

## Perfil lipídico sérico de gallinas ponedoras alimentadas con niveles de semilla de calabaza (*Cucurbita maxima*)

Y. Martínez<sup>1</sup>, M. Valdiviá<sup>2</sup>, Mirna Estarrón<sup>3</sup>, G. Solano<sup>4</sup> y J. Córdova<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Granma, Aptado Postal 21, Bayamo, Granma, C.P 85300, Cuba

<sup>2</sup>Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de Las Lajas, La Habana, Cuba

<sup>3</sup>Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Av. Normalistas 800, Guadalajara Jal. México

<sup>4</sup>Instituto de Investigaciones Agropecuarias «Jorge Dimitrov», Bayamo, Granma, C.P 85300, Cuba

<sup>5</sup>Universidad de Guadalajara, Departamento de Ing. Química. Blvd. Marcelino García Barragán 1421, Guadalajara, Jalisco, México

Correo electrónico: ymartineza@udg.co.cu

Para evaluar el perfil lipídico sérico y el comportamiento productivo de gallinas ponedoras a las 45 semanas de edad, se ubicaron durante 91 d, según diseño completamente aleatorizado, en cuatro tratamientos y 20 repeticiones, 160 gallinas ponedoras White Leghorn (L<sub>33</sub>) en pico de puesta. Los tratamientos consistieron en dietas que contenían: 0, 3.3, 6.6 y 10 % de inclusión de harina de semilla de calabaza (HSC) en el pienso. La viabilidad, intensidad de puesta, conversión masal y peso del huevo no difirieron significativamente entre tratamientos. La concentración de los triacilglicéridos, colesterol total, lipoproteínas de baja densidad (LBD) y lipoproteínas de muy baja densidad (LMBD) disminuyeron en 21.7, 33.7, 16.3 y 55.3 mg/dL, respectivamente, con 10 % de HSC en el pienso, con respecto al control. Además, disminuyó el índice aterogénico de 3.33 a 2.96 y aumentaron las lipoproteínas de alta densidad (LAD), de 47.46 a 49.92 mg/dL, cuando se incluyó en el pienso hasta 10 % de HSC. Los ácidos octadecanoico (C18:0), oleico (C18:1n9), linoleico (C18:2n6) y  $\alpha$ -linolénico (C18:3n3) se incrementaron en 66.79, 21.60, 57.73 y 20.10 mg/dL, respectivamente; mientras que el ácido araquidónico (C20:4n6) descendió a 6.69 mg/dL, con la inclusión de 10 % de HSC en el pienso, con respecto al control. Se recomienda utilizar hasta 10 % de harina de semilla de calabaza en las dietas de gallinas ponedoras para sustituir aceite vegetal y torta de soya importada, disminuir los lípidos perjudiciales y aumentar los ácidos grasos esenciales circulantes en el suero sanguíneo, sin dañar el comportamiento productivo de las gallinas.

Palabras clave: *semilla, calabaza, gallinas, lípidos.*

La composición química de los alimentos determina, en gran medida, la circulación sanguínea de los triacilglicéridos, fosfolípidos, LBD, LAD, el colesterol total y el perfil de ácidos grasos en animales monogástricos (Grobos y Mateos 1996).

La inclusión de los ácidos grasos esenciales, como el  $\alpha$ -linolénico y linoleico, en la dieta de las aves reduce los lípidos séricos perjudiciales (Ayerza y Coates 2000); mientras que los omega 3 y omega 6 aumentan las LAD, y disminuyen los cuadros aterogénicos y la disfunción endotelial en las aves. Esto puede mejorar la calidad del huevo como producto final, además de beneficiar al consumidor (Buitrago *et al.* 2005 y Paluo *et al.* 2005).

La calabaza es una cucurbitácea, cuya masa contiene mucha agua y pocas propiedades nutritivas. Sin embargo, sus semillas se consideran como un alimento completo (Martínez *et al.* 2008), rico en proteínas, ácidos esenciales, fitoesteroles y escualeno. Estos últimos pueden originar hipolipemia (Carbin *et al.* 1990 y Kerise *et al.* 2008).

El objetivo de este trabajo es evaluar el perfil lipídico sérico de gallinas ponedoras, alimentadas con diferentes niveles de inclusión de harina de semilla de calabaza en las dietas, en sustitución total y parcial del aceite vegetal y la torta de soya, respectivamente, ambos importados.

### Materiales y Métodos

La investigación se desarrolló en la Unidad Experimental Avícola del Instituto de Ciencia Animal, ubicado

en la provincia de La Habana, Cuba. Se recolectaron y mezclaron cinco muestras de semillas de calabazas enteras, de cinco lotes de la variedad INIVIT C-88, especie maxima, obtenidas en la Empresa de Semillas de San Antonio de los Baños, Cuba.

Un total de 160 gallinas ponedoras de la raza White Leghorn (Híbrido L<sub>33</sub>), de 33 semanas de edad (en pleno pico de puesta), se ubicaron durante 91 d, según diseño completamente aleatorizado, en cuatro tratamientos (dietas con 0, 3.3, 6.6 y 10 % de harina de semilla de calabaza) y 20 repeticiones (2 aves/huevo).

A las semillas de calabaza se les determinó: materia seca (94.3 %), cenizas (4.5 %), proteína bruta (33.63 %), extracto etéreo (34.2 %) y fibra bruta (16.25 %) según la AOAC (1995), y la proteína verdadera (31.83 %), de acuerdo con Bernstein *et al.* (1977). La fibra detergente neutro (35.48 %), fibra detergente ácido (26.92 %), hemicelulosa (8.57 %) y lignina ácido detergente (13.73 %) se hallaron según van Soest (1994). El contenido de calcio (0.66 %) y fósforo total (0.21 %) se determinó por espectrofotometría de absorción atómica (NOM 1994). La fracción lipídica se muestra en la tabla 1. Los índices de ranciedad y peróxidos se determinaron en muestras conservadas durante cinco meses, mediante cromatografía gas-líquido, de acuerdo con NMX-F-4090 (1999).

Para determinar el contenido de fitoesteroles, fitoesteranos y escualeno se utilizó la técnica descrita por Giacometti (2001), mediante la utilización de un

Tabla 1. Principales características de la fracción lipídica de la harina de semilla de calabaza (BH)

Determinación	Concentración
Índice de peróxido (meq. de O <sub>2</sub> /kg)	19.10±0.02
Ranciedad	Negativa
Escualeno (mg/100 g)	34.71±1.58
Acidos grasos (mg/100 g)	
C16:0 Hexadecanoico	7021.03±11.55
C18:1n9 Oleico	8616.98±7.16
C18:2n6 linoleico	13894.59±8.10
C18:3n3α-linolénico	1067.08±0.89
Σ AGS	10487.13±16.40
Σ AGMI	8878.68±32.91
Σ AGPI	15232.58±26.36
AGPI/AGS	1.71±0.01
n-6/n-3	10.14±0.09
Fitoesteroles (mg/100 g) β-sitosterol	162.14±2.63
Campesterol	42.05±1.24
Stigmasterol	1.68±0.01
Stigmastenol	27.24±0.86

Media, desviación estándar (±)

AGS: Ácidos grasos saturados

AGMI: Ácidos grasos monosaturados

AGPI: Ácidos grasos poli-insaturados

n-6: Omega 6

n-3: Omega 3

cromatógrafo de gases Hewlett, Packard 6890 (Palo Alto Ca.), equipado con un detector de ionización de llama, automuestreador HP 6890 Series, y una columna HP-5 (30 m x 0.32 mm ID x 0.25 mm espesor de película). Las determinaciones químicas se realizaron en los laboratorios del Centro Tecnológico y Asistencia del Estado de Jalisco (CIATEJ), México.

Las dietas se formularon según los requerimientos recomendados por la Unión de Empresas del Centro Avícola Nacional (UECAN 2007), con el propósito de eliminar el aceite vegetal y reducir la torta de soya en las dietas de las gallinas. La unidad experimental consistió en una jaula metálica, de 40 cm x 40 cm, donde se alojaron dos gallinas. Cada ave recibió 108 g de alimento/d (UECAN 2007). El agua se suministró *ad libitum*, a través de dos bebederos niples/jaula y cada día se ofertaron 16 h de iluminación. Las gallinas se mantuvieron en estas condiciones durante un período de adaptación de dos semanas, según lo indicado por Caballero (1982). Se tuvieron en cuenta las determinaciones de energía metabolizable de la harina de semilla de calabaza realizadas por Martínez (2009) (14.22 MJ/kg MS). La composición de los piensos se muestra en la tabla 2.

El peso inicial y final de las gallinas ponedoras se realizó de forma individual, a las 33 y 45 semanas de edad, en una balanza digital SARTORIUS, modelo BL

Tabla 2. Composición de los piensos experimentales (base húmeda)

Materia prima (%)	Niveles de harina de semilla de calabaza (%)			
	0	3.3	6.6	10
Harina de maíz	57.85	58.48	57.99	56.27
Harina de torta de soya	28.00	25.20	22.89	20.72
Harina de semilla de calabaza	0.0	3.30	6.60	10.00
Aceite Vegetal	1.19	0.45	0.0	0.0
Fosfato dicálcico	1.90	1.90	1.90	1.90
Carbonato de calcio	8.65	8.62	8.60	8.58
BHT (antioxidante)	0.01	0.01	0.01	0.01
DL-Metionina	0.19	0.19	0.20	0.21
L-Lisina	0.04	0.05	0.06	0.06
Sal común	0.25	0.25	0.25	0.25
Premezcla <sup>1</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00
Zeolita	0.92	0.55	0.50	1.00
Aportes calculados				
EM (MJ/kg MS)	11.63	11.63	11.63	11.66
Proteína bruta	17.00	17.00	17.00	17.00
Lisina	0.80	0.80	0.80	0.80
Metionina	0.47	0.47	0.50	0.51
Metionina+cistina	0.73	0.73	0.73	0.73
Calcio	3.80	3.80	3.80	3.80
Fósforo disponible	0.40	0.40	0.40	0.40
Extracto etereo	2.20	3.30	4.40	5.40
Fibra bruta	3.20	3.60	4.00	4.30

<sup>1</sup> Cada kg contiene: vit. A (10 x 10<sup>6</sup> U.I.), D<sub>3</sub> (1.5 x 10<sup>6</sup> U.I.), K<sub>3</sub> (2100 mg), E (10000 mg), tiamina (800 mg), riboflavina (2500 mg), ac. pantoténico (10 000 mg), piridoxina (2 500 mg), ac. fólico (250 mg), biotina (100 mg), vit. B<sub>12</sub> (15 mg), manganeso (60 000 mg), cobre (8000 mg), hierro (60 000 mg), zinc (50 000 mg), selenio (200 mg), iodo (800 mg) cobalto (500 mg), antioxidante (125 000 mg).

1500, con precisión  $\pm 0.1$  g. El peso del huevo se determinó en todas las semanas experimentales. Se recolectaron 30 huevos de cada tratamiento, entre las 08:30 y las 9:30 a.m. Se pesaron en una balanza técnica digital SARTORIUS, modelo BL 1500, con precisión  $\pm 0.1$  g y se calculó el peso promedio.

El consumo de alimento se midió diariamente por el método de oferta y rechazo. Para determinar la intensidad de puesta se consideró la producción total de huevos/semana/tratamiento y se asumió como 100 % un huevo/d/ave alojada. La viabilidad se calculó por la cantidad de aves vivas durante la etapa experimental entre las que se alojaron al inicio del experimento.

A las 45 semanas de edad, se tomaron 10 gallinas por cada tratamiento y por punción se extrajeron 8 mL de muestras de sangre. Las muestras se dejaron en reposo durante una hora, en viales de 10 mL. Se centrifugaron (centrifuga Eppendorf) a 10 000 r.p.m. y 20° C durante 25 min. El suero se conservó a - 20° C hasta su análisis en el laboratorio.

En el suero sanguíneo se determinaron los lípidos totales, triglicéridos, colesterol total, lipoproteínas de alta densidad (LAD), lipoproteínas de baja densidad (LBD) y las lipoproteínas de muy baja densidad (LMBD), según métodos enzimáticos colorimétricos, mediante la utilización de Kits y un espectrofotómetro ultravioleta (Humalyzer). También se calculó el índice aterogénico (IA), de acuerdo con la relación informada por Salma *et al.* (2007):  $IA=LBD/LAD$ .

La grasa del suero sanguíneo de gallinas ponedoras se extrajo al agregar a 1 mL de suero, 2.5 mL de una solución de cloroformo: metanol (2:1). Seguidamente, se centrifugó a 10.000 r.p.m. durante 10 min. y se recuperó la fase orgánica para su metilación (AOAC 2002).

Para corroborar que las grasas se transformaron en sus respectivos metil-ésteres, se corrió una cromatografía de capa fina. Se utilizó una lámina de aluminio recubierta con una capa de sílice y una fase móvil, constituida por una solución de heptano (70 %), éter etílico anhídrido (30 %) y 1 % de ácido acético glacial. Se usó yodo como revelador (AOAC 2002).

La cuantificación de los ácidos grasos se realizó en un cromatógrafo de gases Agilent, Technologies 6890 (Polo Alto, California), equipado con detector de ionización de llama (FID) y provisto de un automuestreador HP 6890 Series. El equipo se controló por un operador de datos GC Chemstation, versión

A.09.03. Los ácidos grasos en forma de metil-ésteres se separaron en una columna capilar HP-23 cis/trans (60 m x 250 mm ID x 0.25 mm espesor de película).

Los datos se analizaron mediante el módulo de estadística descriptiva. Se determinó la media y la desviación estándar y, en los casos necesarios, se utilizó la dócima de Duncan (1955). Se empleó el programa estadístico SPSS, versión 12.1. La viabilidad se analizó por comparación de proporciones en el programa Estadístico COMPARPRO 1.0 (Font *et al.* 2007).

## Resultados y Discusión

La tabla 3 presenta el comportamiento productivo de las gallinas ponedoras, alimentadas con diferentes niveles (0; 3.3; 6.6 y 10 %) de HSC en el pienso. La viabilidad, intensidad de puesta, conversión masal y peso promedio de los huevos no mostraron diferencias significativas entre tratamientos. Se demostró que la inclusión de hasta 10 % de HSC en el pienso no afectó los principales indicadores productivos de las gallinas ponedoras. Por tanto, es posible utilizar este alimento de producción nacional en las dietas para gallinas ponedoras, como sustituyente total del aceite vegetal y una parte de la torta de soya, ambos importados.

La tabla 4 muestra el perfil lipídico sérico de las gallinas ponedoras, alimentadas con una dieta basal y con tres niveles de HSC. Las concentraciones de los triacilglicéridos, colesterol total, LBD y las LMBD, así como el índice aterogénico, disminuyeron significativamente ( $P < 0.05$ ) al incrementar el contenido de HSC en los piensos. Mientras que las LAD aumentaron progresivamente ( $P < 0.05$ ), con relación al nivel de inclusión de HSC en el pienso. Los lípidos totales no presentaron diferencias significativas entre tratamientos.

Las gallinas ponedoras alimentadas con 6.6 y 10 % de inclusión de HSC disminuyeron las LMBD, en 55.38 y 62.43 mg/dL respectivamente, con respecto al control. Resultados similares han informado Salma *et al.* (2007), quienes observaron descenso de las LMBD y de los triacilglicéridos séricos de gallinas ponedoras, al utilizar 0.04 % de cápsulas de Rhodobacter (bacteria, probiótico). También Nogueira *et al.* (2003) encontraron valores similares, al suplementar las dietas con cartílago de tiburón (rico en ácidos grasos poli-insaturados). El efecto inverso lo ejercen las dietas con altos porcentajes de ácidos grasos saturados, ya que podrían estimular la pro-

Tabla 3. Comportamiento productivo de las gallinas ponedoras alimentadas con niveles de harina de semilla de calabaza

Indicadores	Niveles de harina de semilla de calabaza (%)				EE $\pm$
	0	3.3	6.6	10	
Viabilidad (%)	100.00	100.00	100.00	98.37	0.83
Íntensidad de puesta (%)	83.13	82.47	83.48	82.55	0.68
Conversión masal (kg/kg)	2.11	2.14	2.10	2.14	0.15
Peso del huevo (g)	61.20	61.10	60.90	61.10	0.30

Tabla 4. Perfil lipídico sérico (mg/dL) de gallinas ponedoras alimentadas con niveles de HSC

Indicadores	Niveles de harina de semilla de calabaza (%)				EE± Sig.
	0	3.3	6.6	10	
Lípidos totales	2084.00	2064.00	2050.00	2164.00	245.00
Triacilglicéridos	1198.00 <sup>a</sup>	1079.00 <sup>b</sup>	1007.00 <sup>c</sup>	981.00 <sup>c</sup>	28.38**
Colesterol total	129.62 <sup>a</sup>	107.07 <sup>b</sup>	97.48 <sup>bc</sup>	95.92 <sup>c</sup>	3.67***
LAD	47.46 <sup>b</sup>	47.96 <sup>b</sup>	49.48 <sup>a</sup>	49.92 <sup>a</sup>	0.46***
LBD	157.30 <sup>a</sup>	156.00 <sup>a</sup>	148.00 <sup>ab</sup>	141.00 <sup>b</sup>	5.11**
LMBD	233.17 <sup>a</sup>	199.10 <sup>ab</sup>	177.78 <sup>b</sup>	170.74 <sup>b</sup>	15.61*
Índice aterogénico	3.33 <sup>a</sup>	3.27 <sup>a</sup>	3.06 <sup>b</sup>	2.96 <sup>c</sup>	0.01*

<sup>abc</sup>Medias con letras diferentes en la misma fila difieren a  $P < 0.05$  (Duncan 1955)

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$

LAD: Lipoproteína de alta densidad

LBD: Lipoproteína de baja densidad

LMBD: Lipoproteína de muy baja densidad

ducción hepática de las lipoproteínas de muy baja densidad (LMBD), por vía de estimulación de la expresión de la apolipoproteína B-100 (Bennett *et al.* 1995).

El ácido  $\alpha$ -linolénico, óptimo en la HSC, pudo disminuir los triacilglicéridos séricos de las gallinas. Según Clarke *et al.* (2002), los ácidos grasos omega 3 tienen efectos metabólicos más determinantes en la trigliceridemia que los omega 6, ya que estos disminuyen la lipogénesis hepática y estimulan la oxidación de los ácidos grasos en el hígado y el músculo.

Los alimentos ricos en grasa mono-insaturada favorecen la salud cardiovascular en humanos (Paluo *et al.* 2005). En efecto, la ingesta de grasa monoinsaturada provoca una depreciación de los triglicéridos postprandial, con respecto a la ingestión de grasa saturada. En animales existen pocos estudios que señalen los beneficios de los AGMI. Sin embargo, si se toman como referencia los estudios desarrollados en humanos, la harina de semilla de calabaza pudiera disminuir los triacilglicéridos, gracias a su composición rica en ácido oleico (8616 mg/100 g) (tabla 1).

También el ácido linoleico, con cantidades importantes en la HSC, pudo disminuir las LBD mediante el aumento de la expresión hepática del receptor de las LBD y la captación de las LBD por el hígado (Mustad *et al.* 1996). Para 10 % de inclusión de HSC, se observó disminución de 16 mg/dL de LBD, con respecto al control (tabla 4).

A medida que se incrementó el contenido de HSC en las dietas suministradas a las gallinas, disminuyó significativamente ( $P < 0.05$ ) el colesterol total sérico. En efecto, la disminución de colesterol entre la dieta con 10 % de HSC y la dieta control fue de 33.7 mg/dL. Resultados similares obtuvieron Noriega *et al.* (2003) y Salma *et al.* (2007), quienes comprobaron reducción del colesterol total en el suero de gallinas ponedoras, al adicionar alimentos hipocolesterolémicos en sus dietas.

La semilla de calabaza posee más fitoesteres (238 mg/100 g) que las semillas oleaginosas convencionales (tabla 1). Los esteroides vegetales, al ser más hidrofóbicos que el colesterol, pueden desplazarlo por competencia en las micelas de absorción, y disminuyen consecuentemente la absorción del colesterol en el intestino delgado (Child y Kuksis 1983). Además, los esteroides vegetales reducen la tasa de esterificación del colesterol

en el enterocito, y disminuyen la cantidad de colesterol exportado a la sangre en forma de portomicrones (Jones *et al.* 1997 y Paluo *et al.* 2005).

Asimismo, la semilla de calabaza contiene un buen contenido de escualeno (34.7 mg/100 g), si se compara con otras semillas oleaginosas y sus aceites (entre 3 y 30 mg/100 g) (Kamm *et al.* 2001). El alto porcentaje de escualeno en la semilla de calabaza pudo contribuir a la reducción del colesterol sérico de las gallinas ponedoras, ya que el escualeno reduce las LBD (Sabeena *et al.* 2004). Además, este terpeno actúa como agente antioxidante, atrayendo a los radicales peróxidos formados en el proceso de autooxidación. Se evita así la oxidación de los AGPI (Dessi *et al.* 2002 y Sabeena *et al.* 2004).

Las lipoproteínas de alta densidad (LAD) aumentaron progresivamente en el torrente sanguíneo de las gallinas, a medida que se incrementó el porcentaje de HSC en las dietas. En efecto, el aumento obtenido en LAD, mediante la utilización de la dieta con 10 % de HSC, con respecto al control, fue de 2.46 mg/dL. Por tanto, resultó significativo ( $P < 0.05$ ). Probablemente, este aumento en LAD haya sido propiciado por el alto contenido de  $\alpha$ -linolénico (1067 mg/100 g) y linoleico (13894 mg/100 g) en la HSC (tabla 1).

Paluo *et al.* (2005) señalaron que las LAD permiten el transporte reverso del colesterol desde los tejidos y las paredes arteriales hasta el hígado, favoreciendo su eliminación por vía biliar. Sattar *et al.* (1998) informaron que las LAD se asocian a enzimas con actividad antioxidante (como la paraoxonasa) y trasladan hidroperóxidos al hígado para su detoxificación.

El índice aterogénico disminuyó gradualmente con la inclusión de la harina de semilla de calabaza en el pienso. Salma *et al.* (2007) encontraron resultados similares, al incluir cápsulas de Rhodobacter. La disminución de este indicador mostró la efectividad de la HSC en el descenso de los lípidos perjudiciales y el aumento de las LAD. Actualmente, no existen patrones de índices aterogénicos para aves. No obstante, una disminución de este índice debería favorecer la salud de las gallinas ponedoras.

La tabla 5 muestra el perfil de ácidos grasos del suero sanguíneo de gallinas ponedoras, alimentadas con diferentes niveles de HSC en el pienso. En el grupo de AGS, los ácidos palmítico

Tabla 5. Perfil de ácidos grasos séricos de las gallinas ponedoras alimentadas con diferentes niveles de HSC en el pienso (mg/dL).

AG	Niveles de harina de semilla de calabaza (%)				EE± Sig.
	0	3.3	6.6	10	
C9:0	1.18 <sup>a</sup>	0.84 <sup>b</sup>	0.31 <sup>c</sup>	0.32 <sup>c</sup>	0.08***
C12:0	15.37 <sup>a</sup>	12.67 <sup>ab</sup>	6.55 <sup>b</sup>	5.73 <sup>b</sup>	2.96*
C13:0	8.12	7.43	9.05	7.73	0.54
C15:0	4.68 <sup>a</sup>	1.71 <sup>b</sup>	1.76 <sup>b</sup>	2.26 <sup>b</sup>	0.71* *
C16:0	563.44 <sup>a</sup>	534.65 <sup>b</sup>	574.24 <sup>a</sup>	571.35 <sup>a</sup>	7.51**
C17:0	3.61 <sup>c</sup>	3.91 <sup>c</sup>	4.15 <sup>b</sup>	4.64 <sup>a</sup>	0.17**
C18:0	208.70 <sup>c</sup>	274.67 <sup>a</sup>	237.91 <sup>b</sup>	275.49 <sup>a</sup>	6.05***
C19:0	1.34 <sup>b</sup> ±0.76	0.72 <sup>b</sup> ±1.51	2.71 <sup>a</sup> ±0.75	3.44 <sup>a</sup> ±0.73	***
C20:0	0.86±0.10	1.01±0.11	0.92±0.13	1.18±0.13	
C24:0	1.22 <sup>b</sup>	1.61 <sup>b</sup>	3.21 <sup>a</sup>	3.54 <sup>a</sup>	0.20***
C15:1	1.97 <sup>a</sup>	1.21 <sup>ab</sup>	1.23 <sup>ab</sup>	1.04 <sup>b</sup>	0.27*
C16:1n-7	59.76 <sup>a</sup>	44.15 <sup>b</sup>	53.66 <sup>a</sup>	38.66 <sup>b</sup>	3.16***
C18:1 n-9	719.80 <sup>b</sup>	702.20 <sup>b</sup>	729.30 <sup>ab</sup>	741.40 <sup>a</sup>	10.90*
C18:1n-5	31.20 <sup>a</sup> ±0.97	27.80 <sup>b</sup> ±0.80	31.50 <sup>a</sup> ±0.75	27.78 <sup>b</sup> ±0.80	*
C20:1n-9	2.37 <sup>b</sup>	3.29 <sup>a</sup>	3.18 <sup>a</sup>	2.98 <sup>a</sup>	0.17**
C24:1	1.95±0.35	3.14±0.43	2.31±0.86	1.73±0.74	
C18:2n-6	329.30 <sup>b</sup>	332.27 <sup>b</sup>	335.30 <sup>b</sup>	390.00 <sup>a</sup>	10.31***
C18:3n-3	6.44 <sup>c</sup>	17.24 <sup>b</sup>	25.93 <sup>a</sup>	26.54 <sup>a</sup>	0.90***
C20:4n-6	38.85 <sup>a</sup>	40.87 <sup>a</sup>	34.13 <sup>b</sup>	32.16 <sup>b</sup>	1.59**
C20:5n-3	0.57 <sup>b</sup> ±0.23	0.76 <sup>b</sup> ±0.20	1.81 <sup>a</sup> ±0.16	2.21 <sup>a</sup> ±0.14	***
C22:6n-3	5.56 <sup>c</sup> ±0.28	7.65 <sup>a</sup> ±0.28	6.50 <sup>b</sup> ±0.26	7.13 <sup>ab</sup> ±0.27	***
ΣAGS	813.30 <sup>b</sup>	848.40 <sup>a</sup>	843.70 <sup>a</sup>	845.80 <sup>a</sup>	9.20***
ΣAGMI	830.70 <sup>a</sup>	748.00 <sup>b</sup>	814.10 <sup>ab</sup>	812.00 <sup>ab</sup>	10.88***
ΣAGPI	368.57 <sup>c</sup>	402.96 <sup>b</sup>	401.00 <sup>b</sup>	461.70 <sup>a</sup>	11.13***
AGS/AGPI	2.29 <sup>a</sup>	2.13 <sup>a</sup>	2.11 <sup>ab</sup>	1.91 <sup>b</sup>	0.07*
Σn-6	356.49 <sup>b</sup>	367.00 <sup>b</sup>	377.00 <sup>b</sup>	428.00 <sup>a</sup>	11.05***
Σn-3	11.25 <sup>c</sup>	24.03 <sup>b</sup>	32.90 <sup>a</sup>	33.25 <sup>a</sup>	1.07***
n-3/n-6	33.02 <sup>a</sup>	16.18 <sup>b</sup>	12.33 <sup>c</sup>	13.37 <sup>c</sup>	1.27***

<sup>abc</sup> Medias con letras diferentes en la misma fila difieren a P < 0.05 (Duncan 1955)

\*P < 0.05 \*\*P < 0.01 \*\*\*P < 0.001

AG: ácido graso

AGS: ácido graso saturado

AGMI: ácido graso monosaturado

AGPI: ácido graso poli-insaturado

W-6: omega 6

W-3: omega 3

y octadecanoico son los mayoritarios. Solo el segundo se incrementó al aumentar el contenido de HSC en el pienso.

El oleico se mostró como el ácido graso monosaturado más abundante en el suero sanguíneo de gallinas ponedoras (tabla 5). Este ácido graso y el eicosenoico mostraron diferencias significativas (P < 0.05) con respecto al control. Sus concentraciones aumentaron, según se incrementó el nivel de HSC en el pienso.

Las concentraciones séricas de los ácidos linoleico y α-linolénico fueron mayoritarias entre los AGPI, aumentando progresivamente (P < 0.05) con la inclusión de HSC en el pienso. Las altas concentraciones de ambos ácidos grasos en el suero sanguíneo de las gallinas

ponedoras estuvieron influenciadas por el alto contenido de estos ácidos grasos en la HSC.

Se encontró aumento en el suero sanguíneo en las concentraciones de los ácidos eicosapentanoico y docosahexanoico, a medida que aumentó el contenido de HSC en el pienso. El ácido araquidónico mostró diferencias significativas entre tratamientos (P < 0.05), con valores inferiores para 10 % de HSC.

Los ácidos palmítico y mirístico influyen en el aumento de las concentraciones séricas del colesterol total (Palou *et al.* 2005). La concentración sérica de ácido palmítico no presentó diferencias significativas entre las gallinas que consumieron 10 % de HSC en el pienso y las alimentadas con el pienso control (tabla 5). El ácido

tetradecanoico (C14:0) no se encontró en nuestras condiciones de análisis (cromatografía gas-líquido). Esto sugiere que el uso de la semilla de calabaza en la alimentación de las gallinas ponedoras no influye en el aumento de la concentración de los ácidos grasos más aterogénicos.

En las aves se desconocen los efectos del ácido esteárico en el torrente sanguíneo. Sin embargo, a partir de pruebas con humanos y ratas se podrían inferir sus efectos benéficos en los lípidos séricos de las gallinas ponedoras. En pruebas con humanos, el ácido esteárico interfirió en el equilibrio de los lípidos séricos; no aumentó las lipoproteínas de baja densidad, y disminuyó las plaquetas sanguíneas (Kummrow *et al.* 2002). En pruebas con ratas, Fernández *et al.* (2007) demostraron menor poder aterogénico del ácido esteárico (C18:0), con respecto a los ácidos palmítico (C16:0) y mirístico (C14:0), respectivamente.

La concentración del ácido araquidónico (C20:4n-6) declinó en 6.7 mg/dL en el suero sanguíneo, para 10 % de HSC en el pienso, con respecto al control. La disminución del araquidónico se pudo deber a una buena relación de omega 6/omega 3, ya que el aumento sérico de los omega 3 puede inhibir por competencia a la enzima delta 5 desaturasa, y disminuir así la concentración sanguínea del ácido araquidónico (Claria y Titos 2003).

Al aumentar la concentración de los ácidos grasos insaturados en el suero sanguíneo, como consecuencia del incremento en el contenido de HSC en el pienso, hubo una disminución de la relación AGS/AGPIM. Este resultado es muy importante para prevenir cuadros aterogénicos en el ave y evitar la incorporación de estos lípidos perjudiciales al huevo (tabla 5). Cherian y Sim (1991) y Ayerza y Coates (2000) habían informado reducción de esta proporción, al suplementar las dietas de gallinas ponedoras con semilla de chía y de lino, respectivamente. Este resultado demuestra que la inclusión de la HSC en el pienso aumentó proporcionalmente los ácidos grasos esenciales en el suero sanguíneo.

El ácido eicosapentanoico (C20:5n-3) y el docosahexanoico (C22:6n-3) mostraron mayores concentraciones, al incluir HSC en el pienso, lo que se relaciona con mayor detección del ácido  $\alpha$ -linolénico, precursor de estos ácidos grasos. Esto demuestra que la inclusión de HSC pudiera no haber afectado la actividad de la enzima delta 6 y 5 desaturasa, con mayor afinidad por el  $\alpha$ -linolénico, que convierte a este ácido graso en eicosapentanoico y decosahexanoico.

Al incluir hasta 10 % de harina de semilla de calabaza en las dietas de gallinas ponedoras se obtuvo disminución de las LMBD, triacilglicéridos, colesterol total, LBD e índice aterogénico. Las LAD se incrementaron con la inclusión de HSC en el pienso. La circulación sanguínea de los ácidos esteárico, linoleico,  $\alpha$ -linolénico, eicosanoico y decosahexanoico aumentó, al incluir HSC en el pienso. Las relaciones omega 3/omega 6 y AGS/AGSPIM disminuyeron con la incorporación de

hasta 10 % de harina de semilla de calabaza en el pienso de gallinas ponedoras.

## Referencias

- AOAC 1995. Official methods of analysis. 16<sup>th</sup> Ed. Ass. Off. Agric. Chem, Washington. D.C. USA.
- AOAC 2002. Official methods of analysis, (17<sup>th</sup> Ed) Gaithersburg, Maryland: Association of Official Analytical Chemist. p. 19
- Ayerza, R. & Coates, W. 2000. Dietary levels of chia: influence on yolk cholesterol, lipid content and fatty acid composition for two strains of hens. *Poult. Sci.* 78:724
- Bennett, J., Billett, A., Salter, M., Mangiapane, H., Bruce, S., Anderton, L., Marenah, B., Lawson, N. & White, D.A. 1995. Modulation of hepatic apolipoprotein B, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase and low-density lipoprotein receptor mRNA and plasma lipoprotein concentrations by defined dietary fats. Comparison of trimyristin, tripalmitin, tristearin and triolein. *Biochem J.* 311:167
- Bernstein, C., Koetzle, F. Williams, J., Meyer, F., Brice, D., Rodgers, R., Kennard, O., Shimanouchi, T. & Tasumi, M. 1977. The protein data bank: a computer-based archival file for macromolecular structures. *J. Mol. Biol.* 112:535
- Buitrago, L., Delgado, A., Guzmán, N., Fernández, N., Mejías, I., González, M.A., Montes, F. & Echeverri, D. 2005. Disfunción endotelial inducida por hipocolesterolemia en un modelo animal. *Rev. Med.* 13:37
- Caballero, A. 1982. Folleto de diseño experimental. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba. p. 30
- Carbin, B., Larsson, B. & Lindahl, O. 1990. Treatment of benign prostatic hyperplasia with phytosterols. *Brit. J. Urol.* 66:639
- Cherian, G. & Sim, J.S. 1991. Effect of feeding full fat flax and canola seeds to laying hens on the fatty acid composition of eggs, embryos and newly hatched chicks. *Poult. Sci.* 70:917
- Child, P. & Kuksis, A. 1983. Critical role of ring structure in the differential uptake of cholesterol and plant sterols by membrane preparations *in vitro*. *J. Lipid Res.* 24:1196
- Claria, J. & Titos, E. 2003. Metabolismo del ácido araquidónico en células hepáticas. *Médicas UIS.* 27:115
- Clarke, S.D., Gasperikova, D., Nelson, C., Lapillonne, A. & Heird, W.C. 2002. Fatty acid regulation of gene expression: A genomic explanation for the benefits of the mediterranean diet. *Ann. NY. Acad. Sci.* 967:283
- Dessi, M.A., Deiana, M., Day, B.N., Rosa, A., Banni, S. & Corongiu F.P. 2002. Oxidative stability of polyunsaturated fatty acids: effect of squalene. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104:506
- Duncan, B. 1955. Multiple ranges and multiple F test. *Biometrics* 11:1
- Fernández, I.A., Pallaro, N. & Slobodianik, N.H. 2007. Estudio comparativo entre dos fuentes alimentarias apartadoras de ácidos grasos poli-insaturados n-3 y su efecto sobre el timo y el perfil lipídico de ratas. *ALAN* 57:146
- Font, P., Noda, A., Aida, C., Torres, C., Verena, T., Herrera, V., Magaly, Delizazo, T., Sarduy, G., Lucia, R., Rodríguez, S., Lourdes, L., Jay, H., Gomez, C., Sarai, S. 2007. COMPAPRO, comparación de proporciones. Versión 1.0. La Habana, Cuba
- Friedewald, W. T., Levy, R. I. & Fredrickson, D. S. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 18:499
- Giacometti, J. 2001. Determination of aliphatic alcohols, squalene,  $\alpha$ -tocopherol and sterols in olive oils: direct

- method involving gaschromatography of the unsaponifiable fraction following silylation. *J. Royal Soc. Chem.* 126:472
- Grobas, S. & Mateos, G. 1996. Influencia de la nutrición sobre la composición Nutricional del Huevo. XII Curso de Especialización FEDNA. p. 25.
- Jones, P.J., MacDougall, D.E., Ntanos, F. & Vanstone, C.A. 1997. Dietary phytosterols as holesterol-lowering agents. *Can J. Physiol. Pharmacol.* 75:217
- Kamm, W., Dionisi, R., Hischenhuber, C. & Engel, K. H. 2001. Authenticity assessment of fats and oils. *Food Rev Int.* 17:249
- Kerise, A., Maxine, D., Gossell, W., Teran, C., Gardner, M. & Simon, O. 2008. Influence of pumpkin seed oil supplementation on cardiovascular and histological outcomes in female non-ovariectomized and ovariectomized rats. *The FASEB J.* 22:719
- Kummrow, E., Hussain, M., Pan, M., Marsh, J. B. & Fisher, EA. 2002. Myristic acid increases dense lipoprotein secretion by inhibiting apoB degradation and triglyceride recruitment. *JLipid Res.*43:2155
- Martínez, Y.. 2009. Caracterización química de la harina de semilla de calabaza y su empleo en la alimentación de gallinas ponedoras y pollos de ceba. Tesis Dr. La Habana, Cuba
- Martínez, Y., Valdiviá, M., LaO, A.L. & Leyva, E. 2008. Potencialidades de la semilla de calabaza como alimento para monogástricos. *Revista ACPA* 4:20
- Mustad, V.A., Ellsworth, J. L., Cooper, A.D., Kris-Etherton, P.M. & Etherton, T.D. 1996. Dietary linoleic acid increases and palmitic acid decreases hepatic LDL receptor protein and mRNA abundance in young pigs. *J. Lipid Res.* 37:2310
- NMX-F-490. 1999. Alimentos-aceites-grasas. Determinación de la composición de ácidos grasos a partir de los C6 por cromatografía de gases. NORMEX. p. 16
- Nogueira, C. M., Zapata, J. F., Fuentes, M., Freitas, E. R., Craveiro, A. & Aguiar, C. M. 2003. The effect of supplementing layer diets with shark cartilage or chitosan on egg components and yolk lipids. *British Poult. Sci.* 44:218
- NOM. 1994. Norma Oficial Mexicana 117-SSA 1. Método para la determinación de minerales en alimentos, agua potable y purificada por espectrofotometría de absorción atómica. p 15
- Palou, A., Picó, C., Bonet, M. A., Oliver, P., Serra, F., Rodríguez, A., Guerrero, J. & Ribot, R. 2005. Lípidos. En: El libro blanco de los esteroides vegetales. Unilever Foods S.A. España. p. 85
- Sabeena, F., Anandan, R., Senthil, H.K., Shiny, S., Sankar, K.S. & Thankappan T.K. 2004. Effect of squalene on tissue defense system in isoproterenolinduced myocardial infarction in rats. *Pharmacol. Res.* 50:231
- Salma, U., Miah, A.G., Tareq, K.M., Maki, T. & Tsujii, H. 2007. Effect of dietary *Rhodobacter capsulatus* on egg-yolk cholesterol and laying hen performance. *Poult. Sci* 86:714
- Sattar, N., Petrie, J.R. & Jaap, A.J. 1998. The atherogenic lipoprotein phenotype and vascular endothelial dysfunction. *Atherosclerosis* 138:229
- UECAN. 2007. Aportes de los piensos avícolas. Ed. por Ministerio de la Agricultura. p. 1.
- Van Soest, P. J. 1994. *Nutritional Ecology of Ruminant*. 2<sup>da</sup> Ed. Cornell Univ. Press. Ithaca, N. Y. p.476

**Recibido: Septiembre 23, 2009**