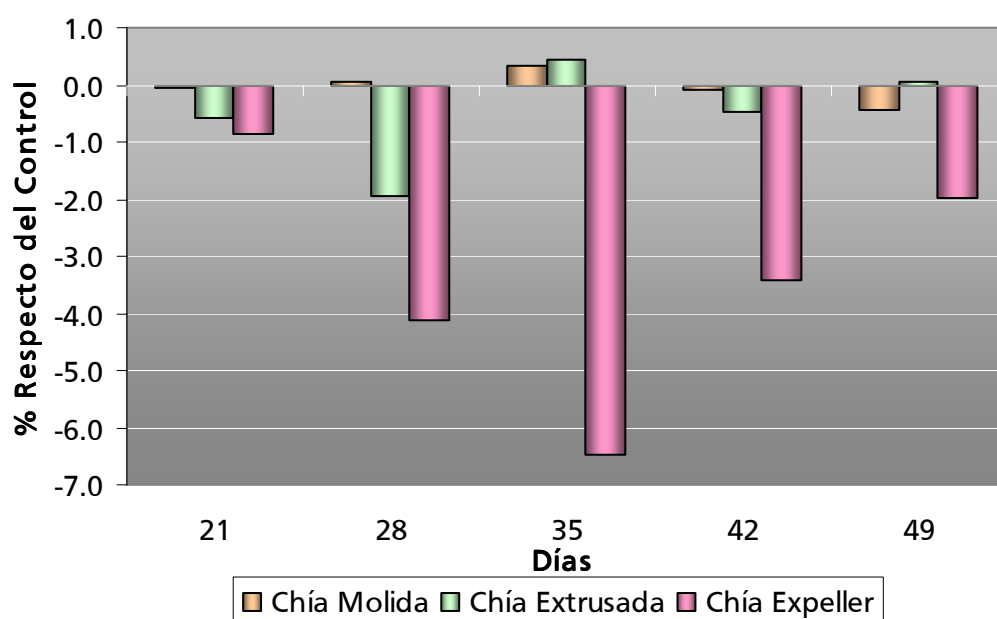
**Tabla 25:** Peso (g)

Tratamiento	Días				
	21	28	35	42	49
1.- Maíz – Soja	845	1469 a	2154 a	2843	3549
2.- Chía Molida	844	1469 a	2161 a	2840	3534
3.- Chía Extrusada	840	1440 b	2163 a	2829	3552
4.- Chía Expeller	837	1408 c	2015 b	2746	3479
CV (%)	1,50	1,49	2,73	2,60	2,80

Medias en una misma columna con distinta letra difieren significativamente ( $p\leq 0.05$ ).

Como lo muestra la Tabla 25, se comenzó la experiencia con pollos de 21 días de vida que presentaban un peso similar ( $p>0,05$ ). A la semana de ensayo las aves que consumieron las dietas con chía extrusada y chía expeller presentaron pesos menores al control maíz – soja; siendo el más perjudicado el grupo que consumió la chía expeller ( $p\leq 0,05$ ). A los 35 días de vida (14 días de ensayo) el tratamiento con chía extrusada se recuperó y presentó un peso igual al del grupo control ( $p>0,05$ ), pero el tratamiento con chía expeller siguió con menor peso ( $p\leq 0,05$ ). A partir del día 42 de ensayo todos los tratamientos presentaron pesos similares ( $p>0,05$ ). El tratamiento con chía expeller mostró mayores diferencias en comparación con el control durante las dos primeras semanas de ensayo, efecto que se fue diluyendo hacia el final de la experiencia. (Figura 30)

**Figura 30:** Peso (% respecto del control)



### 4.2.3 Conversión

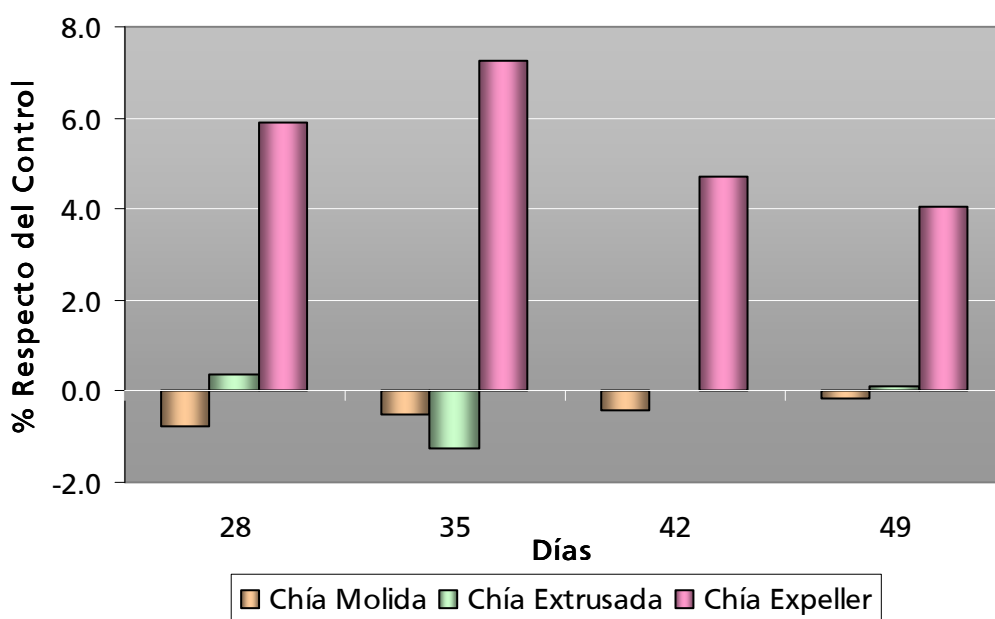
Tabla 26: Conversión

Tratamiento	Días			
	28	35	42	49
1.- Maíz – Soja	1,459 b	1,599 b	1,726 b	1,830 b
2.- Chía Molida	1,447 b	1,591 b	1,719 b	1,827 b
3.- Chía Extrusada	1,464 b	1,579 b	1,727 b	1,831 b
4.- Chía Expeller	1,545 a	1,715 a	1,807 a	1,904 a
CV (%)	1,85	2,08	2,07	1,66

Medias en una misma columna con distinta letra difieren significativamente ( $p \leq 0.05$ ).

Las aves del tratamiento con chía expeller presentaron una tendencia a mayor consumo y menor peso que el resto de los tratamientos por lo que la conversión alimenticia resultó ser significativamente más alta ( $p \leq 0,05$ ) a lo largo de toda la experiencia. (Tabla 26 y Figura 31) Mientras que los tratamientos con chía molida y chía extrusada no difirieron del tratamiento control a base de maíz – soja.

Figura 31: Conversión (% respecto del control)





En la Figura 31 se puede observar la evolución de los diferentes tratamientos con chía respecto del tratamiento control y se visualiza que el menor desempeño del tratamiento con chía expeller ocurrió a los 35 días (14 días luego de comenzar con la dieta experimental) pero luego este efecto negativo se diluyó, por lo que este parámetro se vio afectado en un 4% a los 49 días respecto del control.

#### 4.2.4 *Peso/Conversión*

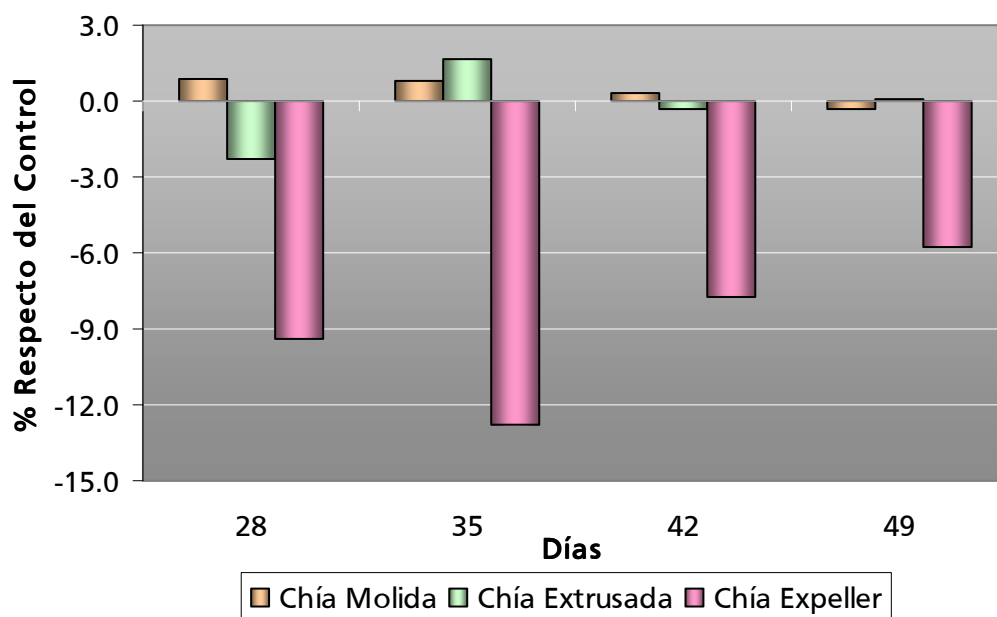
**Tabla 27:** Peso/Conversión

Tratamiento	Días			
	28	35	42	49
1.- Maíz – Soja	1007 a	1348 a	1647 a	1940 a
2.- Chía Molida	1015 a	1359 a	1652 a	1935 a
3.- Chía Extrusada	984 a	1370 a	1641 a	1942 a
4.- Chía Expeller	912 b	1175 b	1520 b	1828 b
CV (%)	2,67	4,56	4,29	3,95

Medias en una misma columna con distinta letra difieren significativamente ( $p \leq 0.05$ ).

En peso/conversión, al igual que con el parámetro conversión, las aves que consumieron las dietas con chía expeller presentaron estadísticamente ( $p \leq 0.05$ ) peor desempeño en todas las edades respecto de los demás tratamientos (Tabla 27 y Figura 32). Mientras que los tratamientos con chía molida y chía extrusada no difirieron del tratamiento control.

Figura 32: Peso/Conversión (% respecto del control)



#### 4.2.5 Faena

En la Tabla 28 se muestran los resultados de faena obtenidos.

Tabla 28: Datos de Faena

Tratamiento	Peso Vivo g	Carcasa		Pechuga		Grasa Abdominal	
		Peso g	Rend. <sup>1</sup> %	Peso g	Rend. <sup>2</sup> %	Peso g	Rend. <sup>2</sup> %
1.- Maíz – Soja	3990 a	3213 a	80,50	1062 a	33,05	72,3	2,26
2.- Chía Molida	3998 a	3174 a	79,35	1056 a	33,27	74,7	2,35
3.- Chía Extrusada	4145 a	3260 a	78,64	1115 a	34,15	76,7	2,38
4.- Chía Expeller	3583 b	2773 b	77,37	937 b	33,91	64,7	2,30
<b>CV (%)</b>	7,74	8,57	2,56	8,86	4,51	41,76	42,16

<sup>1</sup> Rendimiento como porcentaje del peso vivo; <sup>2</sup> Rendimiento como porcentaje del peso de carcasa. Medias en una misma columna con distinta letra difieren significativamente ( $p \leq 0.05$ ).

Pese a que las aves del tratamiento con chía expeller presentaron un peso similar a los 49 días (Tabla 25), cuando se pesaron las aves que fueron seleccionadas al azar para ser

faenadas, estas resultaron ser significativamente más livianas que las aves de los tratamientos restantes ( $p \leq 0.05$ ). (Tabla 28)

Al faenarse aves más livianas en el tratamiento con chíá expeller sus carcasas pesaron significativamente menos ( $p \leq 0.05$ ). Por otro lado, su rendimiento como porcentaje del peso vivo, también se vio disminuido, pero sin llegar a ser estadísticamente diferente ( $p > 0,05$ ). (Tabla 28)

El peso de pechuga de la misma fue estadísticamente menor ( $p \leq 0,05$ ) en aquellas aves que consumieron la dieta con chíá expeller respecto del resto de los tratamientos considerados en la presente prueba, no obstante el rendimiento como porcentaje de la carcasa no se vio afectado.

El contenido de grasa abdominal no presentó diferencias significativas en peso absoluto ni como porcentaje de la carcasa.

### **4.3 Parámetros de Laboratorio**

#### **4.3.1 Porcentaje de ácidos grasos**

En la Tabla 29 se puede observar el contenido de grasa intramuscular, colesterol y porcentaje de ácidos grasos agrupados por el número de instauraciones.

**Tabla 29:** Contenido de grasa intramuscular, colesterol y porcentaje de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados en carne de pollo

	GI %	Colest mg%	AGS	AGMI % EM	AGPI
<b>Pechuga</b>					
1.- Maíz – Soja	1,35	54,93	32,77	25,46	37,63
2.- Chía Molida	1,32	52,63	29,31	24,73	41,04
3.- Chía Extrusada	1,60	54,63	27,64	25,26	43,71
4.- Chía Expeller	1,29	52,81	30,08	23,15	42,12
<b>Pata-Muslo</b>					
1.- Maíz – Soja	3,28	59,19	28,42	30,69	38,76
2.- Chía Molida	3,66	50,09	25,13	28,36	43,70
3.- Chía Extrusada	3,85	60,13	23,08	28,04	47,08
4.- Chía Expeller	3,83	58,69	24,58	26,62	46,70
<b>Corte</b>					
<b>Pechuga</b>	1,39 b	53,75	29,95 a	24,65 b	41,13 b
<b>Pata-Muslo</b>	3,65 a	57,02	25,30 b	28,43 a	44,06 a
<b>Tratamientos</b>					
<b>1.- Maíz – Soja</b>	2,31	57,06	30,59 a	28,07 a	38,20 c
<b>2.- Chía Molida</b>	2,49	51,36	27,22 b	26,55 b	42,37 b
<b>3.- Chía Extrusada</b>	2,73	57,38	25,36 c	26,65 b	45,40 a
<b>4.- Chía Expeller</b>	2,56	55,75	27,33 b	24,88 c	44,41 a
<b>Interacción</b>					
<b>Corte*Tratamiento</b>	NS	NS	NS	NS	NS
<b>Contrastes</b>					
<b>Mz-Sj vs. Chía</b>	NS	NS	Sig	Sig	Sig
<b>CV %</b>	28,6	13,3	6,9	7,9	4,1

GI: Grasa Intramuscular; Colest: Colesterol; AGS: Ácidos Grasos Saturados; AGMI: Ácidos Grasos Monoinsaturados; AGPI: Ácidos Grasos Poliinsaturados; % EM: Porcentaje sobre ésteres metílicos, Sig: Significativo, NS: No Significativo.

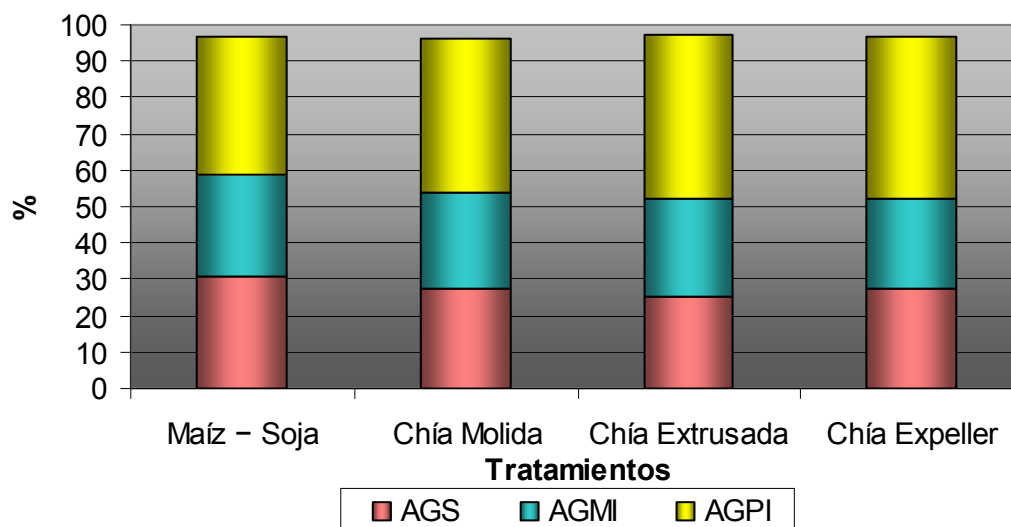
Medias con letras diferentes en una misma columna y grupo de datos difieren significativamente ( $p \leq 0,05$ ).

No hubo interacción significativa entre corte y tratamiento por lo que los datos se agruparon por los efectos mayores. (Tabla 29)

El contenido de grasa intramuscular difirió entre pata-muslo y pechuga, siendo la primera la que tuvo mayor cantidad (3,65 y 1,39% respectivamente). No se observaron diferencias ( $p > 0,05$ ) entre tratamientos en cuanto a grasa intramuscular se refiere.

El colesterol presentó la misma tendencia descripta para grasa intramuscular.

En la Figura 33 se muestran los ácidos grasos saturados, mono y poliinsaturados.

**Figura 33:** Porcentaje de ácidos grasos saturados, mono y poliinsaturados

La sumatoria de AGS que incluyó el 14:0, 16:0 y 18:0, fue significativamente mayor en pechuga que en pata-muslo (29,95 vs. 25,30% respectivamente).

Todos los tratamientos con chía presentaron un menor porcentaje de AGS respecto del control maíz - soja. A su vez, la chía extrusada presentó un menor porcentaje de AGS respecto de los otros procesos (30,59; 27,33; 27,22 y 25,36% para control maíz - soja, chía expeller, molida y extrusada respectivamente).

Con los AGMI, producto de la sumatoria del 16:1 y 18:1, ocurrió que las pechugas presentaron un valor significativamente menor que las pata-muslo (24,65% vs. 28,43%).

Todos los tratamientos con chía presentaron un menor porcentaje de AGMI respecto del control maíz - soja. A su vez, la chía expeller presentó un menor porcentaje de AGMI respecto de los otros procesos.

Los AGPI, que surgieron de la suma de todos aquellos ácidos grasos con 2 o más insaturaciones, fueron mayores estadísticamente en pata-muslo en contraposición a la pechuga (44,06 vs. 41,13%). Todos los tratamientos con chía presentaron un mayor porcentaje de AGPI respecto del control maíz - soja. A su vez, las chía extrusada y expeller

presentaron un mayor porcentaje de AGPI respecto de la chía molida (38,20, 45,40; 44,41; y 42,37% para control maíz – soja, chía extrusada, expeller y molida respectivamente).

Al analizar el contraste para ver el efecto de la chía propiamente dicho (independientemente del procesamiento aplicado a la semilla) se pudo observar que los tratamientos con chía permitieron reducir el porcentaje de AGS y AGMI y aumentar el de AGPI.

La Tabla 30 hace referencia al porcentaje de los diferentes AGS y AGMI presentes en las muestras de carne de pollo.

**Tabla 30:** Porcentaje de ácidos grasos saturados y monoinsaturados en carne de pollo

	14:0	16:0	18:0	16:1	18:1
	% EM				
<b>Pechuga</b>					
1.- Maíz – Soja	0,79 a	23,36	8,62	1,83	23,63
2.- Chía Molida	0,47 bc	20,63	8,21	1,62	23,11
3.- Chía Extrusada	0,61 b	19,32	7,71	1,68	23,58
4.- Chía Expeller	0,39 c	21,60	8,09	1,36	21,78
<b>Pata-Muslo</b>					
1.- Maíz – Soja	0,61	19,97	7,84	2,67	28,02
2.- Chía Molida	0,47	17,43	7,23	2,71	25,65
3.- Chía Extrusada	0,51	16,05	6,53	2,62	25,42
4.- Chía Expeller	0,54	16,86	7,18	2,37	24,25
<b>Corte</b>					
<b>Pechuga</b>	0,57	21,23 a	8,16 a	1,62 b	23,03 b
<b>Pata-Muslo</b>	0,53	17,57 b	7,20 b	2,60 a	25,83 a
<b>Tratamientos</b>					
<b>1.- Maíz – Soja</b>	0,70	21,66 a	8,23 a	2,25	25,82 a
<b>2.- Chía Molida</b>	0,47	19,03 b	7,72 ab	2,17	24,38 b
<b>3.- Chía Extrusada</b>	0,56	17,68 b	7,12 c	2,15	24,50 b
<b>4.- Chía Expeller</b>	0,47	19,23 b	7,63 bc	1,87	23,02 c
<b>Interacción</b>					
<b>Corte*Tratamiento</b>	Sig	NS	NS	NS	NS
<b>Contrastes</b>					
<b>Mz-Sj vs. Chía</b>	Pech.	Sig	Sig	NS	Sig
<b>CV %</b>	23,8	7,9	12,0	16,3	7,6

% EM: Porcentaje sobre ésteres metílicos; Sig: Significativo; NS: No Significativo. Pech: Significativo en pechuga. Medias con letras diferentes en una misma columna y grupo de datos difieren significativamente ( $p \leq 0,05$ ).

Sólo en el caso del ácido mirístico (14:0) se observó interacción significativa por lo que se analizó el comportamiento de los tratamientos dentro de cada corte en particular. A los restantes ácidos grasos se los analizó considerando los efectos mayores.

Para todos los AGS la pata-muslo presentó menores valores en comparación con las pechugas. En cuanto al efecto de tratamientos no se vio el mismo comportamiento en todos los ácidos grasos.

El ácido mirístico (14:0) no presentó diferencias dentro del grupo de las pata-muslo, pero en pechuga todos los tratamientos difirieron del control, e incluso el tratamiento de chía expeller, con el menor valor difirió del de chía extrusada.

En el caso del ácido palmítico (16:0), siendo el mayor exponente de los AGS, la pechuga mostró mayor porcentaje (21,23 vs. 17,57%). Por otra parte la utilización de chía en cualquiera de sus presentaciones hizo que la deposición de este ácido graso en carne disminuyera respecto del control maíz – soja.

El ácido esteárico (18:0) fue menor en pata-muslo. Al analizar los tratamientos, aquellos con chía extrusada o chía expeller presentaron valores menores al control maíz – soja. A su vez, las aves que consumieron chía extrusada se diferenciaron del tratamiento con chía molida.

Además, en el caso de estos dos últimos ácidos grasos hubo un efecto chía bien marcado, bajando el porcentaje de saturados al disminuir el palmítico de 21,66% en el control a 18,65% como promedio de los tratamientos con chía y el esteárico de 8,23 a 7,49%.

El ácido palmitoleico (16:1n-7) fue mayor en el corte pata-muslo al compararlo con la pechuga (2,60 vs. 1,62%) y no se observaron efectos de tratamiento.

El porcentaje de ácido oleico (18:1n-9) en pata-muslo fue mayor que en pechuga (25,83 vs. 23,03%). Al considerar el efecto de tratamientos, el control fue el de mayor porcentaje, seguido de la chía extrusada y molida, resultando el tratamiento con chía expeller el de menor porcentaje, (25,82; 25,50; 24,38 y 23,02% respectivamente). Al efectuar el contraste de los tratamientos con chía vs. el control maíz – soja se pudo observar un efecto chía consistente con una disminución en la concentración de este ácido graso siendo 23,97% la

concentración promedio de los tratamientos con chía y 25,82% la del control a base de maíz – soja.

En la Tabla 31 se muestran los porcentajes de ácidos grasos de la serie n-6.

**Tabla 31:** Porcentaje de ácidos grasos n-6 en carne de pollo

	18:2	18:3	20:2	20:3	20:4	22:4	n-6
	% EM						
<b>Pechuga</b>							
1.- Maíz – Soja	23,51	0,19	0,59	0,73	5,94 a	1,48 a	32,44
2.- Chía Molida	24,77	0,16	0,45	0,56	4,54 b	1,02 b	31,50
3.- Chía Extrusada	26,27	0,17	0,46	0,48	2,82 c	0,48 c	30,67
4.- Chía Expeller	25,78	0,14	0,46	0,58	3,50 c	0,52 c	30,97
<b>Pata-Muslo</b>							
1.- Maíz – Soja	28,95	0,24	0,42	0,51	3,46 a	0,83 a	34,41
2.- Chía Molida	29,20	0,21	0,34	0,43	2,76 ab	0,43 b	33,37
3.- Chía Extrusada	29,76	0,20	0,31	0,38	2,32 b	0,32 b	33,30
4.- Chía Expeller	30,63	0,20	0,36	0,40	2,66 ab	0,40 b	34,64
<b>Corte</b>							
<b>Pechuga</b>	25,08 b	0,17 b	0,49 a	0,59 a	4,20	0,87	31,40 b
<b>Pata-Muslo</b>	29,63 a	0,21 a	0,36 b	0,43 b	2,80	0,50	33,93 a
<b>Tratamientos</b>							
<b>1.- Maíz – Soja</b>	26,23	0,22	0,51 a	0,62 a	4,70	1,16	33,43
<b>2.- Chía Molida</b>	26,99	0,18	0,40 b	0,50 b	3,65	0,72	32,44
<b>3.- Chía Extrusada</b>	28,02	0,19	0,38 b	0,43 b	2,57	0,40	31,98
<b>4.- Chía Expeller</b>	28,20	0,17	0,41 b	0,49 b	3,08	0,46	32,81
<b>Interacción</b>							
<b>Corte*Tratamiento</b>	NS	NS	NS	NS	Sig	Sig	NS
<b>Contrastes</b>							
<b>Mz-Sj vs. Chía</b>	NS	0,06	Sig	Sig	Sig	Sig	NS
<b>CV %</b>	5,8	19,4	20,7	27,1	21,5	39,1	3,4

% EM: Porcentaje sobre ésteres metílicos; Sig: Significativo; NS: No Significativo.

Medias con letras diferentes en una misma columna y grupo de datos difieren significativamente ( $p \leq 0,05$ ).

El ácido linoleico (18:2n-6, LA) fue el ácido graso mayoritario en el perfil lipídico de estas aves y su porcentaje fue mayor en pata-muslo comparado con el de la pechuga (29,63 y 25,08% respectivamente). No se observaron diferencias entre tratamientos.

El ácido gamma-linolénico (18:3n-6) presentó diferencias entre cortes, pero no así entre tratamientos.



El ácido eicosadienoico (20:2n-6), al igual que el dihomo-gamma-linolénico (20:3n-6), ambos intermediarios en la formación del ácido araquidónico (20:4n-6), tuvieron mayor presencia en la pechuga y en el tratamiento control a base de maíz – soja.

El ácido araquidónico (20:4n-6) presentó interacción corte por tratamiento por lo que se analizó tomando los cortes por separado. En pechuga el control fue el de mayor concentración, seguido por la chía molida y por último las chías expeller y extrusada, cuyos valores fueron 5,94; 4,54; 3,50 y 2,82% en ese orden, mientras que en pata-muslo, las tendencias fueron las mismas, pero las diferencias no fueron tan evidentes, dado que sólo la chía extrusada se diferenció del control.

El ácido adrénico (22:4n-6), al igual que el araquidónico, presentó interacción. A pesar de esto el tratamiento control maíz – soja fue el que mostró mayor cantidad de este ácido graso en ambos cortes, pero con mayor magnitud en la pechuga.

En los últimos cuatro ácidos grasos, a saber, 20:2, 20:3, 20:4 y 22:4, se observó un efecto chía al contrastar el promedio de los tratamientos con chía vs. el control maíz – soja. Siendo en todos estos casos más baja su concentración para los tratamientos con chía.

Como resumen de la Tabla 31 se encuentra la columna que suma todos los ácidos grasos de la serie n-6, donde sólo se observaron diferencias entre cortes, siendo la pata-muslo la que presentó mayor porcentaje comparado con la pechuga (33,93 vs. 31,40% respectivamente), dado principalmente por la mayor presencia de ácido linoleico. Además se observó una tendencia a disminuir esta serie de ácidos grasos por el uso de chía.

En la Tabla 32 se puede observar la relación existente entre los diferentes ácidos grasos de la serie n-6 y su precursor, el LA.

**Tabla 32:** Relaciones entre ácidos grasos de la serie n-6

	Relación	
	20:4/18:2	22:4/18:2
<b>Pechuga</b>		
1.- Maíz – Soja	0,0318	0,0638 a
2.- Chía Molida	0,0230	0,0417 b
3.- Chía Extrusada	0,0184	0,0185 c
4.- Chía Expeller	0,0229	0,0205 c
<b>Pata-Muslo</b>		
1.- Maíz – Soja	0,0177	0,0290 a
2.- Chía Molida	0,0148	0,0149 b
3.- Chía Extrusada	0,0128	0,0110 b
4.- Chía Expeller	0,0129	0,0129 b
<b>Corte</b>		
<b>Pechuga</b>	0,0240 a	0,0361
<b>Pata-Muslo</b>	0,0145 b	0,0170
<b>Tratamientos</b>		
<b>1.- Maíz – Soja</b>	0,0248 a	0,0464
<b>2.- Chía Molida</b>	0,0189 b	0,0283
<b>3.- Chía Extrusada</b>	0,0156 b	0,0147
<b>4.- Chía Expeller</b>	0,0179 b	0,0167
<b>Interacción</b>		
<b>Corte*Tratamiento</b>	NS	Sig
<b>Contrastes</b>		
<b>Mz-Sj vs. Chía</b>	Sig	Sig
<b>CV %</b>	31,3	43,8

Sig: Significativo; NS: No Significativo.

Medias con letras diferentes en una misma columna y grupo de datos difieren significativamente ( $p \leq 0,05$ ).

En la relación 20:4/18:2 se observó una diferencia entre cortes siendo mayor en pechuga respecto de pata-muslo. En cuanto al efecto de tratamientos en todos los casos en que se utilizó chía dicha relación fue menor que en el control maíz – soja.

Al hacer referencia a la relación 22:4/18:2 hubo una interacción significativa corte por tratamiento por lo que los datos se analizaron dentro de cada corte. En pata-muslo todos los tratamientos con chía arrojaron valores menores que el control, y en pechuga ocurrió algo similar, salvo que los tratamientos con chía extrusada y chía expeller fueron menores incluso que la chía molida.

En la Tabla 33 se muestran los porcentajes de ácidos grasos de la serie n-3 y la relación n-6/n-3.

**Tabla 33:** Porcentaje de ácidos grasos n-3, n-3 de cadena larga y relación n-6/n-3 en carne de pollo

	18:3	20:5	22:5	22:6	n-3	n-3 CL	n-6/n-3
	% EM						
<b>Pechuga</b>							
1.- Maíz – Soja	1,89	0,23	1,55	1,52	5,19	3,30	6,32 a
2.- Chía Molida	5,61	0,47	1,97	1,48	9,54	3,93	3,32 b
3.- Chía Extrusada	8,85	0,46	2,04	1,69	13,04	4,19	2,37 d
4.- Chía Expeller	7,07	0,46	1,91	1,71	11,15	4,08	2,83 c
<b>Pata-Muslo</b>							
1.- Maíz – Soja	2,83	0,13	0,75	0,64	4,35	1,51	8,00 a
2.- Chía Molida	7,95	0,30	1,23	0,85	10,33	2,38	3,25 b
3.- Chía Extrusada	11,27	0,37	1,30	0,85	13,79	2,52	2,42 c
4.- Chía Expeller	9,75	0,32	1,14	0,84	12,05	2,30	2,89 b
<b>Corte</b>							
<b>Pechuga</b>	5,86 b	0,40 a	1,87 a	1,60 a	9,73	3,87 a	3,71
<b>Pata-Muslo</b>	7,95 a	0,28 b	1,10 b	0,79 b	10,13	2,18 b	4,14
<b>Tratamientos</b>							
<b>1.- Maíz – Soja</b>	2,36 d	0,18 b	1,15 b	1,08	4,77 d	2,41 b	7,16
<b>2.- Chía Molida</b>	6,78 c	0,39 a	1,60 a	1,16	9,93 c	3,15 a	3,28
<b>3.- Chía Extrusada</b>	10,06 a	0,41 a	1,67 a	1,27	13,41 a	3,35 a	2,40
<b>4.- Chía Expeller</b>	8,41 b	0,39 a	1,53 a	1,28	11,60 b	3,19 a	2,86
<b>Interacción</b>							
<b>Corte*Tratamiento</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	Sig
<b>Contrastes</b>							
<b>Mz-Sj vs. Chía</b>	Sig	Sig	Sig	NS	Sig	Sig	Sig
<b>CV %</b>	13,0	29,1	33,3	32,6	11,3	31,0	8,0

n-3 CL: Ácidos grasos n-3 de cadena larga; % EM: Porcentaje sobre ésteres metílicos; Sig: Significativo; NS: No Significativo.

Medias con letras diferentes en una misma columna y grupo de datos difieren significativamente ( $p \leq 0,05$ ).

El ácido  $\alpha$ -linolénico (18:3n-3, ALA) presentó diferencias entre cortes, teniendo el mayor porcentaje en la pata-muslo respecto del de la pechuga (7,95 vs. 5,86% respectivamente). En cuanto al efecto de tratamientos la chía extrusada fue la que presentó mayor cantidad (10,06%), seguida de la chía expeller (8,41%), luego la chía molida (6,78%) y por último el control maíz – soja (2,36%).

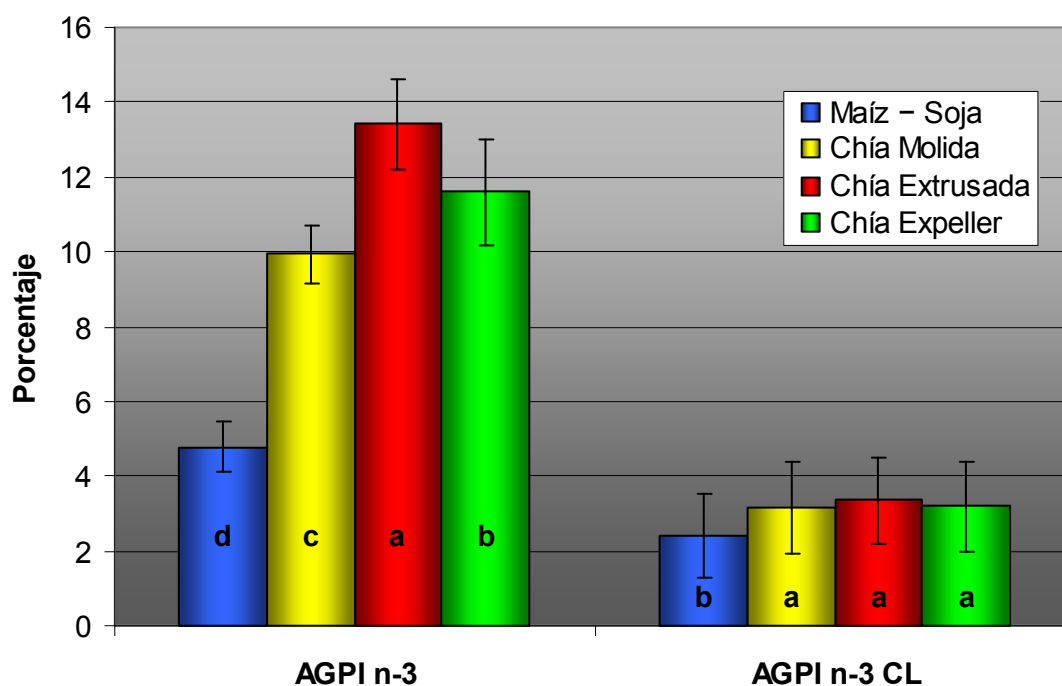
Los ácidos eicosapentaenoico (20:5n-3, EPA) y docosapentaenoico (22:5n-3, DPA) mostraron diferencias entre cortes, siendo la pechuga la que presentó mayor porcentaje con 0,40 y 1,87% respectivamente, mientras que las pata-muslo presentaron valores de 0,28 y 1,10%. En lo que respecta a tratamientos, la chía, independientemente del procesamiento al cual fue sometida, presentó mayores valores de estos ácidos grasos respecto del control (0,40 y 1,60% como promedios de los tratamientos con chía vs. 0,18 y 1,15% del tratamiento control para el EPA y el DPA respectivamente).

El ácido docosahexaenoico (22:6n-3, DHA) mostró diferencias significativas entre cortes (1,60% en pechuga y 0,79% en pata-muslo), pero no así entre tratamientos, no obstante la tendencia fue a ser mayor en los tratamientos con chía.

Salvo el DHA, los demás ácidos grasos presentaron un efecto chía significativo cuando se contrastó con el control maíz – soja.

En la Figura 34 se pueden encontrar los porcentajes de ácidos grasos poliinsaturados n-3 (AGPI n-3) y n-3 de cadena larga (AGPI n-3 CL) en los diferentes tratamientos.

**Figura 34:** Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados n-3 y n-3 de cadena larga en carne de ave



Al analizar la sumatoria de ácidos grasos de la serie n-3 (Tabla 33 y Figura 34) no se observó diferencias entre cortes, pero sí entre tratamientos, mostrando el mismo comportamiento que el ALA, su mayor representante cuando se habla de fuentes de origen vegetal, siendo el tratamiento con chía extrusada (13,41%) el de mayor concentración, seguido del de chía expeller (11,60%), chía molida (9,93%) y por último el control maíz – soja (4,77%).

En tanto que con los AGPI n-3 CL, producto de la suma de 20:5n-3, 22:5n-3 y 22:6n-3 (EPA+DPA+DHA), se evidenciaron diferencias significativas entre cortes, apareciendo la pechuga con mayor porcentaje, y entre tratamientos, todos aquellos en los que se utilizó chía, independientemente de proceso aplicado, presentaron valores estadísticamente más elevados comparados con el control (2,41% para el control vs. 3,23% como promedio de los tratamientos con chía).

En la Tabla 34 se pueden observar las relaciones existentes entre cada AGPI n-3 CL y el precursor de todos ellos, el ALA.

**Tabla 34:** Relaciones entre ácidos grasos de la serie n-3

	Relación		
	20:5/18:3	22:5/18:3	22:6/18:3
<b>Pechuga</b>			
1.- Maíz – Soja	0,1288	0,8600 a	0,8502 a
2.- Chía Molida	0,0886	0,3750 b	0,2815 b
3.- Chía Extrusada	0,0530	0,2345 b	0,1954 b
4.- Chía Expeller	0,0682	0,2723 b	0,2479 b
<b>Pata-Muslo</b>			
1.- Maíz – Soja	0,0454	0,2639	0,2246
2.- Chía Molida	0,0386	0,1576	0,1084
3.- Chía Extrusada	0,0328	0,1168	0,0757
4.- Chía Expeller	0,0328	0,1170	0,0867
<b>Corte</b>			
<b>Pechuga</b>	0,0846 a	0,4355	0,3938
<b>Pata-Muslo</b>	0,0374 b	0,1638	0,1238
<b>Tratamientos</b>			
<b>1.- Maíz – Soja</b>	0,0871 a	0,5620	0,5374
<b>2.- Chía Molida</b>	0,0636 b	0,2663	0,1950
<b>3.- Chía Extrusada</b>	0,0429 b	0,1756	0,1355
<b>4.- Chía Expeller</b>	0,0505 b	0,1946	0,1673
<b>Interacción</b>			
<b>Corte*Tratamiento</b>	NS	Sig	Sig
<b>Contrastes</b>			
<b>Mz-Sj vs. Chía</b>	Sig	Sig	Sig
<b>CV %</b>	47,0	45,2	51,0

Sig: Significativo; NS: No Significativo.

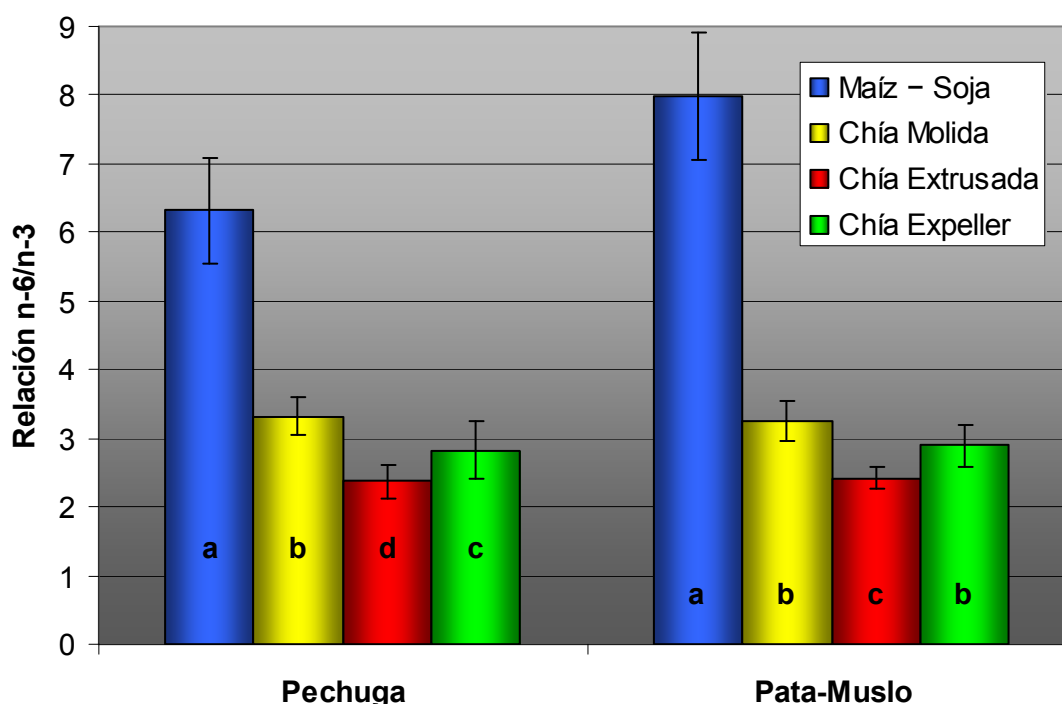
Medias con letras diferentes en una misma columna y grupo de datos difieren significativamente ( $p \leq 0,05$ ).

Al relacionar cada uno de los AGPI n-3 CL con el ALA encontramos que la relación 20:5/18:3 presentó diferencias entre cortes, siendo más eficiente en la conversión del ALA, la pechuga en comparación con pata-muslo. Entre tratamientos, al igual que lo ocurrido en la serie n-6, todos los tratamientos con chía fueron menos eficientes que el control en convertir el ALA en EPA. En el caso de las relaciones 22:5/18:3 y 22:6/18:3 se encontró una interacción significativa corte por tratamiento, motivo que llevó a analizar los cortes por separado; en este caso solo en pechuga se encontró que ambas relaciones presentaron

diferencias entre tratamientos, siendo el control el más eficiente en la conversión respecto de los tratamientos con chía, independientemente del proceso aplicado.

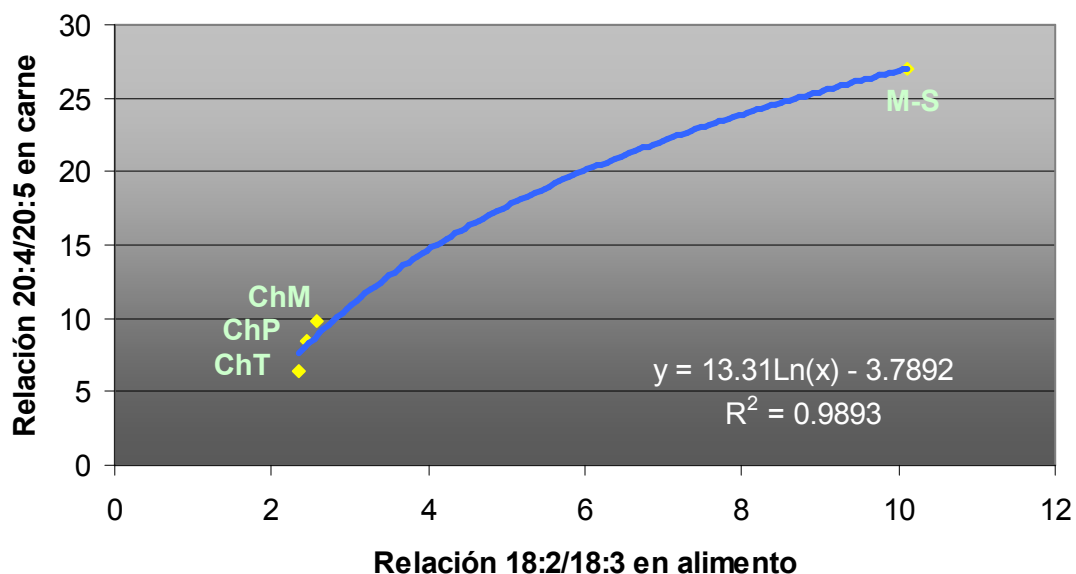
En la Figura 35 se muestra la relación n-6/n-3 encontrados en pechuga y pata-muslo.

**Figura 35:** Relación n-6/n-3 en pechuga y pata-muslo



La relación n-6/n-3 presentó interacción corte por tratamiento, no obstante, el comportamiento de los tratamientos en los dos cortes fue similar. El control maíz – soja presentó la mayor relación n-6/n-3 (8,00 en pata-muslo y 6,32 en pechuga), seguida por la chía molida, la chía expeller y por último con la relación más baja se presentó la chía extrusada (2,42 y 2,47 en pata-muslo y pechuga respectivamente); aunque en pata-muslo no se observaron diferencias estadísticas entre chía molida y chía expeller.

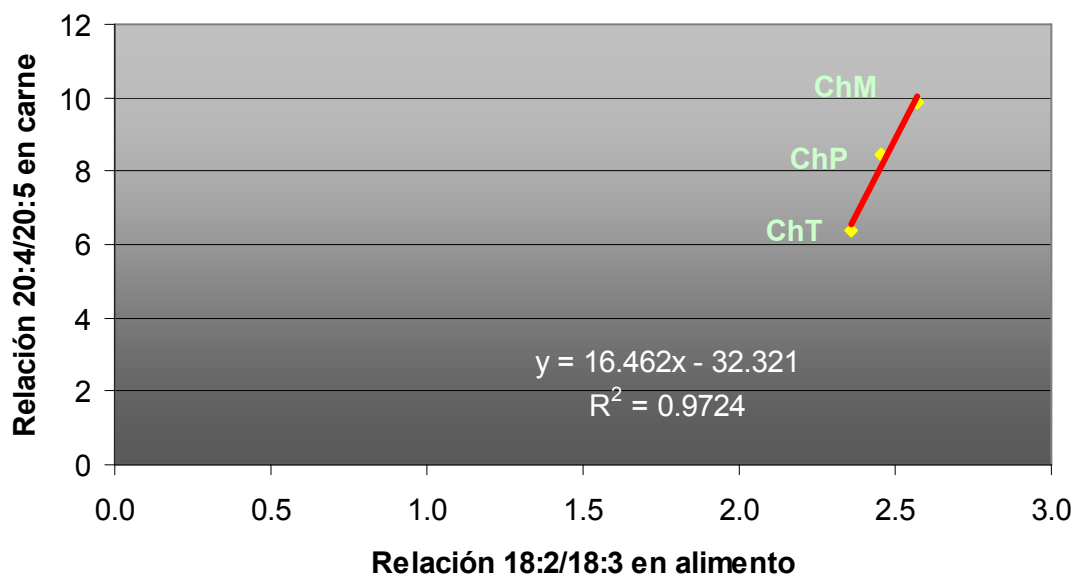
En la Figura 36 se analiza la correlación entre las relaciones 18:2/18:3 en el alimento y 20:4/20:5 en carne de pollo y en la Figura 37 se pone énfasis en los tratamientos con chía.

**Figura 36:** Efecto de la relación 18:2/18:3 de la dieta sobre la relación 20:4/20:5 de la carne

Si partimos de la relación n-6/n-3 de la dieta, en la Figura 36 podemos observar que el comportamiento de la relación  $(20:4 \text{ n-6}/20:5 \text{ n-3})/(18:2 \text{ n-6}/18:3 \text{ n-3})$  es logarítmica ( $R^2:0,99$ ), pero para confirmar esta observación habría que incluir más puntos intermedios. Si nos posicionamos en las 3 relaciones bajas (provenientes de las dietas con chía), podemos ver que la relación es prácticamente lineal entre ambos cocientes. (Figura 37)



**Figura 37:** Efecto de la relación 18:2/18:3 de la dieta sobre la relación 20:4/20:5 de la carne (dietas con chía)



Al poner énfasis solo en los tratamientos con chía observamos que la respuesta pasó a ser lineal ( $R^2:0,97$ ).

#### 4.3.2 Estabilidad oxidativa

En la Tabla 35 se pueden observar diferentes indicadores para establecer el riesgo de oxidación. Estos fueron el índice de instauración (UI), el malondialdehído (MDA) determinado mediante la prueba de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), la respuesta ante el desafío con ter-butyl hidroperóxido, un potente prooxidante, cuantificada mediante quimioluminiscencia, en donde se muestra el delta (diferencia entre las muestras con prooxidante y las mismas sin prooxidante) del valor máximo alcanzado y la sumatoria de la emisión lumínica detectada por transcurso de 94 minutos y por último se midió la concentración de tocoferoles ( $\alpha$ - y  $\gamma$ -tocoferol).

Tabla 35: Parámetros indicadores de estabilidad oxidativa

	UI	MDA ppm	QLC Max Δcpm	QLC Sum	α-Tocof. ppm	γ-Tocof. ppm
<b>Pechuga</b>						
1.- Maíz – Soja	130,40	0,052	36,67	260,35	9,835	8,604
2.- Chía Molida	138,44	0,046	42,35	193,29	8,284	5,827
3.- Chía Extrusada	143,57	0,060	36,11	161,67	8,972	7,086
4.- Chía Expeller	137,89	0,049	30,08	156,62	11,245	7,821
<b>Pata-Muslo</b>						
1.- Maíz – Soja	125,91	0,053 b	60,49	499,54 b	12,495	10,766
2.- Chía Molida	139,00	0,076 b	66,13	536,79 ab	13,328	10,159
3.- Chía Extrusada	147,95	0,134 a	74,45	658,95 a	16,678	8,814
4.- Chía Expeller	144,44	0,056 b	76,65	577,49 ab	13,023	9,453
<b>Corte</b>						
<b>Pechuga</b>	137,57	0,053	36,30 b	192,98	9,584 b	7,335 b
<b>Pata-Muslo</b>	139,33	0,080	69,43 a	568,19	13,881 a	9,798 a
<b>Tratamientos</b>						
<b>1.- Maíz – Soja</b>	128,15 c	0,052	48,58	379,95	11,165	9,685
<b>2.- Chía Molida</b>	138,72 b	0,061	54,24	365,04	10,806	7,993
<b>3.- Chía Extrusada</b>	145,76 a	0,097	55,28	410,31	12,825	7,950
<b>4.- Chía Expeller</b>	141,17 ab	0,052	53,37	367,06	12,134	8,637
<b>Interacción</b>						
<b>Corte*Tratamiento</b>	NS	Sig	NS	Sig	NS	NS
<b>Contrastes</b>						
<b>Mz-Sj vs. Chía</b>	Sig	Pata	NS	Pata	NS	NS
<b>CV %</b>	4,3	23,2	16,0	14,4	21,8	19,2

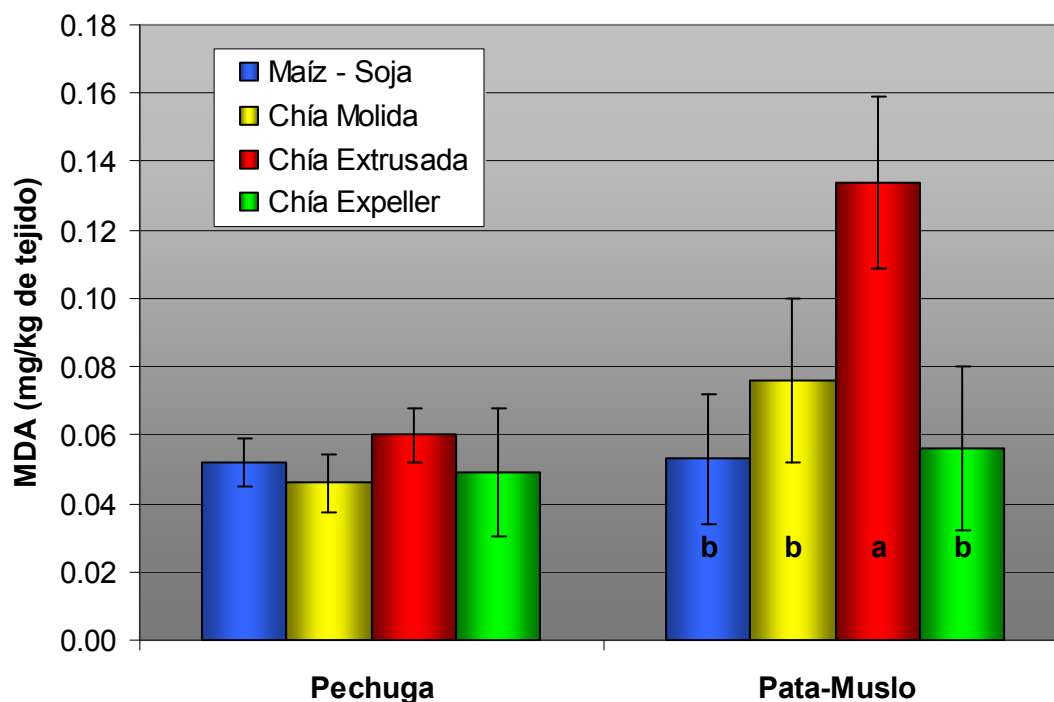
UI: Índice de insaturación; MDA: Malondialdehído; QLC: Quimioluminiscencia; cpm: cuentas por minuto.

Sig: Significativo; NS: No Significativo; Pata: Significativo en pata-muslo.

Medias con letras diferentes en una misma columna y grupo de datos difieren significativamente ( $p \leq 0,05$ ).

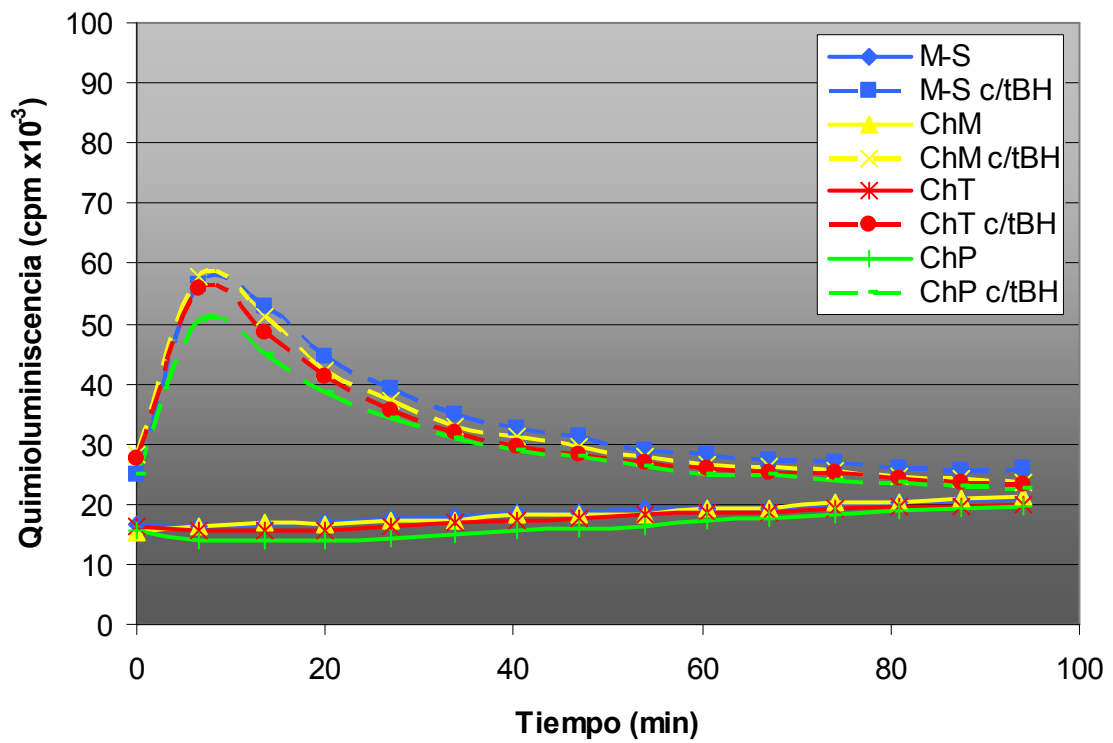
Al analizar el índice de insaturación se observó que no hubo interacción significativa y los pollos del tratamiento con chía extrusada presentaron el mayor valor, seguido de aquellos que consumieron chía expeller, chía molida y por último los que consumieron el control maíz – soja (145,76; 141,17; 138,72 y 128,15 respectivamente).

En la Figura 38 se observa la concentración de MDA en los diferentes cortes y tratamientos determinados por TBARS.

**Figura 38:** TBARS (MDA mg/kg tejido) diferenciados por cortes

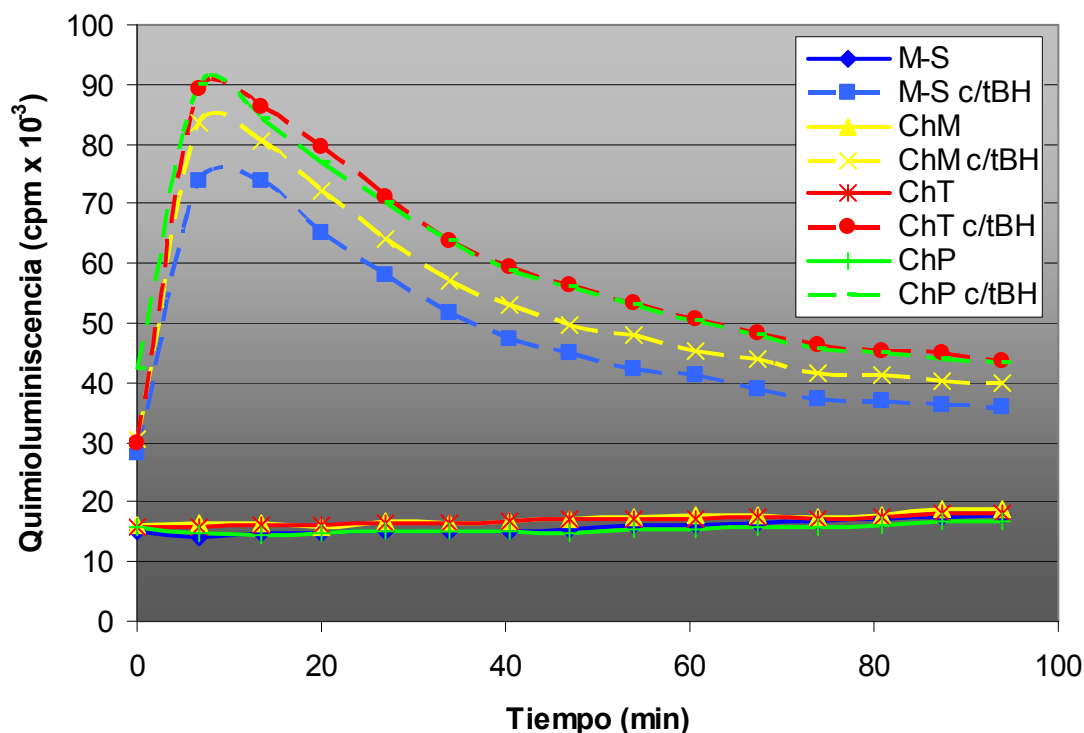
En el caso de los TBARS hubo interacción corte por tratamiento (tal como lo muestra la Tabla 35 y la Figura 38). Dentro del grupo pechuga no se observaron diferencias, mientras que en el corte pata-muslo se pudo ver que la chía extrusada presentó el mayor valor, seguido de la chía molida y por último el control maíz – soja y la chía expeller. En este parámetro al contrastar el control vs. la chía se observó un efecto chía sólo en pata-muslo.

En la Figura 39 se muestra el comportamiento de la quimioluminiscencia emitida por las pechugas de los distintos tratamientos al ser estimulada su oxidación con ter-butil hidroperóxido.

**Figura 39:** Quimioluminiscencia emitida por las pechugas al peroxidarlas con tBH

En la Figura 40 se muestra el comportamiento de la quimioluminiscencia emitida por las pata-muslo de los distintos tratamientos al ser estimulada su oxidación con ter-butil hidroperóxido.

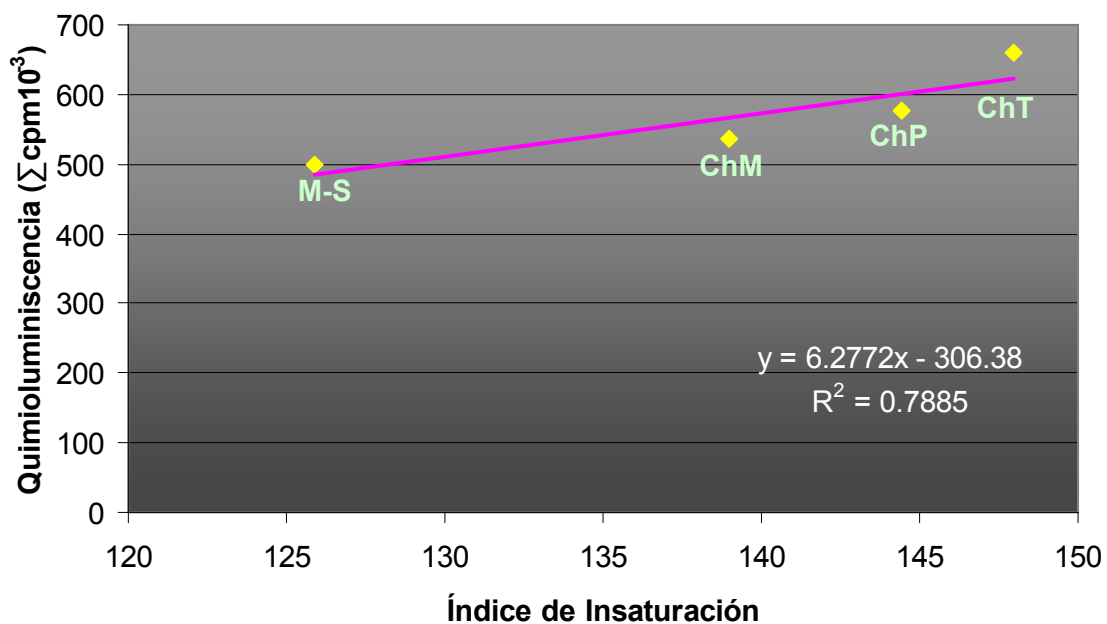
**Figura 40:** Quimioluminiscencia emitida por las pata-muslo al peroxidarlas con tBH



El pico máximo observado durante el desafío se ubicó a los 7 minutos independientemente que se trate de pata-muslo o pechuga (Figura 39 y Figura 40) y presentó diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre cortes, pero no así entre tratamientos (Tabla 35). Esto puede ser explicado por el hecho de que las pata-muslo tenían un mayor contenido de lípidos respecto de las pechugas (3,65 y 1,39% respectivamente).

Ante el desafío con ter-butil hidroperóxido (Tabla 35, Figura 39 y Figura 40) la quimioluminiscencia expresada como sumatoria presentó interacción corte por tratamiento por lo que estos últimos fueron analizados dentro de cada corte. Analizando el corte pata-muslo se observó que el tratamiento con chíá extrusada fue significativamente mayor que el control maíz – soja (659 vs. 500cpm respectivamente).

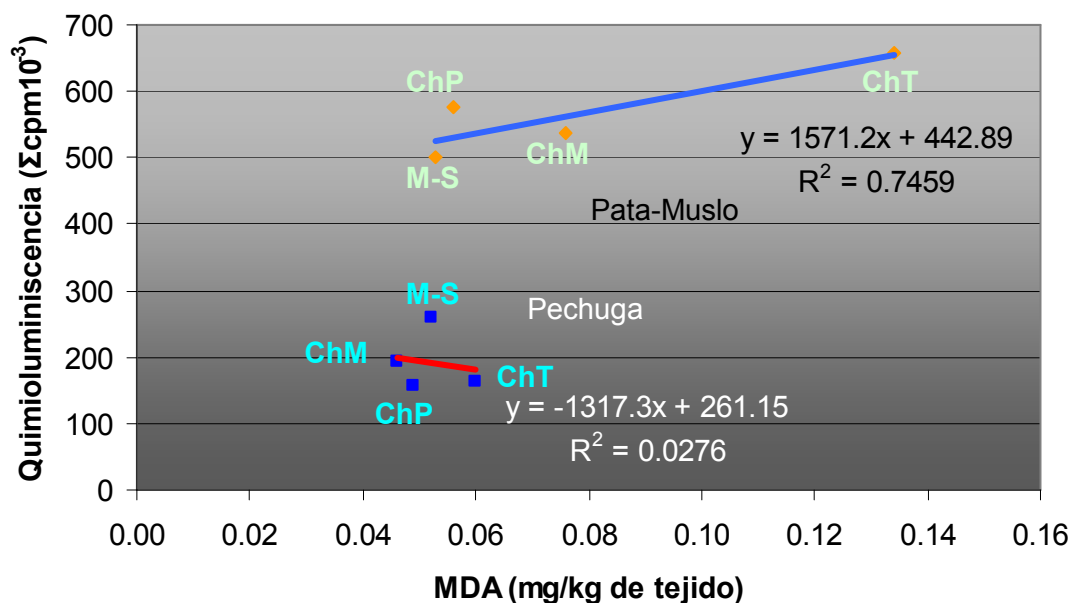
En la Figura 41 se puede observar la correlación existente entre el índice de instauración y la emisión lumínica ocurrida durante el desafío con ter-butil hidroperóxido.

**Figura 41:** Correlación entre quimioluminiscencia e índice de insaturación en pata-muslo

Tal como ilustra la Figura 41, al correlacionar la quimioluminiscencia emitida (determinada como la sumatoria de cpm) y el índice de insaturación se pudo establecer una asociación de 79% entre estos parámetros en el corte pata-muslo.

En la Figura 42 se muestra la relación existente entre las técnicas de TBARS y quimioluminiscencia en ambos cortes de carne de pollo.

**Figura 42:** Relación entre TBARS y quimioluminiscencia en ambos cortes



En el presente trabajo se halló una buena correlación (75%) entre TBARS y la sumatoria de la quimioluminiscencia en pata-muslo, no así en pechuga. (Figura 42)

Los contenidos de  $\alpha$ - y  $\gamma$ -tocoferol (Tabla 35) fueron significativamente ( $p \leq 0,05$ ) diferentes entre cortes con valores de 9,58ppm en pechuga y 13,88ppm en pata-muslo para el  $\alpha$ -tocoferol y 7,33 y 9,80 para el  $\gamma$ -tocoferol. No se hallaron diferencias entre tratamientos.

#### 4.3.3 Evaluación sensorial

En la Tabla 36 se detallan las características sensoriales en estado fresco de pechuga, en la Tabla 37 las de muslo y en la Tabla 38 las de pata.

**Tabla 36:** Efecto de la inclusión de chía en la alimentación de pollos sobre las características organolépticas de pechuga fresca

Parámetro	Tratamientos				Prob.
	M-S	ChM	ChT	ChP	
Color Global	7,46	7,18	6,18	5,40	0,28
Brillo superficial	2,75	2,07	2,61	2,33	0,74
Uniformidad Color	2,60	2,90	2,70	3,23	0,93
Intensidad del Olor	4,91	5,04	4,16	4,54	0,71
Olor Rancio	1,40	1,87	1,53	2,67	0,29
Olor Grasa	1,56	2,20	1,96	2,95	0,34
Olor Aceite	3,06	2,91	2,82	3,80	0,70
Olor Maní	2,51	1,97	2,31	2,30	0,93
Olor Chía	2,26 b	3,34 ab	2,93 ab	5,14 a	0,03
Int. Aroma Pollo	4,51	4,47	4,49	3,78	0,84
Flavor Rancio	1,61	1,72	0,99	1,69	0,66
Fl. hígado, sangre, met.	1,64	2,77	1,76	2,54	0,50
Flavor Grasa	2,21	2,08	2,68	2,88	0,86
Flavor Herbáceo	1,99	3,10	2,00	1,63	0,43
Flavor Chía	2,66 b	3,05 ab	3,16 ab	5,50 a	0,05
Gusto Dulce	1,41	1,65	2,71	2,53	0,37
Amargo	1,73	1,73	2,26	1,94	0,89
Salado	1,57	1,74	2,16	2,61	0,43
Jugosidad Inicial	4,84	4,39	4,85	5,26	0,89
Terneza	7,00	6,83	7,33	7,18	0,95
Fibrosidad	4,25	3,93	3,98	2,45	0,42
Untuosidad	2,59	2,61	2,60	3,78	0,49
Masticabilidad	4,74	4,78	4,26	4,09	0,79
Num. Masticaciones	14,30	14,30	12,90	11,40	0,67
Jugosidad Final	3,46	3,61	4,71	4,89	0,52
Persistencia	3,61	4,11	4,58	4,71	0,79
Retrogusto	3,10 ab	2,30 b	4,89 ab	5,34 a	0,04

Medias en una misma fila con diferente letra difieren estadísticamente ( $p \leq 0,05$ ).



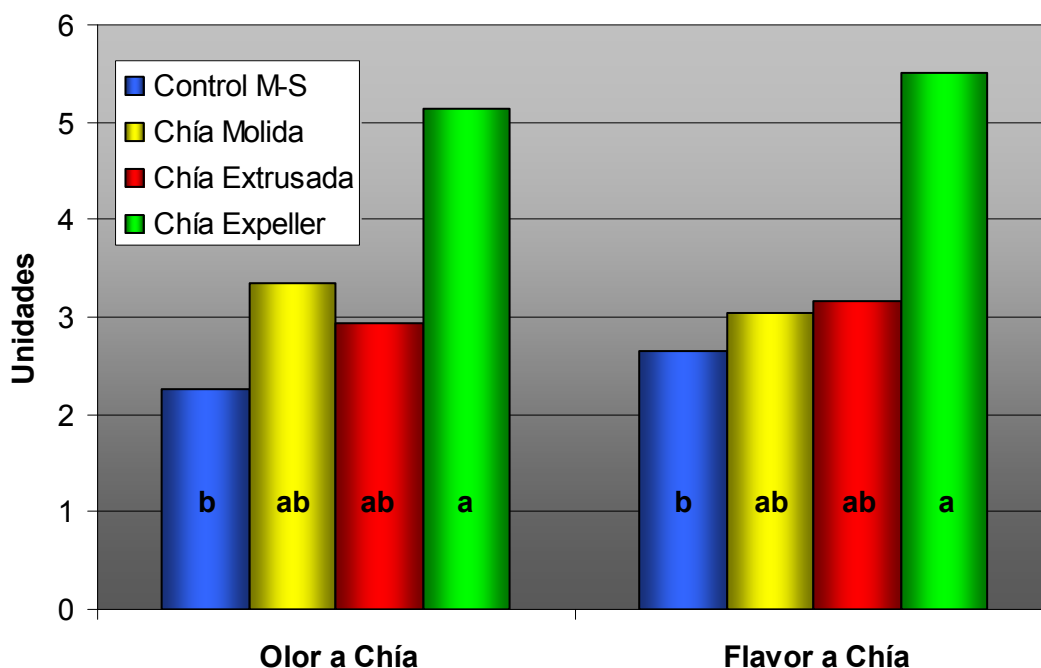
**Tabla 37:** Efecto de la inclusión de chía en la alimentación de pollos sobre las características organolépticas de muslo fresco

Parámetro	Tratamientos				Prob.
	M-S	ChM	ChT	ChP	
Color Global	6,06	7,24	6,91	6,97	0,77
Brillo superficial	5,19	5,26	6,77	6,56	0,55
Uniformidad Color	5,31	5,81	6,03	6,67	0,80
Intensidad del Olor	4,50	3,19	2,83	2,36	0,18
Olor Rancio	1,81	2,31	2,80	2,33	0,84
Olor Grasa	2,69	5,26	4,03	3,21	0,22
Olor Aceite	3,44	5,03	3,99	3,74	0,52
Olor Maní	1,49	2,20	2,29	1,44	0,53
Olor Chía	2,15	3,97	3,26	3,57	0,54
Int. Aroma Pollo	4,50	3,20	3,30	2,30	0,27
Flavor Rancio	1,29	1,60	2,13	1,14	0,57
Fl. hígado, sangre, met.	1,93	3,48	1,81	2,64	0,56
Flavor Grasa	3,56	5,55	4,38	5,11	0,56
Flavor Herbáceo	1,91	2,90	2,66	1,81	0,65
Flavor Chía	2,39	4,27	4,30	3,77	0,49
Gusto Dulce	3,17	3,90	3,53	3,37	0,85
Amargo	1,50	1,77	1,96	1,54	0,95
Salado	1,90	1,87	2,61	1,54	0,66
Jugosidad Inicial	5,21	5,41	6,03	5,60	0,92
Terneza	7,09	6,16	7,58	7,61	0,42
Fibrosidad	4,57	4,51	4,09	4,23	0,97
Untuosidad	3,36	3,50	4,81	4,51	0,43
Masticabilidad	4,72	5,04	4,60	3,97	0,84
Num. Masticaciones	14,30	15,10	13,70	12,10	0,86
Jugosidad Final	5,79	4,48	5,48	4,54	0,60
Persistencia	4,63	5,03	4,97	3,89	0,79
Retrogusto	1,89	2,46	2,66	2,33	0,92

**Tabla 38:** Efecto de la inclusión de chía en la alimentación de pollos sobre las características organolépticas de pata fresca

Parámetro	Tratamientos				Prob.
	M-S	ChM	ChT	ChP	
Color Global	6,00	6,51	5,68	6,05	0,92
Brillo superficial	4,58	4,38	6,98	4,53	0,22
Uniformidad Color	7,03	6,88	6,06	7,10	0,59
Intensidad del Olor	5,03	5,78	3,75	5,98	0,43
Olor Rancio	0,98	1,38	1,00	0,73	0,84
Olor Grasa	1,58	1,43	1,25	1,98	0,59
Olor Aceite	0,60	1,20	1,58	1,66	0,61
Olor Maní	0,63	0,79	1,15	0,50	0,70
Olor Chía	0,98	0,80	1,93	1,53	0,69
Int. Aroma Pollo	4,60	3,25	3,18	4,35	0,75
Flavor Rancio	0,83	3,28	2,78	2,86	0,21
Fl. hígado, sangre, met.	0,98	2,20	2,83	2,80	0,36
Flavor Grasa	4,40	3,08	2,80	2,72	0,64
Flavor Herbáceo	1,20	2,23	2,60	1,43	0,56
Flavor Chía	1,33	2,85	5,18	3,00	0,34
Gusto Dulce	2,56	2,08	2,73	2,83	0,95
Amargo	1,00	3,52	3,28	3,08	0,29
Salado	2,28	2,11	2,58	3,43	0,48
Jugosidad Inicial	5,16	4,50	3,10	5,53	0,49
Terneza	5,50	5,58	5,78	5,03	0,95
Fibrosidad	3,78	3,05	3,88	3,25	0,91
Untuosidad	5,53	5,61	4,95	3,90	0,58
Masticabilidad	4,30	4,28	5,24	3,68	0,72
Num. Masticaciones	13,00	13,00	15,80	11,00	0,71
Jugosidad Final	5,98	4,18	2,40	3,75	0,12
Persistencia	5,13	3,78	5,38	4,33	0,89
Retrogusto	3,78	3,88	4,10	4,08	0,99

En la evaluación sensorial sobre muestras frescas, sólo las pechugas (Tabla 36) del tratamiento con chía expeller presentaron diferencias significativas respecto del control maíz – soja con un marcado olor y flavor a chía (5,1 vs. 2,3 y 5,5 vs. 2,7, respectivamente). (Figura 43)

**Figura 43:** Diferencias entre tratamientos en carne fresca de pechuga

A su vez el tratamiento con chía expeller se diferenció del de chía molida en el parámetro retrogusto (5,3 vs. 2,3) sin ser diferente del control. Sin embargo, ni en muslo (Tabla 37), ni en pata (Tabla 38) se observaron diferencias significativas entre tratamientos en los parámetros sensoriales. La porción pata, de mayor heterogeneidad, presentó menor olor y flavor a chía respecto de la pechuga y el muslo.

Tabla 39: Efecto de la inclusión de chía sobre las características organolépticas de pechuga fresca y conservada por 6 meses

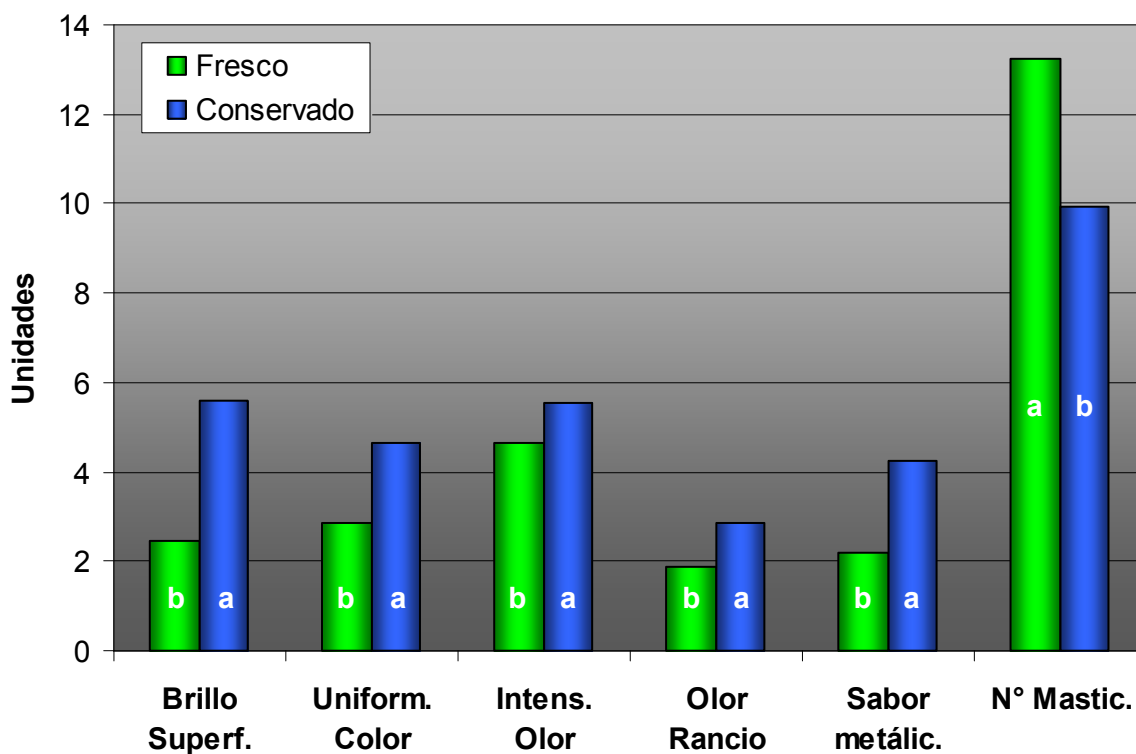
Parámetro	Pechuga Fresca				Pechuga Conservada 6 meses				Fresca vs Conserv			
	M-S	ChM	ChT	ChP	Prob.	M-S	ChM	ChT	ChP	Prob.	Tto	Conserv
Color Global	7,46	7,18	6,18	5,40	0,28	8,38 a	8,02 a	6,68 ab	2,78 b	0,00	0,00	0,88
Brillo superficial	2,75	2,07	2,61	2,33	0,74	5,26	5,00	6,03	6,08	0,70	0,62	0,00
Uniformidad Color	2,60	2,90	2,70	3,23	0,93	4,28	5,28	4,72	4,25	0,79	0,88	0,00
Intensidad del Olor	4,91	5,04	4,16	4,54	0,71	5,62	5,22	4,75	6,63	0,35	0,42	0,05
Olor Rancio	1,40	1,87	1,53	2,67	0,29	2,15	3,18	3,48	2,67	0,72	0,53	0,04
Olor Grasa	1,56	2,20	1,96	2,95	0,34	1,33	3,13	2,89	2,48	0,58	0,29	0,59
Olor Aceite	3,06	2,91	2,82	3,80	0,70	2,33	2,40	3,27	2,45	0,89	0,90	0,33
Olor Maní	2,51	1,97	2,31	2,30	0,93	1,83	1,55	2,53	1,23	0,79	0,80	0,35
Olor Chía	2,26 b	3,34 ab	2,93 ab	5,14 a	0,03	2,17	2,58	4,93	4,73	0,11	0,01	0,73
Int. Aroma Pollo	4,51	4,47	4,49	3,78	0,84	3,78	4,32	3,28	4,48	0,68	0,94	0,50
Flavor Rancio	1,61	1,72	0,99	1,69	0,66	1,57	1,94	2,52	1,32	0,42	0,95	0,36
Fl.hígado, sangre, met.	1,64	2,77	1,76	2,54	0,50	3,67	3,85	5,90	3,50	0,15	0,53	0,00
Flavor Grasa	2,21	2,08	2,68	2,88	0,86	1,97	2,05	2,77	2,17	0,89	0,77	0,67
Flavor Herbáceo	1,99	3,10	2,00	1,63	0,43	1,55	1,75	2,25	2,12	0,92	0,76	0,63
Flavor Chía	2,66 b	3,05 ab	3,16 ab	5,50 a	0,05	1,95	2,83	4,20	3,60	0,14	0,02	0,44
Gusto Dulce	1,41	1,65	2,71	2,53	0,37	3,03	2,52	1,52	2,67	0,23	0,79	0,44
Amargo	1,73	1,73	2,26	1,94	0,89	1,12	1,02	2,42	1,70	0,08	0,27	0,35
Salado	1,57	1,74	2,16	2,61	0,43	1,92	0,82	1,83	1,38	0,30	0,42	0,13
Jugosidad Inicial	4,84	4,39	4,85	5,26	0,89	5,52	5,38	4,37	4,53	0,36	0,91	0,86
Terneza	7,00	6,83	7,33	7,18	0,95	6,78	7,22	6,28	7,03	0,54	0,98	0,53
Fibrosidad	4,25	3,93	3,98	2,45	0,42	4,43	4,00	4,58	4,00	0,91	0,40	0,28
Untuosidad	2,59	2,61	2,60	3,78	0,49	3,68	3,76	3,92	3,03	0,70	0,92	0,13
Masticabilidad	4,74	4,78	4,26	4,09	0,79	2,93	4,64	3,78	3,57	0,50	0,60	0,11
Num.Masticaciones	14,30	14,30	12,90	11,40	0,67	8,83	8,80	11,30	10,70	0,58	0,93	0,01
Jugosidad Final	3,46	3,61	4,71	4,89	0,52	4,67	4,74	3,72	3,47	0,62	0,98	0,93
Persistencia	3,61	4,11	4,58	4,71	0,79	4,38	4,54	6,23	5,02	0,33	0,37	0,17
Retrogusto	3,10 ab	2,30 b	4,89 ab	5,34 a	0,04	2,10	2,06	3,40	3,47	0,33	0,02	0,10

Medias en una misma fila con diferente letra difieren estadísticamente ( $p \leq 0,05$ ).

Cuando se analizaron las pechugas luego de 6 meses de congelado (Tabla 39) se evidenció olor y flavor a chía más marcados al utilizar chía extrusada y chía expeller en la alimentación de los pollos sin llegar a ser estadísticamente diferentes, tal como ocurría con las muestras frescas. En el caso de retrogusto se observaron diferencias entre chía extrusada y chía expeller respecto del control. Las pechugas del tratamiento con chía expeller presentaron un color global más claro que las de los demás tratamientos siendo las diferencias significativas respecto de control maíz – soja y chía molida.

El tiempo de conservación influyó significativamente sobre el aspecto, la aparición de off olores y off sabores y la terneza. Las pechugas conservadas, independientemente del tratamiento, resultaron ser más brillosas presentando un color más uniforme, con mayor intensidad de olor, olor a rancio más acentuado, mayor flavor hígado-sangre-metálico y a pesar de que la terneza fue similar, se necesitó menor número de masticaciones para lograr deglutir el bocado. (Figura 44)

Figura 44: Diferencias entre pechuga fresca y conservada



#### 4.3.4 Aportes de ácidos grasos a la dieta humana

A continuación se detallan los aportes de los principales AGPI en pechuga (Tabla 40) y en pata-muslo (Tabla 41) expresados en mg/100g de carne (sin huesos ni piel) de cada uno de los tratamientos.

Tabla 40: Contenido de AGPI en pechuga

Ácidos grasos	M-S	ChM	ChT	ChP	CV
	mg/100g de carne*				%
18:2n-6	319,7	329,8	425,8	337,4	30,2
18:3n-3	26,0 c	75,9 b	143,8 a	92,7 b	27,3
AGPI n-3 CL	43,3 b	49,2 b	64,8 a	51,6 b	18,4
EPA	3,0 b	6,0 a	7,1 a	5,7 a	20,6
DHA	20,0 b	18,4 b	26,1 a	21,7 ab	20,9
n-6/n-3	6,3 a	3,3 b	2,4 c	2,8 bc	12,7

\* Valores aproximados.

Medias con letras diferentes en una misma fila difieren significativamente ( $p \leq 0,05$ ).

En la Tabla 40 se puede observar que con 100g pechuga se provee entre 76 y 144mg de ALA en pollos alimentados con chía mientras que con maíz – soja estos solo aportan 26mg. No se observaron diferencias en el aporte de LA entre tratamientos. Mientras que en AGPI n-3 CL solo el tratamiento con chía extrusada presentó diferencias respecto del resto de los tratamientos, incluso el control maíz - soja. El EPA prácticamente se duplicó en todos los tratamientos con chía y el contenido de DHA solo se diferenció del control cuando las aves fueron alimentadas con chía extrusada.

**Tabla 41:** Contenido de AGPI en pata-muslo

Ácidos grasos	M-S	ChM	ChT	ChP	CV
	mg/100g de carne*				%
<b>18:2n-6</b>	955,8	1076,7	1146,5	1170,6	28,9
<b>18:3n-3</b>	93,5 c	295,6 b	436,1 a	373,0 ab	32,5
<b>AGPI n-3 CL</b>	47,6 b	81,7 a	94,0 a	87,3 a	23,9
EPA	4,3 b	10,5 a	13,8 a	12,4 a	32,2
DHA	20,0	28,8	32,3	31,6	30,9
<b>n-6/n-3</b>	8,0 a	3,2 b	2,4 c	2,9 bc	12,5

\* Valores aproximados.

Medias con letras diferentes en una misma fila difieren significativamente ( $p \leq 0,05$ ).

En pata-muslo (Tabla 41) el hecho que contenga más lípidos hizo que los aportes de los diferentes ácidos grasos sean mayores en comparación con la pechuga. Al igual que lo ocurrido en pechuga, todos los tratamientos con chía aumentaron sustancialmente el contenido de ALA en pata-muslo, incluso se observaron diferencias entre los procesos aplicados a la semilla de chía, destacándose la chía extrusada por sobre la molida. En tanto que el contenido de LA en pata no presentó diferencias entre tratamientos. Los AGPI n-3 CL fueron significativamente mayores en las pata-muslo provenientes de las aves que consumieron las dietas con chía (independientemente del proceso aplicado), el EPA presentó el mismo comportamiento, mientras que el DHA no tuvo diferencias entre tratamientos.

## **5 DISCUSIÓN**



## 5.1 Composición de materias primas

Tanto el análisis proximal como de energía metabolizable del maíz, harina de soja y poroto de soja desactivado por vapor concuerdan con los datos promedio de dichos ingredientes publicados por Azcona et al. (265). Lo que llama la atención es un aumento en la cantidad de fibra cruda presente en el poroto de soja, lo que podría estar atribuido a un mayor contenido de cáscara, pero dicho valor no afectó la digestibilidad de la EB la cual alcanzó 71,7%, valor coincidente con los datos de las tablas de ingredientes argentinos. (267,269)

En relación a los diferentes procesos aplicados a la semilla de chía, el mayor contenido de proteína en la chía expeller sería el resultado de la extracción del aceite y la concentración del resto de los nutrientes. Cabe resaltar que el contenido de proteína de la chía extrusada fue menor comparado con el de la chía molida, un resultado similar se observó con poroto de soja extrusado (265). Posiblemente la alta presión y temperatura alcanzadas en el extrusor hagan que parte del nitrógeno presente en la chía se volatilice. Como consecuencia, al realizar la determinación por Kjeldhal (nitrógeno total de la muestra), se calcularía un valor inferior de proteína.

De acuerdo a lo esperado, el extracto etéreo en chía expeller fue menor que en chía molida como consecuencia de la extracción de aceite. En el caso de la chía extrusada, se encontró un descenso inesperado de aproximadamente 10 puntos porcentuales respecto de la chía molida. Analizando el proceso y observando el equipo extrusor en funcionamiento se corroboró que ese aceite se pudo perder por “chorreado” en la puntera del extrusor; producto de la liberación del aceite generada por la presión del proceso (470,471). Debido a esto se realizó una pequeña prueba donde se extrusó una mezcla (partes iguales de semilla de chía y harina de soja) constatándose que no hubo pérdidas de aceite durante el proceso, lo que resuelve el inconveniente antes mencionado.

El aumento de fibra cruda pudo deberse en parte al menor contenido de aceite y subsecuente concentración de los nutrientes tanto en la chía extrusada como en la chía expeller.

En tanto que el contenido de ceniza no presentó particularidades entre los diferentes procesos aplicados a la semilla de chía.

La EB aumentó en función del contenido de EE observándose una alta correlación entre estos parámetros.

Al relacionar el contenido de EMV en función del EE se observó algo parecido a lo ocurrido con EB. No obstante, la EMV de la chía extrusada resultó estar por encima del valor esperado considerando el contenido de EE. Este resultado se debería a un mejor aprovechamiento de la EB (EMV/EB) donde la chía molida fue la que presentó menor aprovechamiento de la EB, seguido de la chía expeller (0,9 puntos porcentuales por encima de la molida) y la chía extrusada con un 68% de aprovechamiento de la energía (4 puntos porcentuales por encima de la semilla de chía molida).

El aprovechamiento de la energía no tuvo relación con el contenido de EE, sino que fue consecuencia de la mejora producida por los procesos aplicados, sobre todo el de extrusión que consiste en un efecto de fricción, corte y liberación brusca de la presión lo que conlleva a una expansión del producto y modificación de las cadenas proteicas (desnaturalización) y de almidón, aumentando la superficie expuesta y haciéndolo más susceptible al ataque por parte de las enzimas del tracto digestivo (263,472), sin degradación de los nutrientes. (271,473)

Esta información concuerda con lo observado en poroto de soja desactivado por extrusión, donde este proceso mejoró de forma consistente la eficiencia alimenticia entre un 2 y un 6% respecto de otros métodos de procesado como el tostado. (270)

A su vez, se sabe que en semillas oleaginosas (como lo son el poroto de soja, semilla de lino y chía), la presión y el calor rompen las células que almacenan los lípidos, liberando su

contenido, lo que conduciría a una mayor digestibilidad del mismo por parte de los pollos parrilleros. (470,471)

El perfil de ácidos grasos del maíz, la soja (harina y poroto) y el aceite de girasol, no presentaron particularidades respecto de lo existente en la bibliografía. (268,474)

En la chía se pudo observar que los diferentes procesos aplicados a la semilla no alteraron la concentración porcentual de los diferentes ácidos grasos, concordando su perfil con lo hallado en semilla de chía sin procesar por otros autores (173,191,218,475-477). Las diferencias observadas en base tal cual se explicarían por el contenido de EE.

## **5.2 Parámetros zootécnicos**

No se hallaron diferencias entre tratamientos en consumo de alimento, no obstante se observó una tendencia a mayor consumo en el tratamiento con chía expeller.

El peso de los pollos alimentados con chía expeller a los 28 y 35 días y con chía extrusada a los 28 días fue menor respecto del control. Estas diferencias se fueron compensando y a los 49 días la chía extrusada incluso superó numéricamente al control. En tanto que con chía expeller, aunque no se hallaron diferencias significativas a esta edad, el peso tendió a ser menor en un 2,0% respecto del control.

Las aves del tratamiento con chía expeller tuvieron una conversión significativamente más alta. Este resultado se explicaría por las tendencias antes mencionadas hacia un mayor consumo de alimento sumado a una reducción del peso vivo. Esto no fue observado con semilla de chía molida o extrusada.

La respuesta hallada con chía expeller pudo deberse a que, para alcanzar un 1,5% de ALA en la dieta, hubo que incluirla al 12,4% (promedio de los alimentos crecimiento y terminador). Con chía extrusada y chía molida hubo que usar 8,4 y 5,8% respectivamente debido al mayor contenido de aceite de estos materiales.

El nivel de inclusión utilizado de chía expeller fue semejante al utilizado por Ayerza et al. (208) quienes utilizando chía entera encontraron que con 10 y 20% de inclusión, se perjudicaba el peso y la conversión de las aves.

Esta respuesta pudo deberse a diversas razones, entre las cuales podría considerarse la presencia de algún factor antinutricional como en el caso del lino (209,268,478) o bien que el ave no haya podido aprovechar al máximo sus nutrientes dado que la semilla fue suministrada entera. Esta última teoría no aplicaría en el presente estudio dado que siempre se utilizó chía con algún grado de proceso, ya sea molido, extrusado o prensado (expeller).

En el caso del lino se ha encontrado la presencia de numerosos factores tóxicos o antinutricionales como linamarina, linustatina y neolinustatina (479), todos ellos glucósidos cianogénicos (480), además de factores antagonistas de la vitamina B6 (208,268,480-482). Sin embargo, ninguno de estos factores ha sido hallado en las semillas de chía o su aceite (208,219,483-486). Una explicación a la caída en el desempeño de las aves que recibieron chía expeller podría ser la presencia de polisacáridos mucilaginosos unidos firmemente a la semilla de chía (485). En consecuencia se formaría un gel que actuaría como barrera física en el intestino, provocando una menor utilización de la energía y demás nutrientes respecto de la dieta control maíz – soja. (208,487)

Otra causa del menor desempeño hallado en las aves que consumieron chía expeller podría ser el elevado contenido de fibra (15,7%) (487,488), efecto que se potenciaría al tener que incluir mayor proporción de este ingrediente para llegar a 1,5% de ALA en el alimento.

A su vez Monroy-Torres et al. (487) encontraron muy baja digestibilidad de la proteína en la semilla entera de chía, incluso tostada y molido. Este último proceso se podría extrapolar al proceso de prensado donde la semilla sufre un aumento de la presión y temperatura por un período prolongado de tiempo, no así la semilla extrusada donde el proceso ocurre en cuestión de segundos.

Pese a que los valores de conversión fueron significativamente mayores con la chía expeller, esta pérdida del 4% (respecto del control) dista del 29,7% hallado por Azcona et al.

(209) al utilizar semillas de lino para producir carne de pollo con mayor contenido de AGPI n-3.

Por otro lado existe evidencia bibliográfica que documenta pérdida en el desempeño de las aves con otras fuentes de ácidos grasos n-3, tales como harina de pescado (212), posiblemente por una baja palatabilidad de esta, dado que hubo una reducción en el consumo sin afectarse la conversión. En el presente trabajo esto queda descartado desde el momento en que las aves de todos los tratamientos con chía consumieron igual o en algunos casos un poco más de alimento que el control maíz – soja.

Además, al observar la evolución semanal de los parámetros zootécnicos surge que un cambio brusco en la dieta como es pasar de un 0% a un 12,4% de inclusión de chía expeller en la misma afectó el desempeño de las aves. Pasados 14 días de ensayo, estas diferencias respecto del control en peso, conversión y relación peso/conversión comenzaron a disminuir. No sucedió lo mismo con el consumo que tendió a aumentar hacia el final de la experiencia en el tratamiento con chía expeller.

La relación peso/conversión no es un parámetro muy utilizado y surge de una simplificación del factor de eficiencia productiva (FEP). (489)

$$\text{FEP} = \text{Peso} \times \text{Viabilidad} \times (\text{Conversión} \times \text{Edad de Faena})^{-1} \times 100$$

Donde, la viabilidad en este tipo de ensayo se considera del 100% por lo tanto es igual a 1 y la edad de faena al ser la misma para todas las aves del ensayo directamente no se tiene en cuenta.

En el presente ensayo la relación peso/conversión mostró la misma tendencia que la conversión, siendo todos los tratamientos parecidos al control excepto el tratamiento con chía expeller que presentó un peor desempeño frente a los demás.

### 5.3 Composición corporal

En cuanto a los rendimientos de faena, el tratamiento con chía expeller presentó las carcacas más livianas y los menores pesos de pechuga. Todo esto estaría asociado al menor peso vivo de estas aves que, sumado al aumento en el consumo (aunque no significativo), nos llevaría a pensar que el ave sufrió una deficiencia de nutrientes, ya sea por algún factor antinutricional, antivitamina o por algún nutriente subestimado, por lo tanto el animal priorizó el mantenimiento de su soma y dejó de lado la producción de carne y mucho más aún la de grasa.

A su vez Azcona et al (209) aportan otra explicación, y es que habría un incremento en la  $\beta$ -oxidación de grasas insaturadas dietarias por un aumento en la expresión de la enzima acil-oxidasa (490-498) y como consecuencia una reducción de la síntesis de ácidos grasos endógenos (490-497,499,500). Sin embargo, este punto difícilmente explicaría el menor desempeño de las aves que consumieron chía expeller, dado que aquellas de los tratamientos con chía molida y chía extrusada no presentaron esta característica a pesar de que los tres tratamientos en cuestión tenían la misma cantidad de ALA en la dieta (1,5% en base tal cual).

A diferencia de lo observado por Havenstein (501) en este trabajo las aves más livianas (tratamiento con chía expeller) no presentaron rendimientos de carcasa ni de pechuga más bajos que las aves más pesadas.

Por otra parte, el incremento de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta no incrementó el porcentaje de grasa abdominal como lo reportara Zollitsch et al. (502)

## 5.4 Parámetros de laboratorio

### 5.4.1 Grasa intramuscular

A diferencia de lo encontrado por Azcona et al. (209) y Ayerza et al. (208) con chía expeller y semilla entera de chía respectivamente en el presente estudio no se hallaron diferencias entre chía (cualquiera fuere su procesamiento) y el control.

Como es de común conocimiento, la pata-muslo presentó más grasa intramuscular que la pechuga. A su vez estos valores fueron bajos respecto del trabajo de Ayerza et al. (208) debido a que en el presente trabajo se utilizaron cortes sin piel.

### 5.4.2 Colesterol

Existe evidencia que los AGPI n-3 reducen significativamente la actividad de la 3-hidroxi-3-metil-glutaril CoA reductasa con lo que disminuirían los niveles de mevalonato (precursor del colesterol) en tejido mamario de ratas (503). También se encontró que aquellos disminuyen la concentración del colesterol sérico total y del HDL colesterol a expensas de elevar el colesterol hepático destinado a su excreción a través de la bilis (325,503,504), pero sobre todo disminuyen el colesterol VLDL y los triacilglicéridos. (505)

En el presente estudio, y al igual que Ayerza et al. (208), el uso de una fuente vegetal de n-3 como la chía no produjo cambios en el contenido de colesterol en carne de ave con ninguno de los procesos aplicados a la semilla, no obstante la concentración sérica de colesterol no fue analizada en esta ocasión.

Por otra parte, los valores hallados (55,4mg% promedio de todos los tratamientos) son más bajos que el reportado por Rey et al. (506) (91,0mg%) y similares a los presentes en sardinas enlatadas (507) y otras especies de peces enlatados (508), lo que nos permitiría pensar que el nivel de colesterol no necesariamente se debe elevar al aumentar el número

de instauraciones para estabilizar la membrana plasmática (509). Además, en este ensayo, el principal ácido graso n-3 depositado fue el ALA, que no necesariamente va a formar parte de las membranas, sino que mayormente se acumularía en los triacilglicéridos. (426,510,511)

Cabe recordar que el colesterol es una molécula vital para el organismo que actúa como precursor de ácidos biliares, compuestos esteroideos y se encuentra en todas las membranas celulares. El colesterol se sintetiza en el organismo animal, por lo que los intentos que se han hecho hasta el momento para reducir su concentración en la carne han resultado infructuosos, dado que si no se consume, aumenta la síntesis endógena. De hecho, en condiciones normales la mayor parte del colesterol circulante se forma en el hígado (512), por lo que una leve reducción de colesterol en la carne de pollo no parece dar lugar a mejoras sustanciales para el consumidor.

#### **5.4.3 Composición de ácidos grasos**

Está ampliamente demostrado que el perfil de ácidos grasos de la carne de pollo puede ser modificado a través de un ajuste en las grasas de la dieta. (197,208,209,426,427,491,502,513-519)

Cuando se estudió la relación entre los diferentes grupos de ácidos grasos (AGS, AGMI y AGPI) en el alimento y en los tejidos se encontró que la deposición de AGS y AGMI decreció en forma lineal al aumentar el contenido de AGPI en el alimento, mientras que el depósito de AGPI creció en forma exponencial. (197,214,215)

La relación entre AGPI dietarios y el contenido de las diferentes series de ácidos grasos en los tejidos del pollo sustenta la idea que su composición es una combinación del depósito directo proveniente de la dieta y de la síntesis endógena. (197,296)



#### 5.4.4 Ácidos grasos saturados

Es recomendable reducir el consumo de AGS dado que se encuentran asociados a graves problemas desde el punto de vista de la salud humana. (520,521)

Este tipo de ácidos grasos podría estar asociado a problemas tales como enfermedad cardiovascular, disfunción adiposa, inflamación, generación de ceramidas y especies reactivas del oxígeno (ROS por sus siglas en inglés), además de alterar la regulación de la glucosa e incrementar la expresión y secreción de factor de necrosis tumoral. (522)

En el presente trabajo el uso de chía en la dieta de pollos permitió disminuir un 10,7; 11,0 y un 17,1% el contenido de AGS respecto del control dependiendo del proceso aplicado (molienda, prensa (expeller) y extrusión respectivamente). Destacándose la extrusión por sobre los demás. En el trabajo de Azcona et al. (209) utilizando chía expeller, semillas de lino, chía y colza se observó una tendencia similar, no obstante, las diferencias respecto del control no llegaron a ser significativas.

Con el uso de chía, el ácido mirístico disminuyó; lo opuesto fue observado por Ayerza et al. (208). El mayor descenso (interacción significativa) fue en pechuga respecto de la pata-muslo. A su vez, el tratamiento con el cual bajó más este ácido graso indeseable (512,523-525) fue con el proceso de prensado (chía expeller), seguido de la chía molida y por último la chía extrusada (disminución del 50,6; 40,5 y 22,8% respectivamente).

El ácido palmítico también disminuyó, coincidentemente con otros trabajos (208,209), un 13,9% cuando se incluyó chía en la dieta de los pollos, pero no hubo diferencias entre los procesos aplicados a esta semilla. En tanto que la pata-muslo presentó 3,7 puntos porcentuales menos de este ácido que la pechuga. En experiencias donde se utilizaron fuentes de origen animal, como harina de gallineta nórdica (redfish, *Sebastes mentella*) (198) o aceite de lacha tirana (menhaden, *Brevoortia tyrannus*) (207), se observó un incremento del ácido palmítico en la carne de pollos parrilleros, consecuencia que resultaría indeseable desde el punto de vista de la nutrición humana. (523)

Por su parte el ácido esteárico bajó en promedio un 9,0% respecto del tratamiento control a base de maíz – soja. Esta información concuerda con lo hallado en trabajos previos (208,209). El proceso más efectivo en generar una disminución de este ácido graso fue la extrusión 13,5%, seguido de la prensa (expeller) con 7,3% y por último la molienda con un 6,2% que no se diferenció del control a base de maíz – soja.

Estas diferencias observadas en el contenido de diferentes AGS en la carne de pollo podría deberse básicamente a tres factores, tales como su concentración en la dieta, grado de oxidación (generación de energía) y síntesis en el hígado (208,209,526). En relación a esto último, hay estudios que indican que la síntesis de AGS es menor cuando se digieren grasas insaturadas en lugar de saturadas. (527)

Respecto de las diferencias entre cortes, pata-muslo presentó 4,7 puntos porcentuales menos que la pechuga en AGS; 3,7 en ácido palmítico y 1,0 punto en ácido esteárico.

#### **5.4.5 Ácidos grasos monoinsaturados**

Si bien el incremento de los AGMI en la dieta trae beneficios para el consumidor bajando el riesgo de enfermedad cardiovascular (528,529), el contenido de estos disminuyó en todos los tratamientos en que se utilizó chía. Dicho descenso fue de 11,4; 5,4 y 5.1% respecto del control para chía expeller, molida y extrusada respectivamente. Esto se explicaría por un efecto de inhibición que poseen los ácidos grasos poliinsaturados sobre la enzima estearoil CoA desaturasa que es la enzima clave para desaturar los ácidos grasos palmítico y esteárico, y que daría como resultado los ácidos palmitoleico y oleico respectivamente (297,509,530). Esta interacción entre AGMI y AGPI ha sido reportada en aves y en otras especies animales (208,209,219,296,433,531-534). Aunque no queda del todo claro por qué se diferenció la chía expeller de las demás.

Por otro lado, y avalando los resultados encontrados en este trabajo, se ha observado que el contenido de AGMI en carne de pollo depende más de la cantidad de AGMI dietarios que los sintetizados endógenamente. (198)

En otros estudios se evaluó el agregado de fuentes de AGMI en la dieta, como el aceite de girasol alto oleico, para neutralizar la disminución antes mencionada. En algunos casos con resultados favorables (535) y en otros no tanto. (209)

Ambos integrantes de los AGMI disminuyeron con el agregado de chía en la dieta, pero el ácido oleico disminuyó significativamente, no así el palmitoleico. Entre los tratamientos con chía el que más disminuyó fue aquel con chía expeller (10,8%), seguido de la chía molida (5,6%) y la chía extrusada (5,1% respecto del control). Como se puede observar aquí se repitió el mismo comportamiento que el observado con los AGMI dado que el ácido oleico es su componente mayoritario.

Esto en parte concuerda con lo descrito por Azcona et al. (209) quienes a pesar de haber utilizado aceite de girasol alto oleico (con lo cual encontraron valores de oleico más altos que en este ensayo), hallaron que ambos AGMI con la inclusión de chía en la dieta disminuyeron significativamente.

En cuanto a las diferencias entre cortes, pata-muslo presentó 3,8 puntos porcentuales más que la pechuga en AGMI, 1,0 en ácido palmitoleico y 2,8 puntos en ácido oleico.

#### **5.4.6 Ácidos grasos poliinsaturados**

Diversos estudios han demostrado que un consumo alto de AGPI ejerce un efecto protector bajando el riesgo de enfermedad cardiovascular (536-538), posiblemente por tener propiedades antiinflamatorias que inhiben la activación aterogénica de las células vasculares endoteliales. (539)

Sin embargo, elevadas ingestas conducen a un aumento en la susceptibilidad a la peroxidación lipídica (540), un efecto especialmente negativo en relación a la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad y la génesis tumoral. (541)

En el presente estudio la inclusión de chía, sea cual fuere su proceso, produjo un aumento de los AGPI a expensas de una disminución de los AGS y AGMI.

Este aumento de los AGPI se debió básicamente a que aumentó la concentración de la serie n-3, no así la n-6, quienes permanecieron sin cambios con la inclusión de chía. Resultados similares fueron hallados por otros autores tanto en carne como en huevo al utilizar, en el alimento, diferentes fuentes con un alto contenido de AGPI n-3 (208,209,506,534,542). Aunque no siempre se ha dado este comportamiento, ya que en determinadas ocasiones el incremento de los AGPI n-3 se realizó a expensas de los AGPI n-6, sin incremento de los AGPI. (212)

Resulta difícil hablar de los efectos de AGPI n-6 y de los n-3 por separado dado que estos están estrechamente relacionados, no obstante se respetará dicho enfoque.

#### **5.4.7 Ácidos grasos poliinsaturados n-6**

Aunque el mecanismo no está del todo claro se ha encontrado que los AGPI n-6 favorecen el desarrollo de tumores mamarios en ratas, mientras que los AGPI n-3 los inhiben (503). A su vez hay evidencias que indicarían que los ácidos grasos de la serie n-6 promueven la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (48,49,543), favorecen la agregación plaquetaria (46) y estimulan la respuesta inmune. (544)

Como con otras fuentes de AGPI n-3 (208,433,545), al utilizar chía en la dieta, el nivel total de AGPI n-6 respecto del control se mantuvo igual. Aunque la bibliografía es un tanto contradictoria en este aspecto dado que también hay una serie de trabajos en donde los AGPI n-6 aumentaron respecto del control, aunque en menor medida que los AGPI n-3 (533)

y otros en los que bajaron (209,546). Estas contradicciones podrían explicarse por utilizar diferentes perfiles de ácidos grasos y relaciones n-6/n-3 en las dietas.

Se halló una diferencia entre cortes en el contenido total de n-6 siendo pata-muslo 2,5 puntos porcentuales mayor que la pechuga. Este resultado es coincidente con el reportado por Azcona et al. (209). No obstante, Ayerza et al. (208) encontraron valores mucho más bajos que los de este trabajo y los de Azcona et al. (209) y en pata-muslo el contenido de AGPI n-6 fue menor que en pechuga. Esta particularidad podría ser explicada porque Ayerza et al. (208) utilizaron cortes con piel, en tanto que en el presente estudio y en el de Azcona et al. (209) se usó cortes sin piel.

El ácido linoleico, el mayor constituyente de esta serie de ácidos grasos, no presentó diferencias entre tratamientos, esta información se corresponde con los hallazgos de otros autores (197,209,433); pero sí presentó diferencias entre cortes siendo más abundante en pata-muslo que en pechuga por 4,6 puntos porcentuales. Esto se puede atribuir a que los ácidos grasos de 18 átomos de carbono que no entran en la ruta de síntesis de AGPI de cadena larga se ubican preferentemente en los triacilglicéridos de reserva cuyo contenido en pata-muslo es mayor que en pechuga. (426,510,511)

Los precursores del AA resultaron ser 22,2 y 23,7% (ácidos eicosadienoico y dihomo- $\gamma$ -linolénico respectivamente) menores en los tratamientos en que se utilizó chía, independientemente del proceso aplicado. Hubo mayor porcentaje de estos ácidos grasos en pechuga que en pata-muslo (0,13 y 0,16 puntos porcentuales para ácidos eicosadienoico y dihomo- $\gamma$ -linolénico respectivamente); lo cual que nos indica que estos ácidos grasos, a diferencia de aquellos con menos de 18 átomos de carbono, tienen mayor afinidad por los fosfolípidos. (426,510,511)

La dieta con una fuente rica en AGPI n-3, al igual que en el trabajo de López-Ferrer et al. (533), disminuyó el AA un 23,6% con chía molida, 41,1% con chía expeller y 52,5 con chía extrusada (datos de pechuga). Siendo la chía extrusada y la chía expeller las que se destacaron. Por otro lado, el docosatetraenoico presentó un comportamiento similar. Estos

datos no concuerdan con los hallados por Bou et al. (433) quienes trabajando con diferentes dosis de aceite de pescado encontraron mayor contenido de araquidónico y lo atribuyeron a una mayor presencia de este ácido graso en la dieta.

Este efecto se vio asociado a una disminución en la relación 20:4/18:2 y 22:4/18:2 tal como lo muestran trabajos previos donde utilizaron aceite de pescado (547-549), aceite de algas (214,535,550), semilla de lino (551) y grasa de foca. (552)

La explicación a esta situación se encuentra basada en dos teorías que no son excluyentes entre sí. Una de ellas habla de una competición entre precursores n-6 (ácido linoleico) y n-3 (ALA) por las mismas enzimas, sobre todo la  $\Delta 5$ - y  $\Delta 6$ -desaturasas (550,551,553-555) que a su vez mostraron mayor afinidad por los AGPI n-3 por sobre los de la serie n-6 (110,515,518,550,551,553). Y la otra explicación es que existe una retroalimentación negativa de los AGPI n-3 CL como el EPA y el DHA sobre dichas enzimas. (533,556,557)

De esto se desprende que el ALA es un buen antagonista del ácido linoleico, pero no tan efectivo como los AGPI n-3 CL. (36,533,553)

#### **5.4.8 Ácidos grasos poliinsaturados n-3**

El interés mostrado por la comunidad científica por los ácidos grasos de la serie n-3 sigue creciendo debido a la constante aparición de potenciales efectos beneficiosos para la salud humana (44,543) como disminución de la concentración de triacilglicéridos en sangre y agregación plaquetaria, prevención de trombosis y arritmias cardíacas, inhibición de los efectos adversos de la respuesta inflamatoria, entre otros, que llevan a una menor incidencia de enfermedad cardiovascular. (558-560)

Al igual que en otros trabajos (208,209,217,561), la inclusión de chía (fuente rica en ALA) permitió elevar el porcentaje de AGPI n-3 respecto del control, 1,08; 1,43 y 1,81 veces con chía molida, chía expeller y chía extrusada respectivamente, resultando ser todos los procesos diferentes entre sí y del control. Esta información concuerda con la de otros

autores que también les fue posible aumentar el contenido de AGPI n-3 al utilizar otras fuentes de estos ácidos grasos como semilla de lino (510,515,533,551), aceite de pescado (515,547-549), aceite de algas (214,535,550) y grasa de foca. (552)

Los valores alcanzados en AGPI n-3 con 8,5% de chía extrusada en la dieta se asemejaron a los valores hallados por Azcona et al. (209) cuando utilizó 15% de semilla de chía molida y superaron con amplitud los hallados por Ayerza et al. (208) cuando utilizó 10 y 20% de semilla de chía entera en la dieta de pollos parrilleros.

Como en Azcona et al. (209), no se hallaron diferencia entre cortes en el contenido de AGPI n-3; esto se podría explicar por una mayor deposición de ALA en pata-muslo y baja de AGPI n-3 CL (EPA, DPA y DHA) y viceversa en pechuga. No obstante, Ayerza et al. (208) sí encontraron diferencias, pero las mismas podrían estar atribuidas a que en su ensayo utilizaron cortes con piel, y la proporción de esta no es la misma para los dos cortes en cuestión.

Al considerar el AGPI n-3 más abundante, el ALA, se encontró que este ácido graso aumentó en todos los casos en que se utilizó chía, al igual que con otras fuentes de origen vegetal. (510,533,545,551,562)

En este estudio los distintos procesos permitieron alcanzar diferentes cantidades de ALA en carne de pollo. Lográndose aumentar 3,3; 2,6 y 1,9 veces su porcentaje con chía extrusada, expeller y chía molida respectivamente. Estos valores concuerdan con los correspondientes a chía expeller reportados por Azcona et al. (209) quienes usaron una cantidad similar de esta fuente (15,0% Azcona vs. 12,4% en el presente estudio). Con la chía molida Azcona et al. (209) encontraron una concentración más alta de linolénico debido a que el nivel de inclusión de esta fuente en la dieta fue de casi el triple comparado con el presente estudio (15,0% vs. 5,8%).

En cuanto a la deposición diferencial hallada entre cortes (2,1 puntos porcentuales más en pata-muslo que en pechuga), tal como fue explicado anteriormente, tiene que ver con que los ácidos grasos de hasta 18 carbonos se acumulan mayoritariamente en los

triacilglicéridos de reserva, y en pata-muslo hay mayor cantidad de esta clase de lípidos. (426,510)

No está del todo claro si los efectos beneficiosos del ALA sobre la salud humana son por su efecto directo o por su conversión a AGPI n-3 CL. (82)

Si bien se sabe que el aumento de AGPI n-3 CL por vía biosintética (a partir de ALA) es menor que con la inclusión directa de fuentes marinas (513,563,564), este tipo de ácidos grasos se incrementó entre 0,31 y 0,39 veces respecto al control maíz – soja al incorporar chía procesada de diversas maneras en la dieta de pollos parrilleros. No obstante, hace falta más investigación en lo que respecta al proceso de elongación y desaturación de ácidos grasos en animales. (513)

No se hallaron diferencias entre procesos aplicados a la semilla de chía.

El comportamiento de los AGPI n-3 CL en función de la ingestión de ALA fue similar al encontrado por López-Ferrer et al. (533) quienes hacen referencia que todos los AGPI n-3 CL (EPA, DPA y DHA) alcanzaron el máximo valor cuando su precursor, el ALA, fue agregado a la dieta en mayor cantidad ( $R^2=0,80$  para EPA, 0,72 para DPA y 0,78 para DHA cuando se relacionó cada uno de estos ácidos grasos al consumo de ALA), este efecto también fue reportado por Olomu & Baracos (565) y Whelan et al. (557) con cantidades crecientes de aceite de lino y ALA purificado. Estos resultados soportan la teoría que el pollo puede convertir, aunque a muy baja tasa de conversión (208,209,220,563), el ALA en sus derivados de cadena larga cuando este está presente en la dieta (110,133,207,378). Por otro lado, trabajos previos indican que por más que el ALA alcance el 39% de los lípidos de la dieta, la cantidad total de AGPI n-3 CL producidos en el animal nunca superaría el 4% del total de los ácidos grasos en muestras de carne. (566)

En el presente ensayo, como en otros, el depósito de los AGPI n-3 CL en general ocurrió en mayor medida en la pechuga (1,7 puntos porcentajes respecto de pata-muslo) por su mayor afinidad con la fracción fosfolipídica. (36,426,510,511,533,550,552)



Cabe destacar que dentro de los AGPI n-3 CL los que aumentan son el EPA y el DPA, pero no así el DHA, datos similares fueron hallados por otros autores tanto con animales (514,567,568) como con humanos (178,564,569,570). En el presente estudio, el EPA de los tratamientos con chía (cualquiera fuera su proceso) fue 1,2 veces mayor que el control a base de maíz – soja; el DPA fue 0,39 veces mayor y el DHA fue prácticamente despreciable con 0,15 veces mayor contenido que el tratamiento control. Esto nos indicaría que el proceso de elongación y desaturación al acercarnos al DHA (sobre todo las enzimas  $\Delta 5$ - y  $\Delta 6$ -desaturasas) sufriría una retroalimentación negativa por acción de sus productos, los AGPI n-3 CL (548,550,551,555), o bien por una saturación de la actividad de dichas enzimas (inhibición competitiva por ácidos grasos de la serie n-6). (548,551)

A diferencia de lo que ocurre en la carne de pollo, en la yema de huevo pequeñas proporciones del EPA dietario es retenido como tal, y la mayoría de este es convertido a AGPI n-3 de cadena más larga como el DPA y el DHA, con una pequeña pérdida en la eficiencia en la deposición en los lípidos de yema comparada con la inclusión directa del DHA en la dieta (535). Se ha observado una incorporación preferencial en los fosfolípidos de membrana en yema de huevo del DHA en lugar del EPA cuando se usaron dietas suplementadas con aceite de pescado, algas o grasa de foca. (431,535,550,552,571)

El tratamiento más eficiente en convertir el ALA en AGPI n-3 CL fue el control maíz – soja. Esta paradoja se explicaría teniendo en cuenta que las enzimas encargadas de la desaturación y elongación principalmente las  $\Delta 6$ - y  $\Delta 5$ -desaturasas) son fuertemente influenciadas (retroalimentación negativa) por los productos de su reacción, los AGPI n-3 CL (533,556,557). Aparte de la retroalimentación negativa existe un sinnúmero de factores tanto nutricionales como hormonales que pueden alterar la actividad de las estas enzimas. (36)

Es lógico observar un aumento de la actividad de estas enzimas en la pechuga, por ser este corte meramente muscular con poco o prácticamente nulo contenido de lípidos de reserva (triacilglicéridos). (426,510,511)

Tomando como base el AGPI CL de ambas series (el AA n-6 y el EPA n-3) y relacionándolos con sendos precursores (el LA y el ALA) podemos corroborar que las enzimas  $\Delta 6$ - y  $\Delta 5$ -desaturasas tienen mayor afinidad por la serie n-3 que por la n-6 (110,515,518,550,551,553) al encontrar que la relación 20:5n-3/18:3n-3 fue de 0,061 (promedio de todos los tratamientos) contra 0,019 para la relación 20:4n-6/18:2n-6. Sin embargo, esto no se contrapone a lo antes expuesto donde a menor concentración del precursor mayor es la eficiencia de conversión por la falta de retroalimentación negativa producida por los productos de la reacción (los AGPI CL, sobre todo los de la serie n-3) como así también por los factores nutricionales y hormonales. (36)

#### **5.4.9 Relación n-6/n-3**

Para reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular, cáncer, osteoporosis y enfermedades inflamatorias y autoinmunes (554), organizaciones internacionales de la salud (572) y diferentes publicaciones (44,208,573,574) recomiendan una relación n-6/n-3 de 5:1 a 4:1 e incluso menor (564). Actualmente, la dieta occidental no alcanza estas recomendaciones, debido a una disminución en el consumo de ácidos grasos n-3 y principalmente a un mayor consumo de la serie n-6. (44)

Existen autores que sostienen que el efecto preciso del ALA está en función del contenido de LA y AGPI totales en la dieta. (82)

La inclusión de chía en la dieta de pollos parrilleros permitió disminuir la relación n-6/n-3. Si bien esta relación bajó en ambos cortes, hubo un comportamiento diferente con los distintos procesos aplicados a la semilla de chía. Con lo que en pechuga descendió 47,5; 55,2 y 62,5% con chía molida, expeller y extrusada respectivamente mientras que en pata-muslo descendió 59,3; 63,9 y 69,8%, también con chía molida, expeller y extrusada respectivamente. Tanto en pechuga como en pata-muslo, todos los procesos aplicados a la semilla de chía se diferenciaron del control maíz – soja y entre sí, siendo mejor el proceso

de extrusión seguido por la prensa y por último la molienda. Estos resultados se condicen con lo hallado por Ayerza et al. (208) y Azcona et al. (209) cuando utilizaron semilla de chía y con lo reportado por otros autores al utilizar deferentes fuentes de AGPI n-3 (212,533). Aunque en el trabajo de Ayerza et al. (208) llama la atención el valor tan alto de la relación n-6/n-3 en ambos cortes del tratamiento control (20,0 y 18,8 para pechuga y pata-muslo respectivamente); esto podría deberse a que en ese ensayo se analizaron los cortes con piel.

Como las enzimas  $\Delta 6$ - y  $\Delta 5$ -desaturasas son compartidas para la síntesis de AGPI CL tanto de la serie n-6 como de la serie n-3 (133), al analizar la relación 20:4n-6/20:5n-3 en función de la relación 18:2n-6/18:3n-3 de la dieta, se pudo corroborar por cual serie son más afines dichas enzimas. Por otra parte se sabe que el incremento de la relación 20:4n-6/20:5n-3 y el desbalance en la relación n-6/n-3 esta relacionado al aumento de la producción de citoquinas y eicosanoides proinflamatorios. (575)

Al analizar dicha correlación pudimos observar que el comportamiento fue logarítmica ( $R^2:0,99$ ), aunque para hacer un ajuste mayor habría que determinar más puntos intermedios, pero ese no fue el objetivo de este ensayo.

Si nos posicionamos en las 3 relaciones bajas (provenientes de las dietas con chía), podemos ver que la relación fue prácticamente lineal entre ambos cocientes.

De esto se desprende que al bajar la relación 18:2n-6/18:3n-3 de la dieta en un 8,1% bajó notoriamente la relación 20:4n-6/20:5n-3 en un 35,4%, con lo que se puede ratificar la idea de que estas enzimas son más afines por la serie n-3 que por la n-6. El bajar la relación 20:4n-6/20:5n-3 conlleva una serie de beneficios muy importantes dado que los productos derivados del AA n-6 son proinflamatorios, mientras que los que derivan del EPA n-3 son antiinflamatorios. (133)

#### **5.4.10 Estabilidad oxidativa**

El daño oxidativo producido por especies reactivas del oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) es conocido como estrés oxidativo, y refleja un cambio en el balance entre prooxidantes y antioxidantes a favor de los primeros (576). El estrés oxidativo, y más específicamente la peroxidación lipídica, están implicados en diversos estados patológicos como aterosclerosis, diabetes, envejecimiento y desórdenes neurodegenerativos (577,578). Los AGPI son susceptibles a la oxidación por su gran número de insaturaciones (306). Las ROS pueden atacar los dobles enlaces de los lípidos insaturados e iniciar una reacción en cadena que conducen a la formación de productos como aldehídos, dialdehídos (ej. el malondialdehído) e hidrocarburos de cadena corta. (306,325,327)

Se ha encontrado que ratas alimentadas con dietas ricas en AGPI n-3, incorporaron los mismos en sus tejidos y al exponerlos a ROS sufrieron mayor cantidad de daños en los fosfolípidos de las membranas mitocondriales (579), con el consecuente defecto funcional en el sistema de transporte de electrones. (580)

##### *5.4.10.1 Índice de instauración*

Las aves por lo general presentan un bajo UI (581). Como resultado de la incorporación de AGPI n-3 se produjo un aumento de este índice en todos los tratamientos con chía, estos resultados concuerdan con los hallados por otros autores (325,582) al incluir diversas fuentes de AGPI n-3 al alimento de aves y otras especies animales. No obstante, no siempre que se agregue fuentes de AGPI n-3 en la dieta va a aumentar el UI en el producto (carne o huevo), dado que en determinadas circunstancias el aumento de AGPI n-3 lo hace en detrimento de los AGPI n-6 o bien el ave satura el exceso, con lo que el UI no cambiaría sustancialmente. (552)

No obstante, en el presente trabajo se encontraron diferencias entre los procesos de extrusión y molienda, no diferenciándose ninguno de los dos del expeller, debido a que este resultó tener un UI intermedio.

El aumento del UI podría conducir a una mayor susceptibilidad al estrés oxidativo en las membranas celulares. Por tal motivo se utilizaron dos metodologías para evaluar el posible estrés oxidativo en los lípidos como son la determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS por sus siglas en inglés) y el desafío con un prooxidante monitoreado por quimioluminiscencia. La primera cuantifica un producto de la peroxidación lipídica, el malondialdehído (MDA) y la segunda nos permite ver la cinética de la peroxidación.

#### *5.4.10.2 Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)*

La determinación de TBARS nos permite conocer si una muestra sufrió peroxidación lipídica, pese a no ser la prueba más específica para medir el MDA, es la más usada por su repetibilidad.

En el presente estudio los valores de TBARS para todos los tratamientos fueron extremadamente bajos (583,584) y sólo se observó un aumento de la concentración de MDA en pata-muslo del tratamiento con chía extrusada (1,5 veces mayor que el control). Este hallazgo podría deberse al patrón de ácidos grasos incorporados con la dieta, sin embargo en la pechuga de este tratamiento no ocurrió lo mismo.

Una explicación a este suceso estaría dada por un agotamiento de los antioxidantes naturales presentes en la semilla de chía (239,585), pese a que, como se verá más adelante, la concentración de  $\alpha$ -tocoferol en este tratamiento es la más alta, pero la más baja en  $\gamma$ -tocoferol.

Aunque es difícil hacer comparaciones de TBARS entre ensayos por variaciones atribuidas a factores tales como método analítico empleado, condiciones de almacenamiento,

contenido de antioxidantes, etc., la concentración de TBARS hallada en la pata-muslo del tratamiento con chía extrusada no es de relevancia, dado que valores más altos fueron hallados en muslos con piel de pollos alimentados con diferentes fuentes de ácidos grasos como grasa bovina y aceites de lino, girasol y pescado. (197,545,586)

Se ha encontrado una gran resistencia en aves a la peroxidación lipídica (308,587), esto se debería a su bajo UI (581). Al aumentar el contenido de AGPI n-3 en carne de pollo con otras fuentes distintas a la chía como lino y/o aceite de pescado aumentó el UI y consecuentemente subió la concentración de TBARS (586). Pero cuando se utilizó semilla de chía como fuente de AGPI n-3 dichos valores de TBARS no aumentaron. La explicación encontrada fue que estarían actuando una serie de compuestos fenólicos con actividad antioxidantes presentes en la chía (239,585), y que no lo estarían en otras fuentes de AGPI n-3 como las antes citadas. (208)

Pese a que en el presente trabajo hubo interacción corte por tratamiento, en concordancia con Aksu et al. (588), las pechugas siempre arrojaron valores de TBARS levemente más bajos que los de pata-muslo.

#### *5.4.10.3 Quimioluminiscencia*

La peroxidación lipídica en su proceso genera un fotón, el cual puede ser cuantificado por quimioluminiscencia. Esta metodología es menos conocida que la determinación de TBARS pero muy útil para observar la cinética de la reacción en tiempo real y se ha encontrado una buena correlación entre ambas técnicas. (345)

La emisión lumínica está en función de la concentración de lípidos peroxidables, cuestión por la cual no se pueden comparar los cortes entre sí, dado que la pata-muslo siempre dará mayor quimioluminiscencia que la pechuga por su mayor contenido de lípidos. Esto ha sido

demostrado por Fagali & Catalá (589) quienes hallaron que la emisión lumínica aumenta al aumentar la concentración de lípidos.

Al observar la cinética de la peroxidación, el momento del pico máximo con ter-butil hidroperóxido se dio a los 7 minutos de incubación independientemente del tratamiento y el corte en cuestión, esta información concuerda con otros trabajos de la literatura donde usando ter-butil hidroperóxido (590) o hidroperóxido de cumeno (589) el tiempo para expresar el pico máximo fue de 5 y 15 minutos de incubación respectivamente en aceites ricos en AGPI n-3.

Estos dos prooxidantes son altamente reactivos, a diferencia de lo que ocurre habitualmente con otros iniciadores de la peroxidación lipídica como lo es el sistema ascorbato-hierro que muestra su pico entre los 40 y 60 minutos luego de comenzar la incubación (308,591). En pruebas preliminares con este sistema de ascorbato-hierro no se logró peroxidar el músculo de pollo, información que concuerda con lo expuesto por Gutiérrez et al. (308) al intentar fallidamente peroxidar microsomas de hígado, corazón y cerebro de ganso como así también mitocondrias de hígado y corazón de esta misma especie; en cambio dicho grupo sí logró peroxidar las mitocondrias de cerebro por su elevado contenido de DHA.

Hubo buena correlación entre el UI de las pata-muslo y sus respectivas quimioluminiscencia (sumatoria de cpm) con una asociación del 79%.

Al analizar la relación existente entre ambas metodologías para determinar la estabilidad oxidativa (TBARS y quimioluminiscencia) se halló una buena correlación en pata-muslo (75%), pero no así en pechuga (3%). Esto se podría deber a que en pechuga no hubo un dato que se destacara por sobre los demás, por lo que, tanto los datos de TBARS como en quimioluminiscencia se encontraron en un rango muy acotado de valores.

#### 5.4.10.4 Tocoferoles

Al producir carne de pollo con un mayor contenido de AGPI y por ende con un UI más alto, se corre el riesgo de sufrir daños oxidativos (592). Este proceso llevaría a un consumo de los antioxidantes suministrados en la dieta con lo cual bajaría la concentración de los mismos en la carne.

La presencia de antioxidantes como la vitamina E en la carne de pollo no solo ayuda a conservar las características organolépticas del producto (593), sino que esto son transferidos al consumidor con la consecuente mejora en su estatus oxidativo y su salud. (594-596)

Generalmente el contenido de tocoferoles en tejido muscular es inversamente proporcional al consumo de AGPI. (197)

Es por esto que la incorporación de oleaginosas o aceites vegetales ricos en antioxidantes naturales en la dieta de las aves podría ser una alternativa efectiva y económica para el control de la peroxidación lipídica post-faena además de incrementar estos nutrientes saludables en la dieta de las personas. (592)

En el presente trabajo no se encontraron diferencias en el contenido de tocoferoles entre tratamientos, pero sí entre cortes; apareciendo la pata-muslo con un 44,8 y 33,6% más de  $\alpha$ - y  $\gamma$ -tocoferol respectivamente que la pechuga. Estos resultados concuerdan con lo informado por otros autores en carne de pavo (597,598) y de pollo. (599,600)

La pata-muslo presentó un mayor contenido de tocoferoles que la pechuga, no obstante, mostró una tendencia a oxidarse con mayor facilidad. Algunos estudios (386,597,601) han reportado que los músculos de la pata son propensos a la oxidación por su mayor contenido de moléculas prooxidantes como la mioglobina y hierro libre en comparación con los músculos de la pechuga. Para lograr un equilibrio, las patas tendrían mayor actividad de sistemas enzimáticos antioxidantes que la pechuga. (599)

Por otra parte un determinado nivel de vitamina E podría parecer adecuado cuando el nivel de las otras sustancias (o nutrientes) antioxidantes es suficiente, pero cuando el nivel de los



otros cae, el efecto protector de ese nivel de vitamina E podría resultar ahora inadecuado. (594)

No obstante, tal y como lo muestran las pruebas de estabilidad oxidativa en carne de pollo, la chía tiene un gran poder antioxidante (239,585) que es capaz de transferirlo al pollo, pero no estaría asociado a un mayor contenido de tocoferoles.

#### **5.4.11 Análisis Sensorial**

Los factores de producción como el sistema de crianza y las dietas tienen una influencia directa sobre los atributos sensoriales (602). En diversos trabajos se ha demostrado que el contenido de AGPI n-3 de la carne de pollo, particularmente el ALA puede ser mejorado a través de la dieta lo que ha llevado a que se reporte un descenso de la calidad sensorial en este tipo de productos debido a la mayor susceptibilidad a la peroxidación lipídica en este tipo de carne. (351,603)

El análisis sensorial es una herramienta aplicada en el control de calidad, ya que permite estimar el grado de aceptación o rechazo por parte del consumidor. La necesidad de estudiar los hábitos alimenticios se ha acentuado a partir de la evolución de los mercados (604). El correcto conocimiento de las prácticas de consumo y la valoración alimentaria (salud y nutrición), resulta crucial en un país como la Argentina, donde la producción agroalimentaria constituye la base de su economía. (605)

Del análisis sensorial realizado en el presente estudio se observó que los únicos parámetros en los que se hallaron diferencias respecto del control fueron olor y sabor a chía en la pechuga del tratamiento con chía expeller.

La ausencia de diferencias significativas entre tratamientos en los parámetros sensoriales tanto en pata como en muslo podría estar asociada a que en estos cortes se depositó con preferencia el ALA, mientras que en la pechuga se depositaron los AGPI n-3 CL

(426,510,511) o bien debido a la mayor heterogeneidad de los músculos involucrados en estos cortes.

La conservación por 6 meses en freezer de la pechuga hizo que desaparecieran las diferencias entre tratamientos halladas en fresco, pero hizo que aparecieran algunas diferencias en color global y retrogusto.

La bibliografía es contradictoria en cuanto a la calidad sensorial de la carne de pollo con mayor contenido de AGPI n-3, mientras que hay autores que han detectado presencia de sabor atípico en carne de pollo alimentados con aceite de pescado (207,566) o su harina (606), otros no lo han hecho. (198)

La utilización de harina de pescado en la alimentación de aves tiende a producir menos sabores atípicos comparado con el aceite de pescado. A su vez, el reemplazo del aceite de pescado por aceite de lino mejoró las cualidades sensoriales de la carne, no obstante, se siguió encontrando un tenue sabor a pescado (566). Esta particularidad podría deberse a la mayor inestabilidad oxidativa del EPA y DHA respecto del ALA (208), que generarían productos volátiles como el hexanal, pentanal, propanal, entre otros. (607)

Como se dijera anteriormente, la chía expeller produjo carne de pollo con olor y sabor a chía más altos que el control, pero no sabor a pescado. Esto posiblemente se deba que en el caso de la chía prácticamente no hubo peroxidación lipídica durante el almacenamiento (TBARS) y en general la carne proveniente de los pollos alimentados con chía fue tan resistente a la peroxidación lipídica como la del control (quimioluminiscencia). Esto indicaría que a diferencia del pescado y el lino, la carga de antioxidantes presente en la chía es alta (239,585) pero, por los datos obtenidos, dichos antioxidantes no serían tocoferoles ni habría un ahorro de los mismos.

Por lo que se sugiere que el olor y sabor a chía serían el resultado de la alta inclusión de chía expeller (12,4%, promedio de los alimentos crecimiento y terminador) necesarios para alcanzar el 1,5% de ALA en la dieta; y por más que no sean desagradables, el consumidor podría rehusarse a ingerir un alimento con olor y sabor atípicos. (608-610)

La ausencia de características organolépticas atípicas en carne de pollos alimentados con chía molida o extrusada representan una ventaja comercial de estos procesos comparados con el lino, pescado y sus subproductos. (208)

A su vez, si comparamos el congelado vs. el fresco vemos cambios en diversos parámetros, que para el consumidor pueden resultar neutrales como el mayor brillo superficial y la mayor uniformidad de color; negativos como la intensidad de olor, olor rancio y sabor a hígado, sangre, metálico (todos mayores en el congelado); o bien, positivos como la reducción del número de masticaciones.

Por esto, es esencial saber a que tipo de mercado está dirigido el producto en cuestión, si este está orientado al consumo fresco, puede que se llegue a percibir algún olor o sabor extraño, pero si va a ser congelado no se debería notar la diferencia del uso de chía (con cualquiera de los tres procesos) respecto del control maíz – soja.

#### **5.4.12 Comparación entre fuentes vegetales y animales de n-3**

Luego de haber realizado la mayoría de las consideraciones comparando los diferentes procesos aplicados a la semilla de chía, vale la pena hacer la comparación de la chía con otras fuentes de AGPI n-3 en la alimentación de aves.

Al utilizar fuentes vegetales de AGPI n-3 (lino, chía) se incrementó el contenido de ALA y muy poco el de EPA y DPA (209). También se ha propuesto a la colza canola como una posible fuente de este tipo de ácidos grasos pero su desempeño como tal fue muy pobre (199) o nulo. (209)

El trabajo de Azcona et al. (209) hace una comparación entre diferentes fuentes a igual nivel de inclusión (15%), con lo que dejó de lado la cantidad de AGPI n-3 de cada una de las mismas.

Con el uso de derivados de pescado (aceite o harina) de origen marino (no de criadero), la incorporación de ALA fue prácticamente nula (211,566) pero permitió la incorporación

directa de los AGPI n-3 CL como el EPA, DPA y DHA (427,566) los cuales son metabólicamente más importantes desde el punto de vista de la salud humana. (44)

Otra alternativa es la utilización de algas marinas en la alimentación de aves. Mooney et al. (611) concluyeron que incluir 2,8% de algas marinas era equivalente a 2,1% de aceite de lacha tirana (menhaden) en términos de enriquecimiento de carcasas de pollo con AGPI n-3 CL.

Una alternativa intermedia sería combinar en el alimento de pollos cantidades muy bajas de harina o aceite de pescado (a niveles tales que no se perciban en el sabor de la carne de estos pollos) y agregar una fuente de origen vegetal para completar la cantidad de AGPI n-3 deseada. (566,612)

#### ***5.4.13 Aportes de ácidos grasos a la dieta humana***

En cuanto al aporte de ácidos grasos de cada corte se puede observar que con pechuga se provee básicamente AGPI n-3 CL y con una porción de 200g se cubriría del 20 al 43% de la IA (Tabla 3) de estos ácidos grasos. Es de esperar que el aporte de ácidos grasos de la pechuga sea mínimo dada su baja concentración de lípidos, en cambio la pata-muslo, con mayor contenido de lípidos, aportaría pocos AGPI n-3 CL en relación a la pechuga, aunque 200g de este corte estaría cubriendo entre el 29 y el 63% de la IA y de ALA entre el 39 y el 87% de la IA de este ácido graso.

En cuanto a la relación n-6/n-3 aunque ya se han encontrado beneficios para la salud con una relación por debajo de 10, donde empiezan a notarse que disminuye la agregación plaquetaria que se asocia a un menor esfuerzo cardíaco (613), en el presente estudio se puso como meta lograr una relación menor a 4, por más que se hayan encontrado mejoras en la salud humana con relaciones de n-6/n-3 de 2 a 2,5 (183). Hasta el momento, lo que se sabe es que cuanto más baja sea esta, mejor para el consumidor; en el presente ensayo se

logró disminuir la relación n-6/n-3 a valores entre 2,4 (con chía extrusada) y 3,3 (con chía molida) promedio de ambos cortes.

Con la información expuesta queda en evidencia que para cubrir la IA de ácidos grasos saludables (APGI n-3) no es suficiente con consumir pollo, incluso los pollos enriquecidos en ácidos grasos de la serie n-3, sino que a estos hay que incluirlos en el contexto de una dieta balanceada y saludable. De esta forma se ayudará a alcanzar las IA y recomendaciones de los diferentes nutrientes para mantenerse saludable.

## **6 CONCLUSIONES**

- 🐔 El aprovechamiento de la energía bruta fue mayor en chíá extrusada seguido de chíá expeller y por último chíá molida.
- 🐔 Los diferentes procesos aplicados a la semilla de chíá no produjeron cambios en su perfil de ácidos grasos.
- 🐔 Chíá molida y chíá extrusada no afectaron el desempeño de las aves respecto del control en la dosis necesaria para alcanzar un 1,5% de ácido  $\alpha$ -linolénico en la dieta; sin embargo, chíá expeller afectó negativamente la conversión y la relación peso/conversión.
- 🐔 Comparado con la dieta control a base de maíz-soja, se logró incrementar la concentración de ácidos grasos n-3 en carne de pollo obteniéndose los valores más altos con chíá extrusada, seguido de chíá expeller y por último chíá molida; por otra parte, pata-muslo y pechuga incorporaron cantidades similares de ácidos grasos n-3, aunque en pechuga predominó el depósito de ácidos grasos n-3 de cadena larga mientras que en pata-muslo predominó el de ácido  $\alpha$ -linolénico.
- 🐔 Con chíá, independientemente del proceso, se incrementó el contenido de ácido  $\alpha$ -linolénico en mayor medida, seguido por el ácido eicosapentaenoico y docosapentaenoico; pero no aumentó el docosahexaenoico respecto del control.
- 🐔 La carne de pollo enriquecida en ácidos grasos n-3 ha sido muy estable desde el punto de vista oxidativo, salvo la pata-muslo de pollos alimentados con chíá extrusada que arrojó un valor mayor que los demás, pero dicho valor no sería de relevancia.
- 🐔 En la cinética de la peroxidación lipídica el pico máximo se presentó a los 13 minutos sin encontrarse diferencias entre los tratamientos.
- 🐔 En el análisis sensorial no se hallaron diferencias en ninguno de los cortes de pollos alimentados con chíá molida o chíá extrusada en cantidad suficiente para alcanzar 1,5% de ácido  $\alpha$ -linolénico en la dieta; no obstante se encontró olor y sabor a chíá en

la pechuga de pollos alimentados con chía expeller, aunque desaparecieron luego de congelarla por 6 meses.

Con todo esto se puede concluir que:

- A partir de semilla de chía convenientemente procesada fue posible maximizar el aprovechamiento de sus nutrientes y obtener carne de pollo con mayor contenido de ácidos grasos n-3, no registrándose pérdidas en el desempeño de las aves ni rechazo por parte del consumidor.
- Es factible esperar que la carne enriquecida en ácidos grasos n-3 por adición de chía sea tan estable oxidativamente como aquella proveniente de pollos alimentados con una dieta estándar.



## **7 BIBLIOGRAFÍA**

- (1) Ahrens EH, Blankenhorn DH, Tsaltas TT. Effect on human serum lipids of substituting plant for animal fat in diet. *Proc Soc Exp Biol Med* 1954; 86(4):872-8.
- (2) Ahrens EH, Insull W, Hirsch J, Stoffel W, Peterson ML, Farquhar JW, et al. The effect on human serum-lipids of a dietary fat, highly unsaturated, but poor in essential fatty acids. *Lancet* 1959; 1(7064):115-9.
- (3) Keys A, Anderson JT, Grande F. Prediction of serum-cholesterol responses of man to changes in fats in the diet. *Lancet* 1957; 273(7003):959-66.
- (4) Keys A, Anderson JT, Grande F. Serum-cholesterol response to dietary fat. *Lancet* 1957; 269(6972):787.
- (5) Malmros H, Wigand G. Treatment of hypercholesteremia. *Minn Med* 1955; 38(12):864-70.
- (6) Bronte-Stewart B, Antonis A, Eales L, Brock JF. Effects of feeding different fats on serum-cholesterol level. *Lancet* 1956; 270(6922):521-6.
- (7) Worne HE, Smith LW. Effects of certain pure long chain polyunsaturated fatty acid esters on the blood lipids of man; preliminary studies on the use of polyunsaturated fatty acid in atherosclerosis. *Am J Med Sci* 1959; 237(6):710-21.
- (8) Nelson AM. Diet therapy in coronary disease: effect on mortality of high-protein, high-seafood, fat-controlled diet. *Geriatrics* 1972; 27(12):103-16.
- (9) Sinclair HM. Deficiency of essential fatty acids and atherosclerosis, etcetera. *Lancet* 1956; 270(6919):381-3.
- (10) Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clinical Nutrition* 1991; 54(3):438-63.
- (11) Burr ML, Fehily AM, Gilbert JF, Rogers S, Holliday RM, Sweetnam PM, et al. Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet* 1989; 2(8666):757-61.
- (12) de Lorgeril M, Renaud S, Mamelle N, Salen P, Martin JL, Monjaud I, et al. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet* 1994; 343(8911):1454-9.
- (13) de Lorgeril M, Salen P, Martin JL, Mamelle N, Monjaud I, Touboul P, et al. Effect of a mediterranean type of diet on the rate of cardiovascular complications in patients with coronary artery disease. Insights into the cardioprotective effect of certain nutriments. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28(5):1103-8.
- (14) de Lorgeril M, Salen P, Martin JL, Monjaud I, Delaye J, Mamelle N. Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon diet heart study. *Circulation* 1999; 99(6):779-85.
- (15) Appel LJ, Miller ER, III, Seidler AJ, Whelton PK. Does supplementation of diet with 'fish oil' reduce blood pressure? A meta-analysis of controlled clinical trials. *Arch Intern Med* 1993; 153(12):1429-38.

- (16) Morris MC, Sacks FM, Rosner BA. Fish oil to reduce blood pressure: a meta-analysis. *Ann Intern Med* 1994; 120 (suppl)(10).
- (17) Connor WE, Prince MJ, Ullmann D, Riddle M, Hatcher L, Smith FE, et al. The hypotriglyceridemic effect of fish oil in adult-onset diabetes without adverse glucose control. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 683:337-40.
- (18) Raheja BS, Sadikot SM, Phatak RB, Rao MB. Significance of the N-6/N-3 ratio for insulin action in diabetes. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 683:258-71.
- (19) De Caterina R, Caprioli R, Giannessi D, Sicari R, Galli C, Lazzerini G, et al. n-3 fatty acids reduce proteinuria in patients with chronic glomerular disease. *Kidney Int* 1993; 44(4):843-50.
- (20) Donadio JV, Bergstralh EJ, Offord KP, Spencer DC, Holley KE. A controlled trial of fish oil in IgA nephropathy. *N Engl J Med* 1994; 331(18):1194-9.
- (21) Kremer J. Effects of modulation of inflammatory and immune parameters in patients with rheumatic and inflammatory disease receiving dietary supplementation of n-3 and n-6 fatty acids. *Lipids* 1996; 31(1):S243-S247.
- (22) Stenson WF, Cort D, Rodgers J, Burakoff R, DeSchryver-Kecsckemeti K, Gramlich TL, et al. Dietary supplementation with fish oil in ulcerative colitis. *Ann Intern Med* 1992; 116(8):609-14.
- (23) Belluzzi A, Brignola C, Campieri M, Pera A, Boschi S, Miglioli M. Effect of an enteric-coated fish-oil preparation on relapses in Crohn's disease. *N Engl J Med* 1996; 334(24):1557-60.
- (24) Shahar E, Folsom AR, Melnick SL, Tockman MS, Comstock GW, Gennaro V, et al. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and smoking-related chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 1994; 331(4):228-33.
- (25) De Blas JC, Álvarez C, Cachaldora P, García-Rebollar P, Méndez J. Calidad sensorial de huevos y carne de aves enriquecidos en ácidos grasos omega-3 y ácido linoleico conjugado. En: García-Rebollar P, De Blas JC, González-Mateos G, editores. XXI Curso de Especialización FEDNA. Madrid, España: FEDNA, 2005. p. 15-34.
- (26) Gómez Dumm IN, Brenner RR. Oxidative desaturation of alpha-linoleic, linoleic, and stearic acids by human liver microsomes. *Lipids* 1975; 10(6):315-7.
- (27) Emken EA, Adlof RO, Hachey DL, Garza C, Thomas MR, Brown-Booth L. Incorporation of deuterium-labeled fatty acids into human milk, plasma, and lipoprotein phospholipids and cholesteryl esters. *J Lipid Res* 1989; 30(3):395-402.
- (28) Hagve TA, Christophersen BO. Effect of dietary fats on arachidonic acid and eicosapentaenoic acid biosynthesis and conversion to C22 fatty acids in isolated rat liver cells. *Biochim Biophys Acta* 1984; 796(2):205-17.
- (29) Hagve TA, Christophersen BO. Evidence for peroxisomal retroconversion of adrenic acid (22:4(n-6)) and docosahexaenoic acids (22:6(n-3)) in isolated liver cells. *Biochim Biophys Acta* 1986; 875(2):165-73.

- (30) Innis SM. Essential fatty acids in growth and development. *Prog Lipid Res* 1991; 30(1):39-103.
- (31) Innis SM. Essential fatty acid transfer and fetal development. *Placenta* 2005; 26 Suppl A:S70-S75.
- (32) Carlson SE, Rhodes PG, Ferguson MG. Docosahexaenoic acid status of preterm infants at birth and following feeding with human milk or formula. *Am J Clinical Nutrition* 1986; 44(6):798-804.
- (33) Singer P, Jaeger W, Voigt S, Thiel H. Defective desaturation and elongation of n-6 and n-3 fatty acids in hypertensive patients. *Prostaglandins Leukot Med* 1984; 15(2):159-65.
- (34) Honigmann G, Schimke E, Beitz J, Mest HJ, Schliack V. Influence of a diet rich in linolenic acid on lipids, thrombocyte aggregation and prostaglandins in type I (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 1982; 23:175.
- (35) Simopoulos AP, Kifer RR, Martin RE, eds. Health effects of polyunsaturated fatty acids in seafoods. Orlando, FL: Academic Press, 1986.
- (36) Bezard J, Blond JP, Bernard A, Clouet P. The metabolism and availability of essential fatty acids in animal and human tissues. *Reprod Nutr Dev* 1994; 34(6):539-68.
- (37) O'Brien JS, Sampson EL. Fatty acid and fatty aldehyde composition of the major brain lipids in normal human gray matter, white matter, and myelin. *J Lipid Res* 1965; 6(4):545-51.
- (38) Anderson RE. Lipids of ocular tissues. IV. A comparison of the phospholipids from the retina of six mammalian species. *Exp Eye Res* 1970; 10(2):339-44.
- (39) Poulos A, Darin-Bennett A, White IG. The phospholipid-bound fatty acids and aldehydes of mammalian spermatozoa. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 1973; 46(3):541-9.
- (40) Eaton SB, Konner M. Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. *N Engl J Med* 1985; 312(5):283-9.
- (41) Leaf A, Weber PC. A new era for science in nutrition. *Am J Clinical Nutrition* 1987; 45(5):1048-53.
- (42) Simopoulos AP. Genetics and nutrition: or what your genes can tell you about nutrition. *World Rev Nutr Diet* 1990; 63:25-34.
- (43) Simopoulos AP. Evolutionary aspects of diet: fatty acids, insulin resistance and obesity. En: VanItallie TB, Simopoulos AP, editores. *Obesity: New Directions in Assessment and Management*. Philadelphia, PA: Charles Press, 1995. p. 241-61.
- (44) Simopoulos AP. Human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. *Poult Sci* 2000; 79(7):961-70.

- (45) Weber PC. Are we what we eat? Fatty acids in nutrition and in cell membranes: Cell functions and disorders induced by dietary conditions. *Fish Fats and Your Health*. Svanoybukt, Norway: Svanoy Foundation, 1989. p. 9-18.
- (46) Renaud S. Linoleic acid, platelet aggregation and myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1990; 80(3):255-6.
- (47) Endres S, Ghorbani R, Kelley VE, Georgilis K, Lonnemann G, van der Meer JW, et al. The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *N Engl J Med* 1989; 320(5):265-71.
- (48) Abbey M, Belling GB, Noakes M, Hirata F, Nestel PJ. Oxidation of low-density lipoproteins: intraindividual variability and the effect of dietary linoleate supplementation. *Am J Clinical Nutrition* 1993; 57(3):391-8.
- (49) Reaven P, Parthasarathy S, Grasse BJ, Miller E, Almazan F, Mattson FH, et al. Feasibility of using an oleate-rich diet to reduce the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification in humans. *Am J Clinical Nutrition* 1991; 54(4):701-6.
- (50) Crawford MA. Fatty-acid ratios in free-living and domestic animals. Possible implications for atheroma. *Lancet* 1968; 1(7556):1329-33.
- (51) van Vliet T, Katan MB. Lower ratio of n-3 to n-6 fatty acids in cultured than in wild fish. *Am J Clinical Nutrition* 1990; 51(1):1-2.
- (52) Simopoulos AP, Salem N, Jr. n-3 fatty acids in eggs from range-fed Greek chickens. *N Engl J Med* 1989; 321(20):1412.
- (53) Simopoulos AP, Salem N, Jr. Egg yolk as a source of long-chain polyunsaturated fatty acids in infant feeding. *Am J Clinical Nutrition* 1992; 55(2):411-4.
- (54) Kirshenbauer HG. *Fats and oils*. 2nd ed. New York: Reinhold Publishing, 1960.
- (55) Grundy SM. Trans monounsaturated fatty acids and serum cholesterol levels. *N Engl J Med* 1990; 323(7):480-1.
- (56) Mensink RP, Katan MB. Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *N Engl J Med* 1990; 323(7):439-45.
- (57) Goodman DS, Hulley SB, Clark LT, Davis CE, Fuster V, LaRosa JC, et al. Report of the National Cholesterol Education Program expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. *Arch Intern Med* 1988; 148(1):36-69.
- (58) Ledger HP. Body composition as a basis for a comparative study of some East African mammals. *Symposium of the Zoological Society of London* 1968; 21:289-310.
- (59) Wei Wo CK, Draper HH. Vitamin E status of Alaskan Eskimos. *Am J Clinical Nutrition* 1975; 28(8):808-13.

- (60) Crawford MA, Gale MM, Woodford MH. Linoleic acid and linolenic acid elongation products in muscle tissue of *Syncerus caffer* and other ruminant species. *Biochem J* 1969; 115(1):25-7.
- (61) Descalzo AM, Insani EM, Biolatto A, Sancho AM, García PT, Pense NA, et al. Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Sci* 2005; 70(1):35-44.
- (62) Hunter JE. Omega-3 fatty acids from vegetable oils. En: Galli C, Simopoulos AP, editores. *Dietary  $\omega$ 3 and  $\omega$ 6 fatty acids: biological effects and nutritional essentiality*. New York: Plenum Press, 1989. p. 43-55.
- (63) Simopoulos AP, Salem N, Jr. Purslane: a terrestrial source of omega-3 fatty acids. *N Engl J Med* 1986; 315(13):833.
- (64) Leaf A, Weber PC. Cardiovascular effects of n-3 fatty acids. *N Engl J Med* 1988; 318(9):549-57.
- (65) Leaf A. Cardiovascular effects of fish oils. Beyond the platelet. *Circulation* 1990; 82(2):624-8.
- (66) Simopoulos AP, Kifer RR, Martin RE, Barlow SM, eds. *Health effects of  $\omega$ 3 polyunsaturated fatty acids in seafoods*. 1st ed. Switzerland: Karger, 1991.
- (67) von Schacky C. Prophylaxis of atherosclerosis with marine omega-3 fatty acids: A comprehensive strategy. *Ann Intern Med* 1988; 107:890-9.
- (68) Weber PC, Leaf A. Cardiovascular effects of omega 3 fatty acids. Atherosclerosis risk factor modification by omega 3 fatty acids. *World Rev Nutr Diet* 1991; 66:218-32.
- (69) Clarke SD, Jump DB. Dietary polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription. *Annu Rev Nutr* 1994; 14:83-98.
- (70) Graber R, Sumida C, Núñez EA. Fatty acids and cell signal transduction. *J Lipid Mediat Cell Signal* 1994; 9(2):91-116.
- (71) Lauritzen L, Hansen HS, Jorgensen MH, Michaelsen KF. The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. *Prog Lipid Res* 2001; 40(1-2):1-94.
- (72) Yehuda S, Rabinovitz S, Mostofsky DI. Essential fatty acids are mediators of brain biochemistry and cognitive functions. *J Neurosci Res* 1999; 56(6):565-70.
- (73) Sun GY, Sun AY. Synaptosomal plasma membranes: Acyl group composition of phosphoglycerides and (Na<sup>+</sup> plus K<sup>+</sup>)-ATPase activity during fatty acid deficiency. *J Neurochem* 1974; 22(1):15-8.
- (74) Martin RE, Bazan NG. Changing fatty acid content of growth cone lipids prior to synaptogenesis. *J Neurochem* 1992; 59(1):318-25.

- (75) Delion S, Chalon S, Herault J, Guilloteau D, Besnard JC, Durand G. Chronic dietary  $\alpha$ -linolenic acid deficiency alters dopaminergic and serotonergic neurotransmission in rats. *J Nutr* 1994; 124(12):2466-76.
- (76) Neuringer M, Anderson GJ, Connor WE. The essentiality of n-3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. *Annu Rev Nutr* 1988; 8:517-41.
- (77) L'Hirondel M, Cheramy A, Godeheu G, Glowinski J. Effects of arachidonic acid on dopamine synthesis, spontaneous release, and uptake in striatal synaptosomes from the rat. *J Neurochem* 1995; 64(3):1406-9.
- (78) Matsuo T, Sumida H, Suzuki M. Beef tallow diet decreases norepinephrine turnover rates in rat hypothalamus and cerebral cortex. *Metabolism* 1995; 44(11):1377-9.
- (79) Methot N, Demers CN, Baenziger JE. Structure of both the ligand- and lipid-dependent channel-inactive states of the nicotinic acetylcholine receptor probed by FTIR spectroscopy and hydrogen exchange. *Biochemistry* 1995; 34(46):15142-9.
- (80) Yamamoto N, Saitoh M, Moriuchi A, Nomura M, Okuyama H. Effect of dietary alpha-linolenate/linoleate balance on brain lipid compositions and learning ability of rats. *J Lipid Res* 1987; 28(2):144-51.
- (81) Neuringer M, Reisbick S, Janowsky J. The role of n-3 fatty acids in visual and cognitive development: current evidence and methods of assessment. *J Pediatr* 1994; 125(5 Pt 2):S39-S47.
- (82) Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr* 2002; 21(6):495-505.
- (83) Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, Gupta RA, Simon LS, De Putte AV, et al. Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB J* 1998; 12(12):1063-73.
- (84) Smith WL, Garavito RM, DeWitt DL. Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and -2. *J Biol Chem* 1996; 271(52):33157-60.
- (85) Tai H, Miyaura C, Pilbeam CC, Tamura T, Ohsugi Y, Koishihara Y, et al. Transcriptional induction of cyclooxygenase-2 in osteoblasts is involved in interleukin-6-induced osteoclast formation. *Endocrinology* 1997; 138(6):2372-9.
- (86) Ayoub SS, Botting RM, Goorha S, Colville-Nash PR, Willoughby DA, Ballou LR. Acetaminophen-induced hypothermia in mice is mediated by a prostaglandin endoperoxide synthase 1 gene-derived protein. *PNAS* 2004; 101(30):11165-9.
- (87) Ekblad E, Bauer AJ. Role of vasoactive intestinal peptide and inflammatory mediators in enteric neuronal plasticity. *Neurogastroenterol Motil* 2004; 16(s1):123-8.
- (88) Kis B, Snipes JA, Isse T, Nagy K, Busija DW. Putative cyclooxygenase-3 expression in rat brain cells. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003; 23(11):1287-92.
- (89) Shafteel SS, Olschowka JA, Hurley SD, Moore AH, O'Banion MK. COX-3: A splice variant of cyclooxygenase-1 in mouse neural tissue and cells. *Brain Res Mol Brain Res* 2003; 119(2):213-5.

- (90) Simmons DL. Variants of cyclooxygenase-1 and their roles in medicine. *Thromb Res* 2003; 110(5-6):265-8.
- (91) Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KLT, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression. *PNAS* 2002; 99(21):13926-31.
- (92) Hinz B, Brune K. Pain and osteoarthritis: new drugs and mechanisms. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16(5).
- (93) Corey EJ, Shih C, Cashman JR. Docosahexaenoic acid is a strong inhibitor of prostaglandin but not leukotriene biosynthesis. *PNAS* 1983; 80(12):3581-4.
- (94) Porter NA, Caldwell SE, Mills KA. Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids* 1995; 30(4):277-90.
- (95) Capdevila JH, Falck JR, Harris RC. Cytochrome P450 and arachidonic acid bioactivation: Molecular and functional properties of the arachidonate monooxygenase. *J Lipid Res* 2000; 41(2):163-81.
- (96) Serhan CN, Oliy E. Unorthodox routes to prostanoid formation: New twists in cyclooxygenase-initiated pathways. *J Clin Invest* 2001; 107(12):1481-9.
- (97) Lewis RA, Lee TH, Austen KF. Effects of omega-3 fatty acids on the generation of products of the 5-lipoxygenase pathway. En: Simopoulos AP, Kifer RR, Martin RE, editores. *Health Effects of Polyunsaturated Fatty Acids in Seafoods*. Orlando, FL: Academic Press, 1986. p. 227-38.
- (98) Weber PC, Fischer S, von Schacky C, Lorenz R, Strasser T. Dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids and eicosanoid formation in man. En: Simopoulos AP, Kifer RR, Martin RE, editores. *Health Effects of Polyunsaturated Fatty Acids in Seafoods*. Orlando, FL: Academic Press, 1986. p. 49-60.
- (99) Brox JH, Killie JE, Osterud B, Holme S, Nordoy A. Effects of cod liver oil on platelets and coagulation in familial hypercholesterolemia (type IIa). *Acta Med Scand* 1983; 213(2):137-44.
- (100) Joist JH, Baker RK, Schonfeld G. Increased in vivo and in vitro platelet function in type II- and type IV-hyperlipoproteinemia. *Thromb Res* 1979; 15(1-2):95-108.
- (101) Thies F, Garry JM, Yaqoob P, Rerkasem K, Williams J, Shearman CP, et al. Association of n-3 polyunsaturated fatty acids with stability of atherosclerotic plaques: a randomised controlled trial. *Lancet* 2003; 361(9356):477-85.
- (102) Power GW, Newsholme EA. Dietary fatty acids influence the activity and metabolic control of mitochondrial carnitine palmitoyltransferase I in rat heart and skeletal muscle. *J Nutr* 1997; 127(11):2142-50.
- (103) Takada R, Saitoh M, Mori T. Dietary  $\gamma$ -linolenic acid-enriched oil reduces body fat content and induces liver enzyme activities relating to fatty acid  $\beta$ -oxidation in rats. *J Nutr* 1994; 124(4):469-74.



- (104) Miller CC, Ziboh VA. Induction of epidermal hyperproliferation by topical n-3 polyunsaturated fatty acids on guinea pig skin linked to decreased levels of 13-hydroxyoctadecadienoic acid (13-hode). *J Invest Dermatol* 1990; 94(3):353-8.
- (105) Kidwell WR. Fatty acid growth requirements of normal and neoplastic mammary epithelium. *Prog Clin Biol Res* 1986; 222:699-706.
- (106) Lambe KG, Tugwood JD. A human peroxisome-polifacto-activated receptor-gamma is activated by inducers of adipogenesis, including thiazolidinedione drugs. *Eur J Biochem* 1996; 239(1):83-98.
- (107) Jump DB, Clarke SD, MacDougald O, Thelen A. Polyunsaturated fatty acids inhibit S14 gene transcription in rat liver and cultured hepatocytes. *PNAS* 1993; 90(18):8454-8.
- (108) Jump DB, Clarke SD, Thelen A, Liimatta M. Coordinate regulation of glycolytic and lipogenic gene expression by polyunsaturated fatty acids. *J Lipid Res* 1994; 35(6):1076-84.
- (109) Jump DB, Clarke SD. Regulation of gene expression by dietary fat. *Annu Rev Nutr* 1999; 19:63-90.
- (110) Mohrhauer H, Christiansen K, Gan MV, Deubig M, Holman RT. Chain elongation of linoleic acid and its inhibition by other fatty acids in vitro. *J Biol Chem* 1967; 242(19):4507-14.
- (111) Clarke SD, Jump DB. Regulation of hepatic gene expression by dietary fats: a unique role for polyunsaturated fatty acids. En: Berdanier CD, Hargrove JL, editores. *Nutrition and Gene Expression*. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1993. p. 227-45.
- (112) Guerre-Millo M, Gervois P, Raspe E, Madsen L, Poulain P, Derudas B, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  activators improve insulin sensitivity and reduce adiposity. *J Biol Chem* 2000; 275(22):16638-42.
- (113) Ye JM, Doyle PJ, Iglesias MA, Watson DG, Cooney GJ, Kraegen EW. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- $\alpha$  activation lowers muscle lipids and improves insulin sensitivity in high fat-fed rats: Comparison With PPAR- $\gamma$  Activation. *Diabetes* 2001; 50(2):411-7.
- (114) Storlien LH, Hulbert AJ, Else PL. Polyunsaturated fatty acids, membrane function and metabolic diseases such as diabetes and obesity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1998; 1(6):559-63.
- (115) Enfermedades Crónicas. 2010;[1 páginas]. Disponible en: URL:[http://es.wikipedia.org/wiki/Enfermedad\\_cr%C3%B3nica](http://es.wikipedia.org/wiki/Enfermedad_cr%C3%B3nica).
- (116) Organización Mundial de la Salud. Enfermedades cardiovasculares. 2009;[3 páginas]. Disponible en: URL:<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/print.html>. Acceso May 15, 2010.

- (117) Kris-Etherton PM, Daniels SR, Eckel RH, Engler M, Howard BV, Krauss RM, et al. Summary of the scientific conference on dietary fatty acids and cardiovascular health: Conference summary from the nutrition committee of the American Heart Association. *Circulation* 2001; 103(7):1034-9.
- (118) Demaison L, Moreau D. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and coronary heart disease-related mortality: A possible mechanism of action. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59(3):463-77.
- (119) Charnock JS. Antiarrhythmic effects of fish oils. *World Rev Nutr Diet* 1991; 66:278-91.
- (120) Reibel DK, Holahan MA, Hock CE. Effects of dietary fish oil on cardiac responsiveness to adrenoceptor stimulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1988; 254(3):H494-H499.
- (121) Christensen JH, Skou HA, Fog L, Hansen VE, Vesterlund T, Dyerberg J, et al. Marine n-3 fatty acids, wine intake, and heart rate variability in patients referred for coronary angiography. *Circulation* 2001; 103(5):651-7.
- (122) Albert CM, Campos H, Stampfer MJ, Ridker PM, Manson JE, Willett WC, et al. Blood levels of long-chain n-3 fatty acids and the risk of sudden death. *N Engl J Med* 2002; 346(15):1113-8.
- (123) Siscovick DS, Raghunathan TE, King I, Weinmann S, Wicklund KG, Albright J, et al. Dietary intake and cell membrane levels of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and the risk of primary cardiac arrest. *JAMA* 1995; 274(17):1363-7.
- (124) GISSI Investigators. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico. *Lancet* 1999; 354(9177):447-55.
- (125) Bruckner G. Biological effects of polyunsaturated fatty acids. En: Chow KC, editor. *Fatty Acids in Food and their Health Implications*. New York: Marcel Dekker, 1992. p. 735-52.
- (126) Ayerza R, Coates W. Chía. Redescubriendo un olvidado alimento de los aztecas. 1st ed. Buenos Aires, Argentina: Del Nuevo Extremo, 2006.
- (127) Phillipson BE, Rothrock DW, Connor WE, Harris WS, Illingworth DR. Reduction of plasma lipids, lipoproteins, and apoproteins by dietary fish oils in patients with hypertriglyceridemia. *N Engl J Med* 1985; 312(19):1210-6.
- (128) Nestel PJ. Fish oil attenuates the cholesterol induced rise in lipoprotein cholesterol. *Am J Clinical Nutrition* 1986; 43(5):752-7.
- (129) Nestel PJ, Connor WE, Reardon MF, Connor SL, Wong S, Boston R. Suppression by diets rich in fish oil of very low density lipoprotein production in man. *J Clin Invest* 1984; 74(1):82-9.
- (130) Simopoulos AP. Fatty acids. En: Goldberg I, editor. *Functional Foods*. New York: Chapman & Hall, 1994. p. 355-91.

- (131) Shaw JT, Purdie DM, Neil HA, Levy JC, Turner RC. The relative risks of hyperglycaemia, obesity and dyslipidaemia in the relatives of patients with Type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 1999; 42(1):24-7.
- (132) Borkman M, Storlien LH, Pan DA, Jenkins AB, Chisholm DJ, Campbell LV. The relation between insulin sensitivity and the fatty-acid composition of skeletal-muscle phospholipids. *N Engl J Med* 1993; 328(4):238-44.
- (133) Calvani M, Benatti P. Polyunsaturated fatty acids (PUFA). 2003;[56 páginas]. Disponible en: URL:[http://www.st-hs.it/TMA\\_Forum/PUFA%20-%20Calvani%20Benatti%20-%20Feb%202K3.pdf](http://www.st-hs.it/TMA_Forum/PUFA%20-%20Calvani%20Benatti%20-%20Feb%202K3.pdf). Acceso Mar 16, 2010.
- (134) Simopoulos AP. Fatty acid composition of skeletal muscle membrane phospholipids, insulin resistance and obesity. *Nutr Today* 1994; 29(1):12-6.
- (135) Simopoulos AP. Is insulin resistance influenced by dietary linoleic acid and trans fatty acids? *Free Radic Biol Med* 1994; 17(4):367-72.
- (136) Yam D, Eliraz A, Berry EM. Diet and disease--the Israeli paradox: possible dangers of a high omega-6 polyunsaturated fatty acid diet. *Isr J Med Sci* 1996; 32(11):1134-43.
- (137) Baur LA, O'Connor J, Pan DA, Storlien LH. Relationships between maternal risk of insulin resistance and the child's muscle membrane fatty acid composition. *Diabetes* 1999; 48(1):112-6.
- (138) Rojo-Martinez G, Soriguer FJ, González-Romero S, Tinahones F, Moreno F, de Adana SR, et al. Serum leptin and habitual fatty acid dietary intake in patients with type 1 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol* 2000; 142(3):263-8.
- (139) Reseland JE, Haugen F, Hollung K, Solvoll K, Halvorsen B, Brude IR, et al. Reduction of leptin gene expression by dietary polyunsaturated fatty acids. *J Lipid Res* 2001; 42(5):743-50.
- (140) Shapiro AC, Wu D, Meydani SN. Eicosanoids derived from arachidonic and eicosapentaenoic acids inhibit T cell proliferative response. *Prostaglandins* 1993; 45(3):229-40.
- (141) Meydani SN, Dinarello CA. Influence of dietary fatty acids on cytokine production and its clinical implications. *Nutr Clin Pract* 1993; 8(2):65-72.
- (142) James MJ, Gibson RA, Cleland LG. Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production1. *Am J Clinical Nutrition* 2000; 71(1):343S-348.
- (143) Wander RC, Hall JA, Gradin JL, Du SH, Jewell DE. The ratio of dietary (n-6) to (n-3) fatty acids influences immune system function, eicosanoid metabolism, lipid peroxidation and vitamin E status in aged dogs. *J Nutr* 1997; 127(6):1198-205.
- (144) Serhan CN, Arita M, Hong S, Gotlinger K. Resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins, novel omega-3-derived mediators, and their endogenous aspirin-triggered epimers. *Lipids* 2004; 39(11):1125-32.

- (145) Cleland LG, James MJ, Proudman SM. The role of fish oils in the treatment of rheumatoid arthritis. *Drugs* 2003; 63:845-53.
- (146) Curtis CL, Hughes CE, Flannery CR, Little CB, Harwood JL, Caterson B. n-3 fatty acids specifically modulate catabolic factors involved in articular cartilage degradation. *J Biol Chem* 2000; 275(2):721-4.
- (147) Mayser P, Grimm H, Grimminger F. n-3 fatty acids in psoriasis. *Br J Nutr* 2002; 87 Suppl 1:S77-S82.
- (148) Bruinsma KA, Taren DL. Dieting, essential fatty acid intake, and depression. *Nutr Rev* 2000; 58(4):98-108.
- (149) Tapia A. Ácidos grasos omega-3 para la prevención y tratamiento de las depresiones en el embarazo y post parto. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2004; 69(5):399-403.
- (150) Frasure-Smith N, Lesperance F, Julien P. Major depression is associated with lower omega-3 fatty acid levels in patients with recent acute coronary syndromes. *Biol Psychiatry* 2004; 55(9):891-6.
- (151) Mamalakis G, Kiriakakis M, Tsibinos G, Kafatos A. Depression and adipose polyunsaturated fatty acids in the survivors of the Seven Countries Study population of Crete. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2004; 70(6):495-501.
- (152) Peet M, Shah S, Selvam K, Ramchand CN. Polyunsaturated fatty acid levels in red cell membranes of unmedicated schizophrenic patients. *World J Biol Psychiatry* 2004; 5(2):92-9.
- (153) Nemets B, Stahl Z, Belmaker RH. Addition of Omega-3 Fatty Acid to Maintenance Medication Treatment for Recurrent Unipolar Depressive Disorder. *Am J Psychiatry* 2002; 159(3):477-9.
- (154) Puri BK, Counsell SJ, Hamilton G, Richardson AJ, Horrobin DF. Eicosapentaenoic acid in treatment-resistant depression associated with symptom remission, structural brain changes and reduced neuronal phospholipid turnover. *Int J Clin Pract* 2001; 55(8):560-3.
- (155) Hilakivi-Clarke L, Stoica A, Raygada M, Martin M. Consumption of a high-fat diet alters estrogen receptor content, protein kinase C activity, and mammary gland morphology in virgin and pregnant mice and female offspring. *Cancer Res* 1998; 58(4):654-60.
- (156) Jiang WG, Bryce RP, Horrobin DF. Essential fatty acids: molecular and cellular basis of their anti-cancer action and clinical implications. *Crit Rev Oncol Hematol* 1998; 27(3):179-209.
- (157) Rose DP. Effects of dietary fatty acids on breast and prostate cancers: evidence from in vitro experiments and animal studies. *Am J Clinical Nutrition* 1997; 66(6):1513S-1522.

- (158) Fay MP, Freedman LS, Clifford CK, Midthune DN. Effect of different types and amounts of fat on the development of mammary tumors in rodents: A review. *Cancer Res* 1997; 57(18):3979-88.
- (159) Hilakivi-Clarke L, Onojafe I, Raygada M, Cho E, Clarke R, Lippman ME. Breast cancer risk in rats fed a diet high in n-6 polyunsaturated fatty acids during pregnancy. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88(24):1821-7.
- (160) Hilakivi-Clarke L, Clarke R, Onojafe I, Raygada M, Cho E, Lippman ME. A maternal diet high in n-6 polyunsaturated fats alters mammary gland development, puberty onset, and breast cancer risk among female rat offspring. *PNAS* 1997; 94(17):9372-7.
- (161) Caygill CP, Hill MJ. Fish, n-3 fatty acids and human colorectal and breast cancer mortality. *Eur J Cancer Prev* 1995; 4(4):329-32.
- (162) Caygill CP, Charlet A, Hill MJ. Fat, fish, fish oil and cancer. *British Journal of Cancer* 1997; 74:159-64.
- (163) Gaard M, Tretli S, Loken EB. Dietary factors and risk of colon cancer: a prospective study of 50,535 young Norwegian men and women. *Eur J Cancer Prev* 1996; 5(6):445-54.
- (164) Schloss I, Kidd MS, Tichelaar HY, Young GO, O'Keefe SJ. Dietary factors associated with a low risk of colon cancer in coloured west coast fishermen. *S Afr Med J* 1997; 87(2):152-8.
- (165) Whitehouse AS, Smith HJ, Drake JL, Tisdale MJ. Mechanism of attenuation of skeletal muscle protein catabolism in cancer cachexia by eicosapentaenoic acid. *Cancer Res* 2001; 61(9):3604-9.
- (166) Smith HJ, Lorite MJ, Tisdale MJ. Effect of a cancer cachectic factor on protein synthesis/degradation in murine C2C12 myoblasts: Modulation by eicosapentaenoic acid. *Cancer Res* 1999; 59(21):5507-13.
- (167) Barber MD, Ross JA, Voss AC, Tisdale MJ, Fearon KC. The effect of an oral nutritional supplement enriched with fish oil on weight-loss in patients with pancreatic cancer. *Br J Cancer* 1999; 81(1):80-6.
- (168) Hussey HJ, Tisdale MJ. Effect of a cachectic factor on carbohydrate metabolism and attenuation by eicosapentaenoic acid. *Br J Cancer* 1999; 80(8):1231-5.
- (169) Tisdale MJ. Inhibition of lipolysis and muscle protein degradation by EPA in cancer cachexia. *Nutrition* 1996; 12(1 Suppl):S31-S33.
- (170) Billeaud C, Bougle D, Sarda P, Combe N, Mazette S, Babin F, et al. Effects of preterm infant formula supplementation with alpha-linolenic acid with a linoleate/alpha-linolenate ratio of 6: A multicentric study. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51(8):520-6.
- (171) Brenna JT. Efficiency of conversion of alpha-linolenic acid to long chain n-3 fatty acids in man. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002; 5(2):127-32.

- (172) Burdge GC, Jones AE, Wootton SA. Eicosapentaenoic and docosapentaenoic acids are the principal products of alpha-linolenic acid metabolism in young men. *Br J Nutr* 2002; 88(4):355-63.
- (173) Ayerza R, Coates W. Dietary levels of chia: influence on yolk cholesterol, lipid content and fatty acid composition for two strains of hens. *Poult Sci* 2000; 79(5):724-39.
- (174) Kwok T, Woo J, Ho S, Sham A. Vegetarianism and ischemic heart disease in older chinese women. *J Am Coll Nutr* 2000; 19(5):622-7.
- (175) Li D, Sinclair AJ, Wilson A, Nakkote S, Kelly F, Abedin L, et al. Effect of dietary  $\alpha$ -linolenic acid on thrombotic risk factors in vegetarian men. *Am J Clinical Nutrition* 1999; 69(5):872-82.
- (176) Williard DE, Harmon SD, Kaduce TL, Preuss M, Moore SA, Robbins MEC, et al. Docosahexaenoic acid synthesis from n-3 polyunsaturated fatty acids in differentiated rat brain astrocytes. *J Lipid Res* 2001; 42(9):1368-76.
- (177) Simopoulos AP, Salem N, Jr. Fatty acids and lipids from cell biology to human disease. *Lipids* 1996; 31(1):S1.
- (178) Indu M, Ghafoorunissa. n-3 fatty acids in Indian diets -- Comparison of the effects of precursor (alpha-linolenic acid) vs product (long chain n-3 poly unsaturated fatty acids). *Nutr Res* 2004; 12(4-5):569-82.
- (179) Mantzioris E, James MJ, Gibson RA, Cleland LG. Dietary substitution with an alpha-linolenic acid-rich vegetable oil increases eicosapentaenoic acid concentrations in tissues. *Am J Clinical Nutrition* 1994; 59(6):1304-9.
- (180) Emken EA, Adlof RO, Gulley RM. Dietary linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic and linolenic acids in young adult males. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1213(3):277-88.
- (181) Simopoulos AP, Leaf A, Salem N, Jr. Essentiality of and recommended dietary intakes for n-6 and n-3 fatty acids. *J Am Coll Nutr* 1999; 18(5):127-30.
- (182) Galli C, Calder PC. Effects of fat and fatty acid intake on inflammatory and immune responses: a critical review. *Ann Nutr Metab* 2009; 55(1-3):123-39.
- (183) Simopoulos AP. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomed Pharmacother* 2006; 60(9):502-7.
- (184) Ackman RG. Fatty acids in fish and shellfish. En: Chow KC, editor. *Fatty Acids in Food and their Health Implications*. New York: Marcel Dekker, 1992. p. 169-84.
- (185) Castro-González MI. Ácidos grasos omega 3: Beneficios y fuentes. *INCI* 2002; 27(3):128-36.
- (186) Chow KC. *Fatty acids in foods and their health implications*. New York: Marcel Dekker, 1992.

- (187) Dupont J. Fats and oils. En: Sadler M, editor. Encyclopedia of Human Nutrition. New York: Academic Press, 1999. p. 719-29.
- (188) Kris-Etherton PM, Taylor DS, Yu-Poth S, Huth P, Moriarty K, Fishell V, et al. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. Am J Clinical Nutrition 2000; 71(1):179S-188.
- (189) Simopoulos AP. The return of  $\omega$ 3 fatty acids into the food supply. Basel, Switzerland: Karger, 1998.
- (190) Morris DH. Descripción y composición de la linaza. En: Morris DH, editor. Linaza - Una Recopilación sobre sus Efectos en la Salud y Nutrición. Winnipeg, MB, Canada: Flax Council of Canada, 2007. p. 9-21.
- (191) Craig R, Sons M. Application for approval of whole chia (*Salvia hispanica* L), seed and ground whole, chia as novel food ingredients. Advisory committee for novel foods and processes Company David Armstrong Ireland 2004;1-29.
- (192) Domenech R. Evolución de la avicultura. 2009;[2 páginas]. Disponible en: URL:[http://www.aviculturaargentina.com.ar/evolucion\\_avicultura.htm](http://www.aviculturaargentina.com.ar/evolucion_avicultura.htm). Acceso May 13, 2010.
- (193) Dirección de Animales Menores y Granja. Indicadores de la actividad avícola. 2010;[1 páginas]. Disponible en: URL:[http://www.minagri.gob.ar/SAGPyA/ganaderia/aves/01-estadisticas/\\_archivos/000002\\_Indicadores/000001\\_indicadores%20\(actuales\).pdf](http://www.minagri.gob.ar/SAGPyA/ganaderia/aves/01-estadisticas/_archivos/000002_Indicadores/000001_indicadores%20(actuales).pdf). Acceso May 12, 2010.
- (194) Grashorn MA. Functionality of poultry meat. J Appl Poult Res 2007; 16(1):99-106.
- (195) Estudio Mundial "Información Nutricional y Actitud del Consumidor ante Productos Saludables y Orgánicos". 2005;[98 páginas]. Disponible en: URL:[http://www.ar.nielsen.com/reports/documents/EstudioInformacion\\_Nutricional\\_Organicos\\_Esp\\_final.pdf](http://www.ar.nielsen.com/reports/documents/EstudioInformacion_Nutricional_Organicos_Esp_final.pdf). Acceso May 12, 2010.
- (196) Barreiro Nogaledo M. El mercado de la carne desde el punto de vista del consumidor. En: García-Rebollar P, De Blas JC, González-Mateos G, editores. XXI Curso de Especialización FEDNA. Madrid, España: FEDNA, 2005. p. 3-12.
- (197) Cortinas Hernández L. Niveles de ácidos grasos poliinsaturados y  $\alpha$ -tocoferol en el pienso de broilers: equilibrio entre composición lipídica y estabilidad oxidativa de la carne [Tesis Doctoral]. Barcelona, España: Universitat Autònoma de Barcelona, 2004.
- (198) Ratnayake WMN, Ackman RG, Hulan HW. Effect of redfish meal enriched diets on the taste and n-3 PUFA of 42-day-old broiler chickens. J Sci Food Agric 1989; 49(1):59-74.
- (199) Ajuyah AO, Lee KH, Hardin RT, Sim JS. Changes in the yield and in the fatty acid composition of whole carcass and selected meat portions of broiler chickens fed full-fat oil seeds. Poult Sci 1991; 70:2304-14.

- (200) Crespo-Alcarria N, Esteve-Garcia E. Nutrient and fatty acid deposition in broilers fed different dietary fatty acid profiles. *Poult Sci* 2002; 81(10):1533-42.
- (201) Saadoun A, Leclercq B. In vivo lipogenesis in genetically fat and lean chickens of various ages. *Comp Biochem Physiol B* 1986; 83(3):607-11.
- (202) Mourot J, Hermier D. Lipids in monogastric animal meat. *Reprod Nutr Dev* 2001; 41(2):109-18.
- (203) Tanaka K, Ohtani S, Shigeno K. Effect of increasing dietary energy on hepatic lipogenesis in growing chicks. I. Increasing energy by carbohydrate supplementation. *Poult Sci* 1983; 62(3):445-51.
- (204) Tanaka K, Ohtani S, Shigeno K. Effect of increasing dietary energy on hepatic lipogenesis in growing chicks. II. Increasing energy by fat or protein supplementation. *Poult Sci* 1983; 62(3):452-8.
- (205) Atkinson A, Van der Merwe RP, Swart LG. The effect of high levels of different fish meals, of several antioxidants and poultry byproduct meal on the flavour and fatty acid composition of broilers. *Agroanimalia* 1972; 4:63-8.
- (206) Marion JE, Woodroof JG. The fatty acid composition of breast, thigh and skin tissues of chicken broilers as influenced by dietary fats. *Poult Sci* 1963; 42:1202-7.
- (207) Miller D, Robisch P. Comparative effect of herring, menhaden, and safflower oils on broiler tissues fatty acid composition and flavor. *Poult Sci* 1969; 48:2146-57.
- (208) Ayerza R, Coates W, Lauria M. Chia seed (*Salvia hispanica* L.) as an omega-3 fatty acid source for broilers: influence on fatty acid composition, cholesterol and fat content of white and dark meats, growth performance, and sensory characteristics. *Poult Sci* 2002; 81(6):826-37.
- (209) Azcona JO, Schang MJ, García PT, Gallinger CI, Coates W, Ayerza R. Omega-3 enriched broiler meat: the influence of dietary  $\alpha$ -linolenic- $\omega$ -3 fatty acid sources on growth, performance and meat fatty acid composition. *Can J Anim Sci* 2008; 88(2):257-69.
- (210) Brue RN, Latshaw JD. Energy utilization by the broiler chicken as affected by various fats and fat levels. *Poult Sci* 1985; 64(11):2119-30.
- (211) Chanmugam PS, Boudreau MD, Boutte T, Park RS, Hebert J, Berrio L, et al. Incorporation of different types of n-3 fatty acids into tissue lipids of poultry. *Poult Sci* 1992; 71(3):516-21.
- (212) Hulan HW, Ackman RG, Ratnayake WMN, Proudfoot FG. Omega-3 fatty acid levels and general performance of commercial broilers fed practical levels of redfish meal. *Poult Sci* 1989; 68(1):153-62.
- (213) López-Ferrer S, Baucells MD, Barroeta AC, Grashorn MA. n-3 enrichment of chicken meat. 1. Use of very long-chain fatty acids in chicken diets and their influence on meat quality: fish oil. *Poult Sci* 2001; 80(6):741-52.



- (214) Cachaldora P, De Blas JC, García-Rebollar P, Álvarez C, Méndez J. Effects of type and level of supplementation with dietary n-3 fatty acids on yolk fat composition and n-3 fatty acid retention in hen eggs. *Span J Agric Res* 2005; 3(2):209-12.
- (215) De Blas JC, Cachaldora P, Álvarez C, Méndez J. Effect of conjugated linoleic acid, high-oleic sunflower oil and fish oil dietary supplementation on laying hen egg quality. *Span J Agric Res* 2005; 3(1):74-82.
- (216) Mesa García MD, Aguilera García CM, Linde Gutiérrez J, Ramírez Tortosa MC, Gil Hernández A. Lípidos como alimentos funcionales. En: FECYT, editor. *Alimentos Funcionales*. Madrid: Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología, 2005. p. 215-80.
- (217) Coates W, Ayerza R. Chia (*Salvia hispanica* L.) seed as an n-3 fatty acid source for finishing pigs: Effects on fatty acid composition and fat stability of the meat and internal fat, growth performance, and meat sensory characteristics. *J Anim Sci* 2009; 87(11):3798-804.
- (218) Ayerza R, Coates W. Dietary levels of chia: influence on hen weight, egg production and sensory quality, for two strains of hens. *Br Poult Sci* 2002; 43(2):283-90.
- (219) Ayerza R, Coates W. An omega-3 fatty acid enriched chia diet: Influence on egg fatty acid composition, cholesterol and oil content. *Can J Anim Sci* 1999; 79(1):53-8.
- (220) Ayerza R, Coates W. The omega-3 enriched eggs: the influence of dietary linolenic fatty acid source combination on egg production and composition. *Can J Anim Sci* 2001; 81(3):355-62.
- (221) Bukasov SM. Las plantas cultivadas de México, Guatemala y Colombia. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA 1963; Publicación Miscelanea N°20:193-4.
- (222) Engel FA. De las begonias al maíz: Vida y producción en el Perú antiguo. Lima, Perú: Ediagraria, Universidad Nacional Agraria La Molina, 1987.
- (223) Soustelle J. La vie quotidienne des Aztèques a la veille de la conquête espagnole. Paris, France: Hachette, 1955.
- (224) Hernández-Gómez JA, Miranda-Colín S, Peña-Lomel A. Cruzamiento natural de chíá (*Salvia hispanica* L.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 2008; 14(3):331-7.
- (225) *Salvia hispanica*: Plant. 2008;[2 páginas]. Disponible en: URL:[http://www.flickr.com/photos/nuytsia\\_pix/2537812849/](http://www.flickr.com/photos/nuytsia_pix/2537812849/). Acceso May 11, 2010.
- (226) *Salvia hispanica*: Inflorescence. 2008;[2 páginas]. Disponible en: URL:[http://www.flickr.com/photos/nuytsia\\_pix/2538632496/](http://www.flickr.com/photos/nuytsia_pix/2538632496/). Acceso May 11, 2010.
- (227) Ramamoorthy TP. *Salvia* L. En: Rzedowski J, de Rzedowski GC, editores. *Flora Fanerógama del Valle de México*. México: Instituto Politécnico Nacional, 1985. p. 298-310.
- (228) Weber DC. Chia (*Salvia hispanica*). 2010;[3 páginas]. Disponible en: URL:<http://www.ars.usda.gov/pandp/docs.htm?docid=19317>. Acceso May 11, 2010.

- (229) Anderson JW, Story L, Sieling B, Chen WJ, Petro MS, Story JA. Hypocholesterolemic effects of oat-bran or bean intake for hypercholesterolemic men. *Am J Clinical Nutrition* 1984; 40(6):1146-55.
- (230) Marlett JA, Hosig KB, Vollendorf NW, Shinnick FL, Haack VS, Story JA. Mechanism of serum cholesterol reduction by oat bran. *Hepatology* 1994; 20(6):1450-7.
- (231) McKinley MC. Nutritional aspects and possible pathological mechanisms of hyperhomocysteinaemia: an independent risk factor for vascular disease. *Proc Nutr Soc* 2000; 59(2):221-37.
- (232) Taylor-Chinn M. Homocysteine and atherosclerotic heart disease. A new and unusual suspect. *Clinician Rev* 2000; 10:45-7.
- (233) Herzlich BC, Lichstein E, Schulhoff N, Weinstock M, Pagala M, Ravindran K, et al. Relationship among homocyst(e)ine, vitamin B-12 and cardiac disease in the elderly: Association between vitamin B-12 deficiency and decreased left ventricular ejection fraction. *J Nutr* 1996; 126(4\_Suppl):1249S-1253.
- (234) Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, D'Agostino RB, Wilson PWF, Belanger AJ, et al. Relationship between plasma homocysteine, vitamin status and extracranial carotid-artery stenosis in the Framingham study population. *J Nutr* 1996; 126(4\_Suppl):1258S-1265.
- (235) McBride, J. A snapshot of blood homocysteine levels. *Agriculture Research Magazine* 1999; 47(5):25.
- (236) McBride, J. Homocysteine: The new "bad boy" of vascular disease. *Agriculture Research Magazine* 2002; 50(5):10-11.
- (237) Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995; 274(13):1049-57.
- (238) Malinow MR. Plasma homocyst(e)ine: A risk factor for arterial occlusive diseases. *J Nutr* 1996; 126(4\_Suppl):1238S-1243.
- (239) Taga M, Miller E, Pratt D. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *J Am Oil Chem Soc* 1984; 61(5):928-31.
- (240) Makris DP, Rossiter JT. Comparison of quercetin and a non-orthohydroxy flavonol as antioxidants by competing in vitro oxidation reactions. *J Agric Food Chem* 2001; 49(7):3370-7.
- (241) Kweon MH, Hwang HJ, Sung HC. Identification and antioxidant activity of novel chlorogenic acid derivatives from bamboo (*Phyllostachys edulis*). *J Agric Food Chem* 2001; 49(10):4646-55.
- (242) Okuyama H. High n-6 to n-3 ratio of dietary fatty acids rather than serum cholesterol as a major risk factor for coronary heart disease: The demise of the n-6 to n-3 fatty acid ratio? *Eur J Lipid Sci Technol* 2001; 103(6):418-22.

- (243) Brown BG, Zhao XQ, Chait A, Fisher LD, Cheung MC, Morse JS, et al. Simvastatin and niacin, antioxidant vitamins, or the combination for the prevention of coronary disease. *N Engl J Med* 2001; 345(22):1583-92.
- (244) Coates W, Ayerza R. Production potential of chia in northwestern Argentina. *Ind Crops Prod* 1996; 5(3):229-33.
- (245) Coates W, Ayerza R. Commercial production of chia in northwestern Argentina. *J Am Oil Chem Soc* 1998; 75(10):1417-20.
- (246) Ayerza R. Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) from five northwestern locations in Argentina. *J Am Oil Chem Soc* 1995; 72(9):1079-81.
- (247) Howell RW, Collins FI. Factors affecting linolenic and linoleic acid content of soybean oil. *Agron J* 1957; 49(11):593-7.
- (248) Thomas JMG, Boote KJ, Allen LH, Jr., Gallo-Meagher M, Davis JM. Elevated temperature and carbon dioxide effects on soybean seed composition and transcript abundance. *Crop Sci* 2003; 43(4):1548-57.
- (249) Yaniv Z, Schafferman D, Zur M. The effect of temperature on oil quality and yield parameters of high- and low-erucic acid Cruciferae seeds (rape and mustard). *Industrial Crops and Products* 1995; 3(4):247-51.
- (250) B.R.Hajratwala. Particle size reduction by a hammer mill I: Effect of output screen size, feed particle size, and mill speed. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1982; 71(2):188-90.
- (251) Greenberg CJ. Studies on the fibre in human diets and its effect on the digestion and absorption on other nutrients [Tesis Doctoral]. England: University of Cambridge, 1976.
- (252) O'Dea K, Nestel PJ, Antonoff L. Physical factors influencing postprandial glucose and insulin responses to starch. *Am J Clinical Nutrition* 1980; 33(4):760-5.
- (253) Nir I, Hillel R, Shefet G, Nitsan Z. Effect of grain particle size on performance. 2. Grain texture interactions. *Poult Sci* 1994; 73(6):781-91.
- (254) Marco E. Aspectos nutricionales y de manejo del pienso que influyen sobre la patología digestiva del cerdo en crecimiento-cebo. En: García-Rebollar P, De Blas JC, González-Mateos G, editores. XXV Curso de Especialización FEDNA. Madrid, España: FEDNA, 2009. p. 109-16.
- (255) Nir I, Shefet G, Aaróni Y. Effect of particle size on performance. 1. Corn. *Poult Sci* 1994; 73(1):45-9.
- (256) Penz AM. Avances en la alimentación de monogástricos: Aves. En: García-Rebollar P, De Blas JC, González-Mateos G, editores. XIV Curso de Especialización FEDNA. Barcelona, España: FEDNA, 1998. p. 241-60.
- (257) Mongeau R, Brassard R. Insoluble dietary fiber from breakfast cereals and brans: Bile salt binding and water-holding capacity in relation to particle size. *Cereal Chem* 1982; 59(5):413-7.

- (258) Rose SP, Fielden M, Foote WR, Gardin P. Sequential feeding of whole wheat to growing broiler chickens. *Br Poult Sci* 1995; 36(1):97-111.
- (259) Aymond WM, Van Elswyk ME. Yolk thiobarbituric acid reactive substances and n-3 fatty acids in response to whole and ground flaxseed. *Poult Sci* 1995; 74(8):1388-94.
- (260) Dziezak JD. Single-and twin-screw extruders in food processing. *Food Technol* 1989; 43(4):263-83.
- (261) Björck I, Asp NG. The effects of extrusion cooking on nutritional value -- A literature review. *J Food Eng* 1983; 2(4):281-308.
- (262) Nowjee NC. Extrusion of starch. 2004;[2 páginas]. Disponible en: URL:<http://www.cheng.cam.ac.uk/research/groups/polymer/RMP/nitin/Extrusion.html>. Acceso May 22, 2010.
- (263) Valls Porta A. El proceso de extrusión en cereales y habas de soja. I. Efecto de la extrusión sobre la utilización de los nutrientes. En: García-Rebollar P, González-Mateos G, editores. IX Curso de Especialización FEDNA. Barcelona, España: FEDNA, 1993. p. 109-15.
- (264) Hancock JD. Extrusion cooking of dietary ingredients for animal feeds. En *Distillers Feed Conference*; 1992 Apr 23; Cincinnati, Ohio.: 1992. p. 33-49.
- (265) Azcona JO, Iglesias BF, Morao LR, Schang MJ. Composición de ingredientes argentinos: Maíz y soja. En: CAENA, editor. I Congreso Argentino de Nutrición Animal; 2007 Oct 18; Parque Norte, Buenos Aires, Argentina: 2007. p. 89-96.
- (266) Starch. 2009;[11 páginas]. Disponible en: URL:<http://food.oregonstate.edu/learn/starch.html>. Acceso Apr 28, 2010.
- (267) Bonino, M., Schang, M. J., Azcona, J. O., Sceglío, O., Terzaghi, A., Pascual, G., Benestante, C., Borrás, F., Rodríguez, S., Yanigro, S., Font, G., Suárez, D., Gallinger, C. I., and Lago, C. Tabla de composición de ingredientes argentinos. *Balanceados Argentinos* 1991; 63:32-70.
- (268) FEDNA. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la formulación de piensos compuestos. 2da. ed. Madrid, España: Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, 2003.
- (269) Schang MJ, Azcona JO, Sceglío O, Borrás F, Rodríguez S, Yanigro S. Tabla de composición de ingredientes argentinos. *Jornadas de Nutrición y Genética de Aves de Producción*; 1999 Jul 2; Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA, Buenos Aires, Argentina: 1999. p. 49-81.
- (270) Rokey G. Tecnología de la extrusión e implicaciones nutricionales. En: García-Rebollar P, De Blas JC, González-Mateos G, editores. XI Curso de Especialización FEDNA. Barcelona, España: FEDNA, 1995. p. 270-86.
- (271) Abd El-Khalek E, Janssens GPJ. Effect of extrusion processing on starch gelatinisation and performance in poultry. *Worlds Poult Sci J* 2010; 66(1):53-64.

- (272) Nelson DL, Cox MM. Lehninger, Principles of Biochemistry. 4th ed. New York: W.H. Freeman & Company, 2004.
- (273) Englyst HN, Kingman SM, Cummings JH. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46 Suppl 2:S33-S50.
- (274) Eliasson AC, Gudmundsson M. Starch: Physicochemical and functional aspects. En: Eliasson AC, editor. *Carbohydrate in food*. New York: Marcel Dekker Inc., 1996. p. 431-503.
- (275) Al Marzooqi W, Leeson S. Evaluation of dietary supplements of lipase, detergent, and crude porcine pancreas on fat utilization by young broiler chicks. *Poult Sci* 1999; 78(11):1561-6.
- (276) Carew L, Hill F, Nesheim M. The comparative value of heated ground unextracted soybeans and heated dehulled soybean flakes as a source of soybean oil and energy for the chick. *J Am Oil Chem Soc* 1961; 38(5):249-53.
- (277) Björck I, Nyman M, Asp NG. Extrusion cooking and dietary fiber: effects on dietary fiber content and on degradation in the rat intestinal tract. *Cereal Chem* 1984; 61(2):174-9.
- (278) Killeit U. Vitamin retention in extrusion cooking. *Food Chem* 1994; 49(2):149-55.
- (279) Prior E, Vadke V, Sosulski F. Effect of heat treatments on canola press oils. I. Non-triglyceride components. *J Am Oil Chem Soc* 1991; 68(6):401-6.
- (280) Rapeseed processing. 2005;[8 páginas]. Disponible en: URL:<http://www.desmetballestrarosedowns.com/PDF-Brochures/Desmet%20Ballestra%20-%20Rapeseed%20Processing.pdf>. Acceso May 18, 2010.
- (281) Place AR. Birds and lipids: living off the fat of the earth. *Poultry Avian Biol Rev* 1996; 7(2):127-42.
- (282) Walker JR, Davis T, Seitova A, Butler-Cole C, Weigelt J, Sundstrom M, Arrowsmith CH, Adwards AM, Bochkarev A, Dhe-Paganon S. Human pancreatic lipase-related protein 1. 2007; Disponible en: URL:[http://www.thesgc.org/structures/structure\\_description/2PPL/](http://www.thesgc.org/structures/structure_description/2PPL/). Acceso Apr 24, 2010.
- (283) Sibbald IR. The true metabolizable energy values of mixtures of tallow with either soybean oil or lard. *Poult Sci* 1978; 57:473-7.
- (284) Ketels E, De Groote G. Effect of ratio of unsaturated to saturated fatty acids of the dietary lipid fraction on utilization and metabolizable energy of added fats in young chicks. *Poult Sci* 1989; 68(11):1506-12.
- (285) Wiseman J, Salvador F, Craigon J. Prediction of the apparent metabolizable energy content of fats fed to broiler chickens. *Poult Sci* 1991; 70(7):1527-33.
- (286) Sklan D. Digestion and absorption of lipids in chicks fed triglycerides or free fatty acids: synthesis of monoglycerides in the intestine. *Poult Sci* 1979; 58(4):885-9.

- (287) Griffin HD, Hermier D. Plasma lipoprotein metabolism and fattening in poultry. En: Leclercq B, Whitehead CC, editores. *Leanness in Domestic Birds*. Butterworths, London: 1988. p. 175-201.
- (288) Crespo-Alcarria N. Reducción de la deposición de grasa abdominal en el pollo de carne mediante la modificación del perfil de ácidos grasos de la dieta [Tesis Doctoral]. Tarragona, España: Universitat Rovira i Virgili, 2004.
- (289) Welch VA, Borlakoglu JT. Absorption and transport of dietary lipid: Effect on some lipid-related health problems. En: Kuang C, editor. *Fatty acids in foods and their health implications*. New York: Marcel Dekker, Inc, 1992. p. 559-612.
- (290) Fisher C. Fat deposition in broilers. En: Wiseman J, editor. *Fats in Animal Nutrition*. Butterworths, London, England: 1984. p. 437-70.
- (291) Legrand P, Mallard J, Bernard-Griffiths MA, Douaire M, Lemarchal P. Hepatic lipogenesis in genetically lean and fat chickens. *In vitro studies*. *Comp Biochem Physiol B* 1987; 87(4):789-92.
- (292) Legrand P, Lemarchal P. Hepatic  $\Delta$ -9 desaturating activity in generically lean and fat chickens. En: Leclercq B, Whitehead CC, editores. *Leanness in Domestic Birds*. Butterworths, London: 1988. p. 233-4.
- (293) Legrand P, Hermier D. Hepatic delta 9 desaturation and plasma VLDL level in genetically lean and fat chickens. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1992; 16(4):289-94.
- (294) Legrand P, Lemarchal P. Stearyl-CoA desaturase activity and triglyceride secretion in isolated and cultured hepatocytes from genetically lean and fat chickens. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 1992; 102(2):371-5.
- (295) Legrand P, Catheline D, Fichot MC, Lemarchal P. Inhibiting  $\Delta$ 9-desaturase activity impairs triacylglycerol secretion in cultured chicken hepatocytes. *J Nutr* 1997; 127(2):249-56.
- (296) Brenner RR. The oxidative desaturation of unsaturated fatty acids in animals. *Mol Cell Biochem* 1974; 3(1):41-52.
- (297) Enoch HG, Catalá A, Strittmatter P. Mechanism of rat liver microsomal stearyl-CoA desaturase. Studies of the substrate specificity, enzyme-substrate interactions, and the function of lipid. *J Biol Chem* 1976; 251(16):5095-103.
- (298) Dixon JL, Furukawa S, Ginsberg HN. Oleate stimulates secretion of apolipoprotein B-containing lipoproteins from Hep G2 cells by inhibiting early intracellular degradation of apolipoprotein B. *J Biol Chem* 1991; 266(8):5080-6.
- (299) Frankel EN. Recent advances in lipid oxidation. *J Sci Food Agric* 1991; 54:495-511.
- (300) Patterson LK. Studies of radiation-induced peroxidation in fatty acids micelles. En: Rodgers MAJ, Powers EL, editores. *Oxygen and oxy.radicals in chemistry and biology*. New York: Academic Press, 1981. p. 89-95.

- (301) Robey W, Shermer W. The damaging effects of oxidation. *Feed Mix* 1994; 2(5):22-6.
- (302) Addis PB, Emanuel HA, Bergmann SD, Zavoral JH. Capillary GC quantification of cholesterol oxidation products in plasma lipoproteins of fasted humans. *Free Radic Biol Med* 1989; 7(2):179-82.
- (303) Emanuel HA, Haseel CA, Addis PB, Bergmann SD, Zavoral JH. Plasma cholesterol oxidation products (oxysterols) in human subjects fed a meal rich in oxysterol. *J Food Sci* 1991; 56(3):843-7.
- (304) Halliwell B, Gutteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol* 1990; 186:1-85.
- (305) Pamplona R, Portero-Otin M, Riba D, Ruiz C, Prat J, Bellmunt MJ, et al. Mitochondrial membrane peroxidizability index is inversely related to maximum life span in mammals. *J Lipid Res* 1998; 39(10):1989-94.
- (306) Catalá A. Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chem Phys Lipids* 2009; 157(1):1-11.
- (307) Gavazza M, Catalá A. Melatonin preserves arachidonic and docosapentaenoic acids during ascorbate-Fe<sup>2+</sup> peroxidation of rat testis microsomes and mitochondria. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35(3):359-66.
- (308) Gutiérrez AM, Reboredo GR, Mosca SM, Catalá A. Fatty acid composition and lipid peroxidation induced by ascorbate-Fe<sup>2+</sup> in different organs of goose (*Anser anser*). *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2004; 137(2):123-32.
- (309) Marmunti M, Catalá A. Non-enzymatic lipid peroxidation of rat liver nuclei and chromatin fractions. *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30(9):967-72.
- (310) Marmunti M, Catalá A. Incorporation of 1-<sup>14</sup>C linoleic acid in rat liver nuclei and chromatin fractions. *Int J Biochem Cell Biol* 2001; 33(3):261-7.
- (311) Palacios A, Piergiacomini VA, Catalá A. Antioxidant effect of conjugated linoleic acid and vitamin A during non enzymatic lipid peroxidation of rat liver microsomes and mitochondria. *Mol Cell Biochem* 2003; 250(1-2):107-13.
- (312) Piergiacomini VA, Palacios A, Catalá A. Comparative studies on lipid peroxidation of microsomes and mitochondria obtained from different rat tissues: effect of retinyl palmitate. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2001; 64(2):75-80.
- (313) Iglesias BF, Catalá A. Rat, caprine, equine and bovine erythrocyte ghosts exposed to t-butyl hydroperoxide as a model to study lipid peroxidation using a chemiluminescence assay. *Res Vet Sci* 2005; 79(1):19-27.
- (314) Wagner BA, Buettner GR, Burns CP. Free radical-mediated lipid peroxidation in cells: oxidizability is a function of cell lipid bis-allylic hydrogen content. *Biochemistry* 1994; 33(15):4449-53.

- (315) Ames BN, Hollstein MC, Cathcart R. Lipid peroxidation and oxidative damage to DNA. En: Yagi K, editor. *Lipid Peroxides in Biology and Medicine*. New York: Academic Press, 1982. p. 339-51.
- (316) Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Lab Invest* 1985; 53(6):599-623.
- (317) Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Arch Biochem Biophys* 1986; 246(2):501-14.
- (318) Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 1984; 222(1):1-15.
- (319) Ames BN. Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radicals and degenerative diseases. *Science* 1983; 221:1256-64.
- (320) Kensler TW, Trush MA. Role of oxygen radicals in tumor promotion. *Environ Mutagen* 1984; 6(4):593-616.
- (321) Vargas F, Rivas C, Nursamaa A. Reacciones de radicales libres con relevancia biológica en la teoría del envejecimiento. *Avances en Química* 2007; 2(2):3-15.
- (322) Bus GO, Gibson JE. Lipid peroxidation and its role in toxicology. En: Hodgson E, Bend J, Philpot R, editores. *Reviews in Biochemical Toxicology*. Amsterdam, Holland: Elsevier Science & Technology, 1979. p. 125-49.
- (323) Catalá A. An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38(9):1482-95.
- (324) Esterbauer H. Aldehydic products of lipid peroxidation. En: McBrien DCH, Slater TF, editores. *Free Radicals, Lipid Peroxidation and Cancer*. London: Academic Press, 1982. p. 101-28.
- (325) L'Abbe MR, Trick KD, Beare-Rogers JL. Dietary (n-3) fatty acids affect rat heart, liver and aorta protective enzyme activities and lipid peroxidation. *J Nutr* 1991; 121(9):1331-40.
- (326) Pryor WA. The role of free radical reactions in biological systems. En: Pryor WA, editor. *Free Radicals in Biology*. New York: Academic Press, 1976. p. 1-49.
- (327) Smith CV, Anderson RE. Methods for determination of lipid peroxidation in biological samples. *Free Radic Biol Med* 1987; 3(5):341-4.
- (328) Vickers T. Lipid peroxidation. 2007;[1 páginas]. Disponible en: URL:[http://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Lipid\\_peroxidation-es.svg](http://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Lipid_peroxidation-es.svg). Acceso Apr 21, 2010.
- (329) Porter NA. Chemistry of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1984; 105:273-82.
- (330) Kanner J, German JB, Kinsella JE. Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1987; 25(4):317-64.



- (331) Kanner J, Harel S. Initiation of membranal lipid peroxidation by activated metmyoglobin and methemoglobin. *Arch Biochem Biophys* 1985; 237(2):314-21.
- (332) Dix TA, Aikens J. Mechanisms and biological relevance of lipid peroxidation initiation. *Chem Res Toxicol* 1993; 6(1):2-18.
- (333) Porter NA. Autooxidation of polyunsaturated fatty acids: Initiation, propagation, and product distribution (basic chemistry). En: Vigo-Pelfrey C, editor. *Membrane Lipid Oxidation*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1990. p. 33-62.
- (334) Kondjoyan N, Berdagué JL, Denoyer C. Analysis of the volatile compounds of cooked meat: Comparison between different species. XI European Symposium on the Quality of Poultry Meat; Tours, France: 1993. p. 347-54.
- (335) Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991; 11(1):81-128.
- (336) Kristal BS, Park BK, Yu BP. 4-Hydroxyhexenal is a potent inducer of the mitochondrial permeability transition. *J Biol Chem* 1996; 271(11):6033-8.
- (337) Uchida K. 4-Hydroxy-2-nonenal: a product and mediator of oxidative stress. *Prog Lipid Res* 2003; 42(4):318-43.
- (338) Jain SK. The accumulation of malonyldialdehyde, a product of fatty acid peroxidation, can disturb aminophospholipid organization in the membrane bilayer of human erythrocytes. *J Biol Chem* 1984; 259(6):3391-4.
- (339) Grau A. Oxidación lipídica en carne de pollos: Influencia del grado de insaturación de la dieta y de su suplementación con ácido ascórbico y alfa-tocoferol [Tesis doctoral]. Barcelona, España: Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona, 2000.
- (340) King AJ, Uijttendoogaart TG, De Vries AW.  $\alpha$ -Tocopherol,  $\beta$ -carotene and ascorbic acid as antioxidants in stored poultry muscle. *J Food Sci* 1995; 60:1009-12.
- (341) Wen J, Morrissey PA, Buckley DJ, Sheehy PJ. Oxidative stability and alpha-tocopherol retention in turkey burgers during refrigerated and frozen storage as influenced by dietary alpha-tocopheryl acetate. *Br Poult Sci* 1996; 37(4):787-95.
- (342) Aubourg SP. Interaction of malondialdehyde with biological molecules-new trends about reactivity and significance. *J Food Sci Technol* 1993; 28:323-35.
- (343) Gutteridge JM. The use of standards for malonyldialdehyde. *Anal Biochem* 1975; 69(2):518-26.
- (344) Vladimirov YA, Olenev VI, Suslova TB, Cheremisina ZP. Lipid peroxidation in mitochondrial membrane. *Adv Lipid Res* 1980; 17:173-249.
- (345) Wright JR, Rumbaugh RC, Colby HD, Miles PR. The relationship between chemiluminescence and lipid peroxidation in rat hepatic microsomes. *Arch Biochem Biophys* 1979; 192(2):344-51.

- (346) Roda A, Pasini P, Guardigli M, Baraldini M, Musiani M, Mirasoli M. Bio- and chemiluminescence in bioanalysis. *Fresenius J Anal Chem* 2000; 366(6-7):752-9.
- (347) Ahn DU, Lee JI, Jo C, Sell JL. Analysis of cholesterol oxides in egg yolk and turkey meat. *Poult Sci* 1999; 78(7):1060-4.
- (348) Chen KH, Yang SC, Su JD. The Cholesterol oxidation products contents of chicken meat as affected by different heating methods. XI European Symposium on the Quality of Poultry Meat; Tours, France: 1993. p. 412-22.
- (349) Gray JI, Gomaa EA, Buckley DJ. Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Sci* 1996; 43(Supplement 1):111-23.
- (350) López-Bote CJ, Isabel B, Ruiz J, Daza A. Effect of vitamin E supplementation and partial substitution of poly- with mono-unsaturated fatty acids in pig diets on muscle, and microsomal extract alpha-tocopherol concentration and lipid oxidation. *Arch Tierernahr* 2003; 57(1):11-25.
- (351) Bou R, Guardiola F, Grau A, Grimpa S, Manich A, Barroeta AC, et al. Influence of dietary fat source, alpha-tocopherol, and ascorbic acid supplementation on sensory quality of dark chicken meat. *Poult Sci* 2001; 80(6):800-7.
- (352) O'Neill LM, Galvin K, Morrissey PA, Buckley DJ. Comparison of effects of dietary olive oil, tallow and vitamin E on the quality of broiler meat and meat products. *Br Poult Sci* 1998; 39(3):365-71.
- (353) Evans HM, Bishop KS. On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science* 1922; 56(1458):650-1.
- (354) Nair PP. Vitamin E and metabolic regulation. *Ann N Y Acad Sci* 1972; 203:53-61.
- (355) Machlin LJ, Gabriel E, Horn LR, Woo D, Filipski R, Brin M, et al. Effects of aspirin and related drugs in vitamin E-deficient rats. *J Nutr* 1980; 110(10):1958-64.
- (356) Patnaik RN, Nair PP. Studies on the binding of d-alpha-tocopherol to rat liver nuclei. *Arch Biochem Biophys* 1977; 178(2):333-41.
- (357) Burton GW, Ingold KU. Vitamin E: Application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. *Acc Chem Res* 1986; 19(7):194-201.
- (358) Ingold KU, Burton GW, Foster DO, Zuker M, Hughes L, Lacelle S, et al. A new vitamin E analogue more active than alpha-tocopherol in the rat curative myopathy bioassay. *FEBS Lett* 1986; 205(1):117-20.
- (359) Sies H. Strategies of antioxidant defense. *Eur J Biochem* 1993; 215(2):213-9.
- (360) Pennock JF, Hemming FW, Kerr JD. A reassessment of tocopherol chemistry. *Biochem Biophys Res Commun* 1964; 17(5):542-8.
- (361) Wang X, Quinn PJ. Vitamin E and its function in membranes. *Prog Lipid Res* 1999; 38(4):309-36.

- (362) Mayer H, Schudel P, Rüegg R, Isler O. Über die chemie des vitamins E. 3. Mitteilung. Die totalsynthese von (2*R*, 4*R*, 8*R*)- und (2*S*, 4*R*, 8*R*)- $\alpha$ -tocopherol. *Helv Chim Acta* 1963; 67(2):650-71.
- (363) Burton GW, Ingold KU, Zahalka H, Dutton P, Hodgkinson B, Hughes I et al. Biodiscrimination of tocopherols. En: Mino M, Nakamura H, Diplock AT, Kayden HJ, editores. *Vitamin E. Its usefulness in health and in curing diseases*. Tokyo, Japón: Japan Scientific Societies Press, 1993. p. 51-61.
- (364) Machlin LJ, Gabriel E, Brin M. Biopotency of  $\alpha$ -tocopherols as determined by curative myopathy bioassay in the rat. *J Nutr* 1982; 112(7):1437-40.
- (365) Gallo-Torres HE. Obligatory role of bile for the intestinal absorption of vitamin E. *Lipids* 1970; 5(4):379-84.
- (366) Traber MG, Sies H. Vitamin E in humans: demand and delivery. *Annu Rev Nutr* 1996; 16:321-47.
- (367) Liu Y, Jensen SK, Eggum BO. The influence of seed size on digestibility and growth performance of broiler chickens fed full-fat rapeseed. *J Sci Food Agric* 1995; 67(1):135-40.
- (368) Gallo-Torres HE, Weber F, Wiss O. The effect of different dietary lipids on the lymphatic appearance of vitamin E. *Int J Vitam Nutr Res* 1971; 41(4):504-15.
- (369) Tijburg LB, Haddeman E, Kivits GA, Weststrate JA, Brink EJ. Dietary linoleic acid at high and reduced dietary fat level decreases the faecal excretion of vitamin E in young rats. *Br J Nutr* 1997; 77(2):327-36.
- (370) Villaverde C, Cortinas Hernández L, Barroeta AC, Martin-Orue SM, Baucells MD. Relationship between dietary unsaturation and vitamin E in poultry. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2004; 88(3-4):143-9.
- (371) Sato Y, Arai H, Miyata A, Tokita S, Yamamoto K, Tanabe T, et al. Primary structure of alpha-tocopherol transfer protein from rat liver. Homology with cellular retinaldehyde-binding protein. *J Biol Chem* 1993; 268(24):17705-10.
- (372) Arita M, Nomura K, Arai H, Inoue K.  $\alpha$ -tocopherol transfer protein stimulates the secretion of  $\alpha$ -tocopherol from a cultured liver cell line through a brefeldin A-insensitive pathway. *PNAS* 1997; 94(23):12437-41.
- (373) Sato Y, Hagiwara K, Arai H, Inoue K. Purification and characterization of the alpha-tocopherol transfer protein from rat liver. *FEBS Lett* 1991; 288(1-2):41-5.
- (374) Leonard SW, Terasawa Y, Farese RV, Jr., Traber MG. Incorporation of deuterated RRR- or all-rac- $\alpha$ -tocopherol in plasma and tissues of  $\alpha$ -tocopherol transfer protein-null mice. *Am J Clinical Nutrition* 2002; 75(3):555-60.
- (375) Traber MG, Arai H. Molecular mechanisms of vitamin E transport. *Annu Rev Nutr* 1999; 19:343-55.

- (376) Yoshida H, Yusin M, Ren I, Kuhlenkamp J, Hirano T, Stolz A, et al. Identification, purification, and immunochemical characterization of  $\alpha$  tocopherol-binding protein in rat liver cytosol. *J Lipid Res* 1992; 33(3):343-50.
- (377) Kuhlenkamp J, Ronk M, Yusin M, Stolz A, Kaplowitz N. Identification and purification of a human liver cytosolic tocopherol binding protein. *Protein Expr Purif* 1993; 4(5):382-9.
- (378) Cherian G, Wolfe FW, Sim JS. Dietary oils with added tocopherols: Effects on egg or tissue tocopherols, fatty acids, and oxidative stability. *Poult Sci* 1996; 75(3):423-31.
- (379) Surai PF, Noble RC, Speake BK. Relationship between vitamin E content and susceptibility to lipid peroxidation in tissues of the newly hatched chick. *Br Poult Sci* 1999; 40(3):406-10.
- (380) Zhang Y, Turunen M, Appelkvist EL. Restricted uptake of dietary coenzyme Q is in contrast to the unrestricted uptake of  $\alpha$ -tocopherol into rat organs and cells. *J Nutr* 1996; 126(9):2089-97.
- (381) Buttriss JL, Diplock AT. The alpha-tocopherol and phospholipid fatty acid content of rat liver subcellular membranes in vitamin E and selenium deficiency. *Biochim Biophys Acta* 1988; 963(1):61-9.
- (382) Drevon CA. Absorption, metabolism and excretion of vitamin E. En: Mino M, Nakamura H, Diplock AT, Kayden HJ, editores. *Vitamin E. Its usefulness in health and in curing diseases*. Tokyo, Japón: Japan Scientific Societies Press, 1993. p. 65-83.
- (383) Surai PF. Vitamin E. En: *Natural Antioxidants in Avian Nutrition and Reproduction*. Nottingham, UK: Nottingham University Press, 2002. p. 27-128.
- (384) Morrissey PA, Brandon S, Buckley DJ, Sheehy PJ, Frigg M. Tissue content of alpha-tocopherol and oxidative stability of broilers receiving dietary alpha-tocopheryl acetate supplement for various periods pre-slaughter. *Br Poult Sci* 1997; 38(1):84-8.
- (385) Sheehy PJ, Morrissey PA, Flynn A. Influence of dietary alpha-tocopherol on tocopherol concentrations in chick tissues. *Br Poult Sci* 1991; 32(2):391-7.
- (386) Jensen C, Lauridsen C, Bertelsen G. Dietary vitamin E: Quality and storage stability of pork and poultry. *Trends Food Sci Technol* 1998; 9(2):62-72.
- (387) Malczyk E, Kopec W, Smolinska T. Influence of oil and vitamin E (alpha-tocopherol) supplementation on lipid oxidation and flavour of poultry meat. En: Cavalchini LG, Baroli D, editores. *XIV European Symposium on the Quality of Poultry Meat*; 1999 Sep 19; Bologna, Italia: 1999. p. 167-72.
- (388) Burton GW, Traber MG. Vitamin E: Antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability. *Annu Rev Nutr* 1990; 10:357-82.
- (389) Niki E, Kawakami A, Saito M, Yamamoto Y, Tsuchiya J, Kamiya Y. Effect of phytyl side chain of vitamin E on its antioxidant activity. *J Biol Chem* 1985; 260(4):2191-6.

- (390) Grams GW. Oxidation of alpha-tocopherol by singlet oxygen. *Tetrahedron Lett* 1971; 12(50):4823-5.
- (391) Suarna C, Southwell-Keely PT. Effect of alcohols on the oxidation of the vitamin E model compound, 2,2,5,7,8-pentamethyl-6-chromanol. *Lipids* 1989; 24(1):56-60.
- (392) Hogg N, Joseph J, Kalyanaraman B. The oxidation of  $\alpha$ -tocopherol and trolox by peroxynitrite. *Arch Biochem Biophys* 1994; 314(1):153-8.
- (393) Cooney RV, Harwood PJ, Franke AA, Narala K, Sundstrom AK, Berggren PO, et al. Products of gamma-tocopherol reaction with NO<sub>2</sub> and their formation in rat insulinoma (RINm5F) cells. *Free Radic Biol Med* 1995; 19(3):259-69.
- (394) Giamvala DH, Church DF, Pryor WA. Kinetics of ozonation. Reactions of ozone with alpha-tocopherol and oleate and linoleate esters in carbon tetrachloride and in aqueous micellar solvents. *J Am Chem Soc* 1986; 108:6646-51.
- (395) Ho CT, Chan AC. Regeneration of vitamin E in rat polymorphonuclear leucocytes. *FEBS Lett* 1992; 306(2-3):269-72.
- (396) Christen S, Woodall AA, Shigenaga MK, Southwell-Keely PT, Duncan MW, Ames BN.  $\gamma$ -Tocopherol traps mutagenic electrophiles such as NO<sub>x</sub> and complements  $\alpha$ -tocopherol: Physiological implications. *PNAS* 1997; 94(7):3217-22.
- (397) Liebler DC. The role of metabolism in the antioxidant function of vitamin E. *Crit Rev Toxicol* 1993; 23(2):147-69.
- (398) Böhm F, Edge R, McGarvey DJ, Truscott TG. Beta-carotene with vitamins E and C offers synergistic cell protection against NO<sub>x</sub>. *FEBS Lett* 1998; 436(3):387-9.
- (399) Constantinescu A, Han D, Packer L. Vitamin E recycling in human erythrocyte membranes. *J Biol Chem* 1993; 268(15):10906-13.
- (400) Ingold KU, Bowry VW, Stocker R, Walling C. Autoxidation of lipids and antioxidation by  $\alpha$ -tocopherol and ubiquinol in homogeneous solution and in aqueous dispersions of lipids: Unrecognized consequences of lipid particle size as exemplified by oxidation of human low density lipoprotein. *PNAS* 1993; 90(1):45-9.
- (401) Livrea MA, Tesoriere L. Interactions between vitamin A and vitamin E in liposomes and in biological contexts. *Methods Enzymol* 1999; 299:421-30.
- (402) Barclay LR, Bailey AM, Kong D. The antioxidant activity of  $\alpha$ -tocopherol-bovine serum albumin complex in micellar and liposome autoxidations. *J Biol Chem* 1985; 260(29):15809-14.
- (403) Mukai K, Itoh S, Morimoto H. Stopped-flow kinetic study of vitamin E regeneration reaction with biological hydroquinones (reduced forms of ubiquinone, vitamin K, and tocopherolquinone) in solution. *J Biol Chem* 1992; 267(31):22277-81.
- (404) Neužil J, Stocker R. Free and albumin-bound bilirubin are efficient co-antioxidants for alpha-tocopherol, inhibiting plasma and low density lipoprotein lipid peroxidation. *J Biol Chem* 1994; 269(24):16712-9.

- (405) Ernster L, Forsmark P, Nordenbrand K. The mode of action of lipid-soluble antioxidants in biological membranes: relationship between the effects of ubiquinol and vitamin E as inhibitors of lipid peroxidation in submitochondrial particles. *Biofactors* 1992; 3(4):241-8.
- (406) Benítez Zequeira DE. Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: Defensa ante el estrés oxidativo. 2006;[8 páginas]. Disponible en: URL:[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002006000200010](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002006000200010). Acceso Apr 21, 2010.
- (407) Nohl H, Jordan W. The mitochondrial site of superoxide formation. *Biochem Biophys Res Commun* 1986; 138(2):533-9.
- (408) Stoyanovsky DA, Osipov AN, Quinn PJ, Kagan VE. Ubiquinone-dependent recycling of vitamin E radicals by superoxide. *Arch Biochem Biophys* 1995; 323(2):343-51.
- (409) Kagan VE, Serbinova EA, Forte T, Scita G, Packer L. Recycling of vitamin E in human low density lipoproteins. *J Lipid Res* 1992; 33(3):385-97.
- (410) Steiner M, Anastasi J. Vitamin E. An inhibitor of the platelet release reaction. *J Clin Invest* 1976; 57(3):732-7.
- (411) Urano S, Matsuo M, Sakanaka T, Uemura I, Koyama M, Kumadaki I, et al. Mobility and molecular orientation of vitamin E in liposomal membranes as determined by <sup>19</sup>F NMR and fluorescence polarization techniques. *Arch Biochem Biophys* 1993; 303(1):10-4.
- (412) Ahkong QF, Fisher D, Tampion W, Lucy JA. The fusion of erythrocytes by fatty acids, esters, retinol and alpha-tocopherol. *Biochem J* 1973; 136(1):147-55.
- (413) Azzi A, Gysin R, Kempna P, Munteanu A, Villacorta L, Visarius T, et al. Regulation of gene expression by alpha-tocopherol. *Biol Chem* 2004; 385(7):585-91.
- (414) Boscoboinik D, Szewczyk A, Azzi A. Alpha-tocopherol (vitamin E) regulates vascular smooth muscle cell proliferation and protein kinase C activity. *Arch Biochem Biophys* 1991; 286(1):264-9.
- (415) Mahoney CW, Azzi A. Vitamin E inhibits protein kinase C activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 154(2):694-7.
- (416) Ricciarelli R, Tasinato A, Clement S, Ozer NK, Boscoboinik D, Azzi A.  $\alpha$ -Tocopherol specifically inactivates cellular protein kinase C  $\alpha$  by changing its phosphorylation state. *Biochem J* 1998; 334(Pt 1):243-9.
- (417) Aratri E, Spycher SE, Breyer I, Azzi A. Modulation of alpha-tropomyosin expression by alpha-tocopherol in rat vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett* 1999; 447(1):91-4.
- (418) Kunisaki M, Bursell SE, Umeda F, Nawata H, King GL. Normalization of diacylglycerol-protein kinase C activation by vitamin E in aorta of diabetic rats and cultured rat smooth muscle cells exposed to elevated glucose levels. *Diabetes* 1994; 43(11):1372-7.

- (419) Tran K, Proulx PR, Chan AC. Vitamin E suppresses diacylglycerol (DAG) level in thrombin-stimulated endothelial cells through an increase of DAG kinase activity. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1212(2):193-202.
- (420) Cachia O, Benna JE, Pedruzzi E, Descomps B, Gougerot-Pocidallo MA, Leger CL.  $\alpha$ -tocopherol inhibits the respiratory burst in human monocytes. Attenuation of p47phox membrane translocation and phosphorylation. *J Biol Chem* 1998; 273(49):32801-5.
- (421) Chan AC, Wagner M, Kennedy C, Mroske C, Proulx PR, Lanuville O, et al. Vitamin E up-regulates phospholipase A2, arachidonic acid release and cyclooxygenase in endothelial cells. *Aktuel Ernahrungsmed* 1998; 23(3):152-9.
- (422) Tran K, Wong JT, Lee E, Chan AC, Choy PC. Vitamin E potentiates arachidonate release and phospholipase A2 activity in rat heart myoblastic cells. *Biochem J* 1996; 319(Pt 2):385-91.
- (423) Rousseau B. Sensory evaluation techniques. En: Nollet LML, editor. *Handbook of Food Analysis. Physical Characterization and Nutrient Analysis*. New York: Macel Dekker, Inc., 2004. p. 21-38.
- (424) Sabor. 2010;[7 páginas]. Disponible en: URL:<http://es.wikipedia.org/wiki/Sabor>. Acceso May 17, 2010.
- (425) Farmer LJ. Poultry meat flavor. En: Richardson RI, Mead GC, editores. *Poultry Meat Science*. Wallingford, UK: CAB International, 1999. p. 127-58.
- (426) González-Esquerra R, Leeson S. Effects of menhaden oil and flaxseed in broiler diets on sensory quality and lipid composition of poultry meat. *Br Poult Sci* 2000; 41(4):481-8.
- (427) González-Esquerra R, Leeson S. Alternatives for enrichment of eggs and chicken meat with omega-3 fatty acids. *Can J Anim Sci* 2001; 81(3):295-305.
- (428) Noble RC. Manipulation of the nutritional value of eggs. En: Garnsworthy PC, Wiseman J, editores. *Recent Advances in Animal Nutrition*. Nottingham: University Press, 1998. p. 49-66.
- (429) Surai PF, Sparks NHC. Designer eggs: from improvement of egg composition to functional food. *Trends Food Sci Technol* 2001; 12(1):7-16.
- (430) Van Elswyk ME. Comparison of n-3 fatty acid sources in laying hen rations for improvement of whole egg nutritional quality: a review. *Br J Nutr* 1997; 78 Suppl 1:S61-S69.
- (431) González-Esquerra R, Leeson S. Effect of feeding hens regular or deodorized menhaden oil on production parameters, yolk fatty acid profile, and sensory quality of eggs. *Poult Sci* 2000; 79(11):1597-602.
- (432) Ahn DU, Sunwoo HH, Wolfe FH, Sim JS. Effects of dietary  $\gamma$ -linolenic acid and strain of hen on the fatty acid composition, storage stability, and flavor characteristics of chicken eggs. *Poult Sci* 1995; 74:1540-7.

- (433) Bou R, Guardiola F, Tres A, Barroeta AC, Codony R. Effect of dietary fish oil, alpha-tocopheryl acetate, and zinc supplementation on the composition and consumer acceptability of chicken meat. *Poult Sci* 2004; 83(2):282-92.
- (434) Crawford L, Kretsch MJ, Peterson DW, Lilyblade AL. The remedial and preventive effect of dietary  $\alpha$ -tocopherol on the development of fishy flavor in turkey meat. *J Food Sci* 1975; 40(4):751-5.
- (435) De Winne A, Dirinck P. Studies on vitamin E and meat quality. 2. Effect of feeding high vitamin E levels on chicken meat quality. *J Agric Food Chem* 1996; 44(7):1691-6.
- (436) Sheldon BW, Curtis PA, Dawson PL, Ferket PR. Effect of dietary vitamin E on the oxidative stability, flavor, color, and volatile profiles of refrigerated and frozen turkey breast meat. *Poult Sci* 1997; 76(4):634-41.
- (437) Leeson S, Caston L, MacLaurin T. Organoleptic evaluation of eggs produced by laying hens fed diets containing graded levels of flaxseed and vitamin E. *Poult Sci* 1998; 77(9):1436-40.
- (438) Lauria M, Núñez DA, inventores; Thorpe North & Western, apoderado. Procedure to obtain a product consisting in a partially low-fat flour with a high content of stabilized, polyunsaturated fatty acids, especially omega3. US patente 7108883 B2. 2006 Sep 19.
- (439) AACC International. Method 44-16.01. Moisture-air-oven (aluminum-plate) method. En *Approved Methods of Analysis*, 11th Ed. Aprobado 1995. AACC International, St.Paul, MN, USA.
- (440) AACC International. Method 46-12.01. Crude protein-Kjeldahl method, boric acid modification. En *Approved Methods of Analysis*, 11th Ed. Aprobado 1995. AACC International, St.Paul, MN, USA.
- (441) AACC International. Method 30-25.01. Crude fat in wheat, corn, and soy flour, feeds, and mixed feeds. En *Approved Methods of Analysis*, 11th Ed. Aprobado 1995. AACC International, St.Paul, MN, USA.
- (442) AACC International. Method 32-10.01. Crude fiber in flours, feeds, and feedstuffs. En *Approved Methods of Analysis*, 11th Ed. Aprobado 1995. AACC International, St.Paul, MN, USA.
- (443) AACC International. Method 08-01.01. Ash-basic method. En *Approved Methods of Analysis*, 11th Ed. Aprobado 1995. AACC International, St.Paul, MN, USA.
- (444) AACC International. Method 22-90.01. Measurement of urease activity. En *Approved Methods of Analysis*, 11th Ed. Aprobado 1969. AACC International, St.Paul, MN, USA.
- (445) AOCS. AOCS Official Method Ce 2-66. Preparation of methyl esters of fatty acids. Alternate method for fats and oils. Aprobado 1997. The American Oil Chemists' Society, Urbana, IL, USA.



- (446) Sibbald IR. A bioassay for true metabolizable energy in feedingstuffs. *Poult Sci* 1976; 55(1):303-8.
- (447) ASTM International. ASTM Standard D 2015-85. Standard test method for gross calorific value of coal and coke by the adiabatic bomb calorimeter. Aprobado 1987. ASTM International, West Conshohocken, PA, USA.
- (448) N-utritión [software de formulación de raciones]. Versión 2.0. Colón, ER, Argentina.: Desarrollo de Aplicaciones para Procesos Productivos, 2003.
- (449) Cobb - Broiler nutrition supplement. 2004;[4 páginas]. Disponible en: URL:<http://www.cobb-vantress.com/>. Acceso Apr 27, 2007.
- (450) Rostagno HS, Teixeira Albino LF, Lopes Donzele JL, Gomes PC, de Oliveira RF, Lopes DC et al. Tablas brasileras para aves y cerdos. Composición de alimentos y requerimientos nutricionales. 2nd ed. Viçosa, Brasil: Departamento de Zootecnia, UFV, 2005.
- (451) Reglamento (decreto 4238/68) actualizado. 2008;[361 páginas]. Disponible en: URL:<http://www.senasa.gov.ar/Archivos/File/File753-capitulos.pdf>. Acceso May 22, 2010.
- (452) Folch J, Lees M, Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226(1):497-509.
- (453) Pariza MW, Park Y, Cook ME. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog Lipid Res* 2001; 40(4):283-98.
- (454) Llanillo M, Sanchez-Yague J, Checa A, Martin-Valmaseda EM, Felipe A. Phospholipid and fatty acid composition in stored sheep erythrocytes of different densities. *Exp Hematol* 1995; 23(3):258-64.
- (455) Buttriss JL, Diplock AT. High-performance liquid chromatography methods for vitamin E in tissues. *Methods Enzymol* 1984; 105:131-8.
- (456) Rijke DE, Sebastian JH, Demacker PNM, Vogelaar JM, Hak-Lemmers HLM, Stalenhoef AFH. The redox status of coenzyme Q10 in total LDL as an indicator of in vivo oxidative modification: Studies on subjects with familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17(1):127-33.
- (457) Instituto Argentino de Normalización y Certificación. IRAM 20003. Análisis sensorial - Guía para la instalación de locales de ensayo. Aprobado 7-7-1995. IRAM, Buenos Aires, Arg.
- (458) Instituto Argentino de Normalización y Certificación. IRAM 20001. Análisis sensorial - Vocabulario. Aprobado 7-7-1995. IRAM, Buenos Aires, Arg.
- (459) Instituto Argentino de Normalización y Certificación. IRAM 20002. Análisis sensorial - Directivas generales para la metodología. Aprobado 7-7-1995. IRAM, Buenos Aires, Arg.

- (460) Instituto Argentino de Normalización y Certificación. IRAM 20004. Análisis sensorial - Determinación de la sensibilidad del gusto. Aprobado 6-12-1996. IRAM, Buenos Aires, Arg.
- (461) Instituto Argentino de Normalización y Certificación. IRAM 20005-1. Análisis sensorial - Guía general para la selección, entrenamiento y monitoreo de evaluadores - Evaluadores seleccionados. Aprobado 6-12-1996. IRAM, Buenos Aires, Arg.
- (462) Instituto Argentino de Normalización y Certificación. IRAM 20005-2. Análisis sensorial - Guía general para la selección, entrenamiento y monitoreo de los evaluadores - Parte 2: Expertos. Aprobado 11-12-1996. IRAM, Buenos Aires, Arg.
- (463) Instituto Argentino de Normalización y Certificación. IRAM 20006. Análisis sensorial - Metodología - Iniciación y entrenamiento de evaluadores en la detección y reconocimiento de olores. Aprobado 6-12-1996. IRAM, Buenos Aires, Arg.
- (464) Instituto Argentino de Normalización y Certificación. IRAM 20014. Análisis sensorial - Evaluación de productos alimenticios por métodos usando escalas. Aprobado 8-5-1998. IRAM, Buenos Aires, Arg.
- (465) Instituto Argentino de Normalización y Certificación. IRAM 20018. Análisis sensorial - Metodología - Estimación de la magnitud. Aprobado 30-12-2002. IRAM, Buenos Aires, Arg.
- (466) Instituto Argentino de Normalización y Certificación. IRAM 20019. Análisis sensorial - Metodología - Guía general para establecer un perfil sensorial. IRAM, Buenos Aires, Arg.
- (467) Instituto Argentino de Normalización y Certificación. IRAM 20022. Análisis sensorial - Guía general y método de ensayo para la evaluación del color de los alimentos. IRAM, Buenos Aires, Arg.
- (468) InfoSTAT [software estadístico]. Versión 2008p. Córdoba, Argentina: Grupo InfoSTAT, 2008.
- (469) SAS/STAT [User's guide]. Versión 9.1. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc., 2003.
- (470) Calet C. The relative value of pellets versus mash and grain in poultry nutrition. *Worlds Poult Sci J* 1965; 21(1):23-52.
- (471) Clarke E, Wiseman J. Effects of extrusion conditions on trypsin inhibitor activity of full fat soybeans and subsequent effects on their nutritional value for young broilers. *Br Poult Sci* 2007; 48(6):703-12.
- (472) Camire ME. Protein functionality modification by extrusion cooking. *J Am Oil Chem Soc* 1991; 68(3):200-5.
- (473) Riaz, Mian. Extruding full fat soy for maximum quality. *AFMA Matrix* 2008; 17(3):22-27.
- (474) Mittelbach M. Lipase catalyzed alcoholysis of sunflower oil. *J Am Oil Chem Soc* 1990; 67(3):168-70.

- (475) 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.
- (476) Heuer B, Yaniv Z, Ravina I. Effect of late salinization of chia (*Salvia hispanica*), stock (*Matthiola tricuspidata*) and evening primrose (*Oenothera biennis*) on their oil content and quality. *Ind Crops Prod* 2002; 15(2):163-7.
- (477) Peiretti PG, Gai F. Fatty acid and nutritive quality of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and plant during growth. *Anim Feed Sci Technol* 2009; 148(2):267-75.
- (478) Hrdinka C, Zollitsch W, Knaus W, Lettner F. Effects of dietary fatty acid pattern on melting point and composition of adipose tissues and intramuscular fat of broiler carcasses. *Poult Sci* 1996; 75(2):208-15.
- (479) González-Esquerra R, Leeson S. Studies on the metabolizable energy content of ground full-fat flaxseed fed in mash, pellet, and crumbled diets assayed with birds of different ages. *Poult Sci* 2000; 79(11):1603-7.
- (480) Chadha RK, Lawrence JF, Ratnayake WMN. Ion chromatographic determination of cyanide released from flaxseed under autohydrolysis conditions. *Food Addit Contam* 1995; 12(4):527-33.
- (481) Oomah BD, Mazza G, Kenaschuk EO. Cyanogenic compounds in flaxseed. *J Agric Food Chem* 1992; 40(8):1346-8.
- (482) Vetter J. Plant cyanogenic glycosides. *Toxicon* 2000; 38(1):11-36.
- (483) Bushway AA, Belyea PR, Bushway RJ. Chia seed as a source of oil, polysaccharide, and protein. *J Food Sci* 1981; 46(5):1349-50.
- (484) Bushway AA, Wilson AM, Houston L, Bushway RJ. Selected properties of the lipid and protein fractions from chia seed. *J Food Sci* 1984; 49(2):555-7.
- (485) Lin KY, Daniel JR, Whistler RL. Structure of chia seed polysaccharide exudate. *Carbohydr Polym* 1994; 23(1):13-8.
- (486) Weber CW, Gentry HS, Kohlhepp EA, McCrohan PR. The nutritional and chemical evaluation of chia seeds. *Ecol Food Nutr* 1991; 26(2):119-25.
- (487) Monroy-Torres R, Mancilla-Escobar ML, Gallaga-Solórzano JC, Medina-Godoy S, Santiago-García EJ. Protein digestibility of chia seed *Salvia hispanica* L. *Salus* 2008; 9(1).
- (488) Vazquez-Ovando A, Rosado-Rubio JG, Chel-Guerrero LA, Betancur-Ancona D. Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.). *LWT - Food Science and Technology* 2009; 42(1):168-73.
- (489) SAGPyA. Cadena de carne de pollo: Innovación y adopción de tecnología en la etapa de producción primaria. 2005;[19 páginas]. Disponible en: URL:[http://www.sagpya.mecon.gov.ar/new/0-0/programas/fao\\_sagpya/3002/Innovacionytecnologia.pdf](http://www.sagpya.mecon.gov.ar/new/0-0/programas/fao_sagpya/3002/Innovacionytecnologia.pdf). Acceso Feb 10, 2010.

- (490) Christaki EV, Florou-Paneri PC, Fortomaris PD, Tserveni-Gousi AS, Yannakopoulos AL. Effects of dietary inclusion of natural zeolite and flaxseed on broiler chickens' body fat deposition in an extended fattening period. *Arch Geflügelk* 2006; 70:106-11.
- (491) Crespo-Alcarria N, Esteve-Garcia E. Dietary fatty acid profile modifies abdominal fat deposition in broiler chickens. *Poult Sci* 2001; 80(1):71-8.
- (492) Harris WS. Fish oils and plasma lipid and lipoprotein metabolism in humans: a critical review. *J Lipid Res* 1989; 30(6):785-807.
- (493) Lu SC, Lin MH, Huang PC. A high cholesterol, (n-3) polyunsaturated fatty acid diet induces hypercholesterolemia more than a high cholesterol, (n-6) polyunsaturated fatty acid diet in hamsters. *J Nutr* 1996; 126(7):1759-65.
- (494) Rise P, Galli C. Arachidonic and docosahexaenoic acids differentially affect the expression of fatty acyl-CoA oxidase, protein kinase C and lipid peroxidation in HepG2 cells. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1999; 60(5-6):367-70.
- (495) Rosebrough RW, McMurtry JP, Vasilatos-Younken R. Dietary fat and protein interactions in the broiler. *Poult Sci* 1999; 78(7):992-8.
- (496) Sanz M, López-Bote CJ, Menoyo D, Bautista JM. Abdominal fat deposition and fatty acid synthesis are lower and  $\beta$ -oxidation is higher in broiler chickens fed diets containing unsaturated rather than saturated fat. *J Nutr* 2000; 130(12):3034-7.
- (497) Wong SH, Nestel PJ, Trimble RP, Storer GB, Illman RJ, Topping DL. The adaptive effects of dietary fish and safflower oil on lipid and lipoprotein metabolism in perfused rat liver. *Biochim Biophys Acta* 1984; 792(2):103-9.
- (498) Yamazaki RK, Shen T, Schade GB. A diet rich in (n-3) fatty acids increases peroxisomal beta-oxidation activity and lowers plasma triacylglycerols without inhibiting glutathione-dependent detoxication activities in the rat liver. *Biochim Biophys Acta* 1987; 920(1):62-7.
- (499) Lang CA, Davis RA. Fish oil fatty acids impair VLDL assembly and/or secretion by cultured rat hepatocytes. *J Lipid Res* 1990; 31(11):2079-86.
- (500) Nossen JO, Rustan AC, Gloppstad SH, Malbakken S, Drevon CA. Eicosapentaenoic acid inhibits synthesis and secretion of triacylglycerols by cultured rat hepatocytes. *Biochim Biophys Acta* 1986; 879(1):56-65.
- (501) Havenstein GB, Ferket PR, Qureshi MA. Carcass composition and yield of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poult Sci* 2003; 82(10):1509-18.
- (502) Zollitsch W, Knaus W, Aichinger F, Lettner F. Effects of different dietary fat sources on performance and carcass characteristics of broilers. *Anim Feed Sci Technol* 1997;(66):63-73.
- (503) El-Sohemy A, Archer MC. Regulation of mevalonate synthesis in rat mammary glands by dietary n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *Cancer Res* 1997; 57(17):3685-7.

- (504) Balasubramaniam S, Simons LA, Chang S, Hickie JB. Reduction in plasma cholesterol and increase in biliary cholesterol by a diet rich in n-3 fatty acids in the rat. *J Lipid Res* 1985; 26(6):684-9.
- (505) McKenney JM, Sica D. Prescription omega-3 fatty acids for the treatment of hypertriglyceridemia. *Am J Health Syst Pharm* 2007; 64(6):595-605.
- (506) Rey AI, Sanz Arias R, Soares M, Nieto J, Riopérez J, López-Bote CJ. Efecto de la inclusión de grasas insaturadas en la alimentación del conejo sobre el contenido en colesterol y ácidos grasos saturados en los tejidos. *Avances en Alimentación y Mejora Animal* 1996; 36(3):17-20.
- (507) Tarley CRT, Visentainer JV, Matsushita M, De Souza NE. Proximate composition, cholesterol and fatty acids profile of canned sardines (*Sardinella brasiliensis*) in soybean oil and tomato sauce. *Food Chem* 2004; 88(1):1-6.
- (508) Romero N, Robert P, Masson L, Luck C, Buschmann L. Composición en ácidos grasos y aporte de colesterol de conservas de jurel, sardina, salmón y atún al natural. *Arch Latinoam Nutr* 1996; 46(1):75-7.
- (509) Ntambi JM. Regulation of stearoyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol. *J Lipid Res* 1999; 40(9):1549-58.
- (510) Betti M, Pérez TI, Zuidhof MJ, Renema RA. Omega-3-enriched broiler meat: 3. Fatty acid distribution between triacylglycerol and phospholipid classes. *Poult Sci* 2009; 88(8):1740-54.
- (511) Burdge GC, Calder PC. Dietary alpha-linolenic acid and health-related outcomes: a metabolic perspective. *Nutr Res Rev* 2006; 19(1):26-52.
- (512) Hegsted DM, McGandy RB, Myers ML, Stare FJ. Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man. *Am J Clinical Nutrition* 1965; 17(5):281-95.
- (513) Anderson GJ, Connor WE, Corliss JD, Lin DS. Rapid modulation of the n-3 docosahexaenoic acid levels in the brain and retina of the newly hatched chick. *J Lipid Res* 1989; 30(3):433-41.
- (514) Azcona JO, García PT, Cossu ME, Iglesias BF, Picallo A, Pérez C, et al. Meat quality of Argentinean "Camperos" chicken enhanced in omega-3 and omega-9 fatty acids. *Meat Sci* 2008; 79(3):437-43.
- (515) Phetteplace HW, Watkins BA. Effects of various n-3 lipid sources on fatty acid compositions in chicken tissues. *J Food Compos Anal* 1989; 2(2):104-17.
- (516) Ponte PIP, Prates JAM, Crespo JP, Crespo DG, Mourao JL, Alves SP, et al. Improving the lipid nutritive value of poultry meat through the incorporation of a dehydrated leguminous-based forage in the diet for broiler chicks. *Poult Sci* 2008; 87(8):1587-94.
- (517) Rogel AM, Watkins BA. Liver subcellular fatty acid profiles of chicks fed diets containing hydrogenated fats and varying linoleate levels. *Lipids* 1987; 22(9):637-42.

- (518) Watkins BA. Importance of essential fatty acids and their derivatives in poultry. *J Nutr* 1991; 121(9):1475-85.
- (519) Yau JC, Denton JH, Bailey CA, Sams AR. Customizing the fatty acid content of broiler tissues. *Poult Sci* 1991; 70:167-72.
- (520) Dupont J, White PJ, Feldman EB. Saturated and hydrogenated fats in food in relation to health. *J Am Coll Nutr* 1991; 10(6):577-92.
- (521) Lichtenstein AH. Dietary fat, carbohydrate, and protein: effects on plasma lipoprotein patterns. *J Lipid Res* 2006; 47(8):1661-7.
- (522) Kennedy A, Martinez K, Chuang CC, LaPoint K, McIntosh M. Saturated fatty acid-mediated inflammation and insulin resistance in adipose tissue: mechanisms of action and implications. *J Nutr* 2009; 139(1):1-4.
- (523) Hayes KC, Khosla P. Dietary fatty acid thresholds and cholesterolemia. *FASEB J* 1992; 6(8):2600-7.
- (524) Khosla P, Hajri T, Pronczuk A, Hayes KC. Decreasing dietary lauric and myristic acids improves plasma lipids more favorably than decreasing dietary palmitic acid in Rhesus monkeys fed AHA step 1 type diets. *J Nutr* 1997; 127(3):525S-30S.
- (525) Kummrow E, Hussain MM, Pan M, Marsh JB, Fisher EA. Myristic acid increases dense lipoprotein secretion by inhibiting apoB degradation and triglyceride recruitment. *J Lipid Res* 2002; 43(12):2155-63.
- (526) Nir I, Nitsan Z, Keren-Zvi S. Fat deposition in birds. En: Leclercq B, Whitehead CC, editores. *Leanness in domestic birds*. London: Butterworth, 1988. p. 141-74.
- (527) Sim JS, Qi GH. Designing poultry products using flaxseed. En: Cunnane SC, Thompson LU, editores. *Flaxseed in Human Nutrition*. Champaign, IL: AOCS Press, 1995. p. 315-33.
- (528) Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE, Rimm EB, Colditz GA, Rosner BA, et al. Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 1997; 337(21):1491-9.
- (529) Pietinen P, Ascherio A, Korhonen P, Hartman AM, Willett WC, Albanes D, et al. Intake of fatty acids and risk of coronary heart disease in a cohort of finnish men: The alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study. *Am J Epidemiol* 1997; 145(10):876-87.
- (530) Brenner RR. Factors influencing fatty acid chain elongation and desaturation. En: Ergoesen AJ, Crawford M, editores. *The role of fats in human nutrition*. New York: Academic Press, 1989. p. 45-79.
- (531) Garg ML, Sebokova E, Wierzbicki A, Thomson A, Clandinin M. Differential effects of dietary linoleic and  $\alpha$ -linolenic acid on lipid metabolism in rat tissues. *Lipids* 1988; 23(9):847-52.

- (532) Antueno RJ, Cantrill RC, Huang YS, Raha SK, Elliot M, Horrobin DF. Effect of n-3 and n-6 fatty acids on hepatic microsomal lipid metabolism: a time course study. *Mol Cell Biochem* 1992; 116(2):153-61.
- (533) López-Ferrer S, Baucells MD, Barroeta AC, Galobart J, Grashorn MA. n-3 enrichment of chicken meat. 2. Use of precursors of long-chain polyunsaturated fatty acids: linseed oil. *Poult Sci* 2001; 80(6):753-61.
- (534) Hargis PS, Van Elswyk ME, Hargis B. Dietary modification of yolk lipid with arenque oil. *Poult Sci* 1991; 70:874-83.
- (535) Cachaldora P, García-Rebollar P, Álvarez C, Méndez J, De Blas JC. Double enrichment of chicken eggs with conjugated linoleic acid and n-3 fatty acids through dietary fat supplementation. *Anim Feed Sci Technol* 2008; 144:315-26.
- (536) Ascherio A. Epidemiologic studies on dietary fats and coronary heart disease. *Am J Med* 2002; 113(9, Supplement 2):9-12.
- (537) Binkoski AE, Kris-Etherton PM, Wilson TA, Mountain ML, Nicolosi RJ. Balance of unsaturated fatty acids is important to a cholesterol-lowering diet: comparison of mid-oleic sunflower oil and olive oil on cardiovascular disease risk factors. *J Am Diet Assoc* 2005; 105(7):1080-6.
- (538) Oh K, Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Willett WC. Dietary fat intake and risk of coronary heart disease in women: 20 years of follow-up of the nurses' health study. *Am J Epidemiol* 2005; 161(7):672-9.
- (539) De Caterina R. Endothelial dysfunctions: common denominators in vascular disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000; 3(6):453-67.
- (540) Lapointe A, Couillard C, Lemieux S. Effects of dietary factors on oxidation of low-density lipoprotein particles. *J Nutr Biochem* 2006; 17(10):645-58.
- (541) Wahrburg U. What are the health effects of fat? *Eur J Nutr* 2004; 43 Suppl 1:I/6-I11.
- (542) Caston L, Leeson S. Dietary flaxseed and egg composition. *Poult Sci* 1990; 69:617-20.
- (543) Bondia Pons I. Estudio del perfil de ácidos grasos en la evaluación de la Dieta Mediterránea como patrón de dieta saludable en poblaciones europeas [Tesis Doctoral]. Barcelona, España: Universitat de Barcelona, 2007.
- (544) Eritsland J, Arnesen H, Gronseth K, Fjeld NB, Abdelnoor M. Effect of dietary supplementation with n-3 fatty acids on coronary artery bypass graft patency. *Am J Cardiol* 1996; 77(1):31-6.
- (545) Grau A, Guardiola F, Grimpa S, Barroeta AC, Codony R. Oxidative stability of dark chicken meat through frozen storage: influence of dietary fat and alpha-tocopherol and ascorbic acid supplementation. *Poult Sci* 2001; 80(11):1630-42.
- (546) Cherian G, Traber MG, Goeger MP, Leonard SW. Conjugated Linoleic Acid and Fish Oil in Laying Hen Diets: Effects on Egg Fatty Acids, Thiobarbituric Acid

- Reactive Substances, and Tocopherols During Storage. *Poult Sci* 2007; 86(5):953-8.
- (547) Álvarez C, Cachaldora P, Méndez J, García-Rebollar P, De Blas JC. Effects of dietary conjugated linoleic acid and fish oil supplementation on performance and egg quality in laying hens. *Br Poult Sci* 2004; 45(4):524-9.
- (548) Cachaldora P, García-Rebollar P, Álvarez C, De Blas JC, Méndez J. Effect of type and level of basal fat and level of fish oil supplementation on yolk fat composition and n-3 fatty acids deposition efficiency in laying hens. *Anim Feed Sci Technol* 2008; 141(1-2):104-14.
- (549) Cachaldora P, García-Rebollar P, Álvarez C, De Blas JC, Méndez J. Effect of type and level of fish oil supplementation on yolk fat composition and n-3 fatty acids retention efficiency in laying hens. *Br Poult Sci* 2006; 47(1):43-9.
- (550) Herber-McNeill SM, Van Elswyk ME. Dietary marine algae promotes efficient deposition of n-3 fatty acids for the production of enriched shell eggs. *Poult Sci* 1996; 75(12):1501-7.
- (551) Grobas S, Méndez J, Lázaro R, De Blas JC, González-Mateos G. Influence of source and percentage of fat added to diet on performance and fatty acid composition of egg yolks of two strains of laying hens. *Poult Sci* 2001; 80(8):1171-9.
- (552) Schreiner M, Hulan HW, Razzazi-Fazeli E, Bohm J, Iben C. Feeding laying hens seal blubber oil: effects on egg yolk incorporation, stereospecific distribution of omega-3 fatty acids, and sensory aspects. *Poult Sci* 2004; 83(3):462-73.
- (553) Holman RT. The slow discovery of the importance of omega 3 essential fatty acids in human health. *J Nutr* 1998; 128(2):427S.
- (554) Simopoulos AP. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother* 2002; 56(8):365-79.
- (555) Sprecher H. Interaction between metabolism of n-6 and n-3 fatty acids. *J Intern Med* 1989; 225:5-11.
- (556) Grønn M, Christensen E, Hagve TA, Christophersen BO. Effects of dietary purified eicosapentaenoic acid (20:5 (n-3)) and docosahexaenoic acid (22:6(n-3)) on fatty acid desaturation and oxidation in isolated rat liver cells. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1125(1):35-43.
- (557) Whelan J, Broughton KS, Kinsella JE. The comparative effects of dietary alpha-linolenic acid and fish oil on 4- and 5-series leukotriene formation in vivo. *Lipids* 1991; 26(2):119-26.
- (558) Deckelbaum RJ, Akabas SR. n-3 Fatty acids and cardiovascular disease: navigating toward recommendations. *Am J Clinical Nutrition* 2006; 84(1):1-2.
- (559) Kinsella JE, Lokesh B, Stone RA. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms. *Am J Clinical Nutrition* 1990; 52(1):1-28.



- (560) Seo T, Blaner WS, Deckelbaum RJ. Omega-3 fatty acids: molecular approaches to optimal biological outcomes. *Curr Opin Lipidol* 2005; 16(1):11-8.
- (561) Ayerza R, Coates W. Effect of dietary alpha-linolenic fatty acid derived from chia when fed as ground seed, whole seed and oil on lipid content and fatty acid composition of rat plasma. *Ann Nutr Metab* 2007; 51(1):27-34.
- (562) Avallone R, Rustichelli C, Campioli E, Notarangelo FMP, Braghiroli D, Baraldi M. Alpha-linolenic acid and linoleic acid in serum and tissues after flaxseed (*Linum usitatissimum*) oil in vivo administration. *J Food Lipids* 2009; 16(3):287-96.
- (563) Carrillo-Domínguez S, Carranco-Jauregui ME, Castillo-Domínguez RM, Castro-González MI, Ávila-González E, Pérez-Gil F. Cholesterol and n-3 and n-6 fatty acid content in eggs from laying hens fed with red crab meal (*Pleuroncodes planipes*). *Poult Sci* 2005; 84(1):167-72.
- (564) Djoussé L, Pankow JS, Eckfeldt JH, Folsom AR, Hopkins PN, Province MA, et al. Relation between dietary linolenic acid and coronary artery disease in the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Am J Clinical Nutrition* 2001; 74(5):612-9.
- (565) Olomu JM, Baracos VE. Influence of dietary flaxseed oil on the performance, muscle protein deposition, and fatty acid composition of broiler chicks. *Poult Sci* 1991; 70(6):1403-11.
- (566) López-Ferrer S, Baucells MD, Barroeta AC, Grashorn MA. n-3 enrichment of chicken meat using fish oil: alternative substitution with rapeseed and linseed oils. *Poult Sci* 1999; 78(3):356-65.
- (567) Ponte PIP, Alves SP, Bessa RJB, Ferreira LMA, Gama LT, Bras JLA, et al. Influence of pasture intake on the fatty acid composition, and cholesterol, tocopherols, and tocotrienols content in meat from free-range broilers. *Poult Sci* 2008; 87(1):80-8.
- (568) Zuidhof MJ, Betti M, Korver DR, Hernández FIL, Schneider BL, Carney VL, et al. Omega-3-enriched broiler meat: 1. Optimization of a production system. *Poult Sci* 2009; 88(5):1108-20.
- (569) Cao J, Schwichtenberg KA, Hanson NQ, Tsai MY. Incorporation and clearance of omega-3 fatty acids in erythrocyte membranes and plasma phospholipids. *Clin Chem* 2006; 52(12):2265-72.
- (570) Gerster H. Can adults adequately convert alpha-linolenic acid (18:3n-3) to eicosapentaenoic acid (20:5n-3) and docosahexaenoic acid (22:6n-3)? *Int J Vitam Nutr Res* 1998; 68(3):159-73.
- (571) Huang ZB, Leibovitz H, Lee CM, Millar R. Effect of dietary fish on omega-3 fatty acid levels in chicken eggs and thigh flesh. *J Agric Food Chem* 1990.
- (572) Food and Agricultural Organization, Organización Mundial de la Salud. Grasas y aceites en la nutrición humana. Consulta FAO/OMS a expertos. 1997;[6 páginas]. Disponible en: URL:<http://www.fao.org/docrep/V4700S/v4700s05.htm>. Acceso Mar 19, 2010.

- (573) Abayasekara DR, Wathes DC. Effects of altering dietary fatty acid composition on prostaglandin synthesis and fertility. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1999; 61(5):275-87.
- (574) Okuyama H, Kobayashi T, Watanabe S. Dietary fatty acids -- The n-6/n-3 balance and chronic elderly diseases. Excess linoleic acid and relative n-3 deficiency syndrome seen in Japan. *Prog Lipid Res* 1996; 35(4):409-57.
- (575) Maes M, Smith R, Christophe A, Cosyns P, Desnyder R, Meltzer H. Fatty acid composition in major depression: decreased omega 3 fractions in cholesteryl esters and increased C20: 4 omega 6/C20:5 omega 3 ratio in cholesteryl esters and phospholipids. *J Affect Disord* 1996; 38(1):35-46.
- (576) Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997; 82(2):291-5.
- (577) Terrasa AM, Guajardo MH, Catalá A. Chemiluminescence studies on the effect of fatty acid hydroperoxides in biological systems with emphasis in retina. En: Popov I, Lewin G, editores. *Handbook of chemiluminescent methods in oxidative stress assessment*. Research Signpost, 2008. p. 263-80.
- (578) Chicco AJ, Sparagna GC. Role of cardiolipin alterations in mitochondrial dysfunction and disease. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007; 292(1):C33-C44.
- (579) Malis CD, Weber PC, Leaf A, Bonventre JV. Incorporation of marine lipids into mitochondrial membranes increases susceptibility to damage by calcium and reactive oxygen species: Evidence for enhanced activation of phospholipase A2 in mitochondria enriched with n-3 fatty acids. *PNAS* 1990; 87(22):8845-9.
- (580) Hong MY, Chapkin RS, Barhoumi R, Burghardt RC, Turner ND, Henderson CE, et al. Fish oil increases mitochondrial phospholipid unsaturation, upregulating reactive oxygen species and apoptosis in rat colonocytes. *Carcinogenesis* 2002; 23(11):1919-26.
- (581) Pamplona R, Barja G, Portero-Otin M. Membrane fatty acid unsaturation, protection against oxidative stress, and maximum life span: a homeoviscous-longevity adaptation? *Ann N Y Acad Sci* 2002; 959:475-90.
- (582) Swanson JE, Kinsella JE. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids: Modification of rat cardiac lipids and fatty acid composition. *J Nutr* 1986; 116(4):514-23.
- (583) Ferioli F, Caboni MF, Dutta PC. Evaluation of cholesterol and lipid oxidation in raw and cooked minced beef stored under oxygen-enriched atmosphere. *Meat Sci* 2008; 80(3):681-5.
- (584) Luna A, Labaque MC, Zygadlo JA, Marin RH. Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat. *Poult Sci* 2010; 89(2):366-70.
- (585) Reyes-Caudillo E, Tecante A, Valdivia-López MA. Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Food Chem* 2008; 107(2):656-63.

- (586) Cortinas Hernández L, Barroeta AC, Villaverde Haro C, Galobart J, Guardiola F, Baucells MD. Influence of the dietary polyunsaturation level on chicken meat quality: lipid oxidation. *Poult Sci* 2005; 84(1):48-55.
- (587) Gutiérrez AM, Reboredo GR, Mosca SM, Catalá A. High resistance to lipid peroxidation of bird heart mitochondria and microsomes: Effects of mass and maximum lifespan. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2009; 154(3):409-16.
- (588) Aksu MI, Karaoglu M, Esenbuga N, Kaya M, Macit M. Effect of meat piece, packaging and storage on pH, thiobarbituric acid reactive substances and microbial counts in broilers fed diets supplemented with ram horn hydrolysate. *Food Sci Technol Int* 2006; 12(2):133-43.
- (589) Fagali N, Catalá A. The effect of melatonin and structural analogues on the lipid peroxidation of triglycerides enriched in omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Life Sci* 2007; 81(4):299-305.
- (590) Fagali N, Catalá A. Antioxidant activity of conjugated linoleic acid isomers, linoleic acid and its methyl ester determined by photoemission and DPPH techniques. *Biophys Chem* 2008; 137(1):56-62.
- (591) Terrasa AM, Guajardo MH, de Armas Sanabria E, Catalá A. Pulmonary surfactant protein A inhibits the lipid peroxidation stimulated by linoleic acid hydroperoxide of rat lung mitochondria and microsomes. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1735(2):101-10.
- (592) Kang KR, Cherian G, Sim JS. Dietary palm oil alters the lipid stability of polyunsaturated fatty acid-modified poultry products. *Poult Sci* 2001; 80(2):228-34.
- (593) Kennedy OB, Stewart-Knox BJ, Mitchell PC, Thurnham DI. Vitamin E supplementation, cereal feed type and consumer sensory perceptions of poultry meat quality. *Br J Nutr* 2005; 93(3):333-8.
- (594) Diplock AT. Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. *Am J Clinical Nutrition* 1991; 53(1):189S-93S.
- (595) Di Mascio P, Murphy ME, Sies H. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am J Clinical Nutrition* 1991; 53(1):194S-200.
- (596) Weisburger JH. Nutritional approach to cancer prevention with emphasis on vitamins, antioxidants, and carotenoids. *Am J Clinical Nutrition* 1991; 53(1):226S-237.
- (597) Gatellier P, Mercier Y, Rock E, Renerre M. Influence of dietary fat and vitamin E supplementation on free radical production and on lipid and protein oxidation in turkey muscle extracts. *J Agric Food Chem* 2000; 48(5):1427-33.
- (598) Renerre M, Poncet K, Mercier Y, Gatellier P, Metro B. Influence of dietary fat and vitamin E on antioxidant status of muscles of turkey. *J Agric Food Chem* 1998; 47(1):237-44.

- (599) Carreras I, Castellari M, García Regueiro JA, Guerrero L, Esteve-Garcia E, Sarraga C. Influence of enrofloxacin administration and alpha-tocopheryl acetate supplemented diets on oxidative stability of broiler tissues. *Poult Sci* 2004; 83(5):796-802.
- (600) Mandic AI, Pavlovic A, Džinic N, Popov-Ralji JV. Effects of -tocopheryl acetate addition to the chicken feed on the sensory characteristics and -tocopherol content in meat. *Biotechnol Anim Husb* 2003; 19(1-2):49-56.
- (601) Galvin K, Morrissey PA, Buckley DJ. Influence of dietary vitamin E and oxidised sunflower oil on the storage stability of cooked chicken muscle. *Br Poult Sci* 1997; 38(5):499-504.
- (602) Sauveur B. Les critères et facteurs de la qualité des poulets Label Rouge. *INRA Prod Anim* 1997; 10(3):219-26.
- (603) Manilla A, Husvéth F. n-3 fatty acid enrichment and oxidative stability of broiler chicken (A review). *Acta Alimentaria* 1999; 28(3):235-49.
- (604) Duxbury DD. R&D directions for the 1990's. *Food Process* 1988; 49(8):19-28.
- (605) Ábalo C. Especialización agroalimentaria y diversificación industrial en la Argentina. Hacia un nuevo paradigma de inserción en la economía internacional. En: Secretaría de Planeamiento Estratégico, editor. *La Revolución de los Alimentos y la Proyección Internacional de la Argentina*; 1998 Mar 25; Buenos Aires, Argentina: Catálogos S.R.L.; 1998.
- (606) Poste LM. A sensory perspective of effect of feeds on flavor in meats: poultry meats. *J Anim Sci* 1990; 68(12):4414-20.
- (607) Whitfield FB. Volatiles from interactions of Maillard reactions and lipids. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1992; 31(1-2):1-58.
- (608) Hargis PS, Van Elswyk ME. Manipulating the fatty acid composition of poultry meat and eggs for the health conscious consumer. *Worlds Poult Sci J* 1993; 49(3):251-64.
- (609) Marshall AC, Kubena KS, Hinton KR, Hargis PS, Van Elswyk ME. n-3 fatty acid enriched table eggs: a survey of consumer acceptability. *Poult Sci* 1994; 73(8):1334-40.
- (610) Scheideler SE, Froning G, Cuppett S. Studies of consumer acceptance of high omega-3 fatty acid-enriched eggs. *J Appl Poult Res* 1997; 6(2):137-46.
- (611) Mooney JW, Hirschler EM, Kennedy A, Sams AR, Van Elswyk ME. Lipid and flavour quality of stored breast meat from broilers fed marine algae. *J Sci Food Agric* 1998; 78(1):134-40.
- (612) Bou R, Guardiola F, Barroeta AC, Codony R. Effect of dietary fat sources and zinc and selenium supplements on the composition and consumer acceptability of chicken meat. *Poult Sci* 2005; 84(7):1129-40.

- (613) Simopoulos AP. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp Biol Med* 2008; 233(6):674-88.