



INCORPORACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3 EN HUEVO DE GALLINAS PONEDORAS A TRAVÉS DE LA SUPLEMENTACIÓN CON ACEITE DE HÍGADO DE BACALAO

Ramírez J. ^a, Añorve J. ^{a*}, Contreras E. ^a, Jaimez J. ^a Castañeda Ovando. ^a

^a Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química. Laboratorio de Biotecnología I. Carretera Pachuca-Tulancingo Km 4.5, C.P. 42184, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México *Tel: (01 771) 71 72 00 Ext. 2512.*

e-mail: rgj_est@hotmail.com

RESUMEN:

Los peces son la principal fuente de ácidos grasos poliinsaturados como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA). Los huevos enriquecidos con estos ácidos grasos puede ser una fuente alternativa para la gente que no puede consumir productos de pescado por varias razones (por ejemplo, culturales o económicos). En este trabajo se pretende determinar la influencia de la suplementación con aceite de hígado de bacalao (CLO) en la dieta de gallinas ponedoras sobre la composición de ácidos grasos del huevo.

El experimento se realizó con 60 gallinas ponedoras que se distribuyeron al azar en cuatro grupos. Cada grupo estaba compuesto de 15 gallinas alimentadas durante 41 semanas, con las siguientes dietas: maíz (D1), alimento (D2), maíz + aceite de hígado de bacalao (D4) y alimento comercial + aceite de hígado de bacalao (D3). Del total de huevos producidos se tomo una muestra aleatoria y el perfil de ácidos grasos se determino por cromatografía de gases. Los resultados muestran que la suplementación disminuye la concentración de ácidos grasos saturados en los huevos e incrementa la de ácidos grasos insaturados, en forma de poliinsaturados; principalmente de EPA y DHA, mejorando la calidad nutritiva comparados con sus respectivos controles.

ABSTRACT:

Fish are the main source of polyunsaturated fatty acids such as eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA). Chicken meat and eggs enriched with these fatty acids could be an alternative source for people not consuming fish products for several reasons (i.e. cultural or economic). In this paper is to determine the influence of supplementation with cod liver oil in the diet of laying hens on the fatty acid composition of the egg. The experiment was performed with 60 laying hens distributed randomly into four groups. Each group consisted of 15 hens fed during 41 weeks with the following diets: corn (D1), commercial chicken feed (D2), corn + CLO (D4), commercial chicken feed + CLO (D3). Of total eggs produced a random sample was taken and the fatty acid profile determined by gas chromatography. The results show that supplementation decreases the concentration of saturated fatty acids in eggs and increase the unsaturated fatty acids in the form of polyunsaturates, mainly EPA and DHA, improving the nutritional quality compared with their respective controls.

Palabras clave: huevo, ácidos grasos, suplementación



INTRODUCCIÓN

Las tendencias mundiales de alimentación en los últimos años indican un interés por ciertos alimentos, que además del valor nutritivo, aporten beneficios a las funciones fisiológicas del organismo (Astiasarán, I. and Martínez, A., 1999).

Es por ello que el concepto de alimento funcional o saludable definido como "aquellos alimentos procesados que se consumen como parte de una dieta normal y contienen ingredientes y/o componentes biológicamente activos, que pueden ofrecer beneficios para la salud y pueden reducir el riesgo de sufrir enfermedades" (Anzurez, U. R., 2008), ha causado una mayor relevancia

Hoy en día la industria alimentaria fabrica alimentos que han sustituido ácidos grasos saturados o poliinsaturados (PUFA's) ω -6 por ω -3, como leche y derivados, panes y embutidos.

En este sentido, con base en el conocimiento de los efectos de la dieta sobre la cantidad de ácidos grasos omega-3 (AG ω -3) en los productos derivados de animales, se han realizado diversas investigaciones incorporando en la dieta animal harinas, aceites de pescado (Delbecchi *et al.*, 2001; Añorve, 2006) y semillas o sus aceites (Ashes *et al.*, 1995; Jenkis *et al.*, 1996; Noakes *et al.*, 1996). Sin embargo, un inconveniente en la aplicación de esta tecnología es la tendencia de los ácidos grasos a biohidrogenarse o a oxidarse, produciendo esto último sabores desagradables (Kris-Etherton *et al.*, 2000).

En las aves se ha observado que la suplementación con algas, harinas o aceites de pescado incrementan las concentraciones de EPA (ácido graso eicosapentaenoico) y DHA (docosahexaenoico) en los tejidos (como músculo y yema de huevo). Varios autores (Nitsan *et al.*, 1999 and Lewis *et al.* 2000) enriquecieron las dietas de las aves con harinas de pescado, lino y DHA de algas y obtuvieron huevos (también conocidos como huevos griegos) con una baja relación ω -6/ ω -3 y elevadas concentraciones de EPA, ácido docosapentaenoico (DPA, C22:5- ω -3) y DHA.

Es por esto, que en este trabajo se pretende obtener huevos enriquecidos con ácidos grasos omega-3 (EPA y DHA), mediante la suplementación de aceite de hígado de bacalao en la dieta de gallinas ponedoras.

METODOLOGÍA

Se utilizaron 60 gallinas ponedoras, de 5 días de edad, separadas aleatoriamente en 4 grupos de 15 animales. Las gallinas fueron alimentadas con las diferentes dietas (tabla 1). Para las dietas D2 y D3, en las primeras 3 semanas de experimentación se empleó alimento comercial para crecimiento (Polla crecimiento SC®), de la semana 4-6 alimento para engorda (Polla para engorda SC®) y finalmente alimento para postura (Polla desarrollo SC®).

En el caso de las dietas D3 y D4, la suplementación con aceite de hígado de bacalao fue iniciada en la semana 4; la dosis diaria fue incrementándose de 0.0349 hasta 0.1047 g de aceite por gallina, correspondientes a 1 y 3 gotas de aceite, respectivamente; esta dosis fue aumentando de acuerdo al peso ganado. El aceite fue suministrado con una jeringa de 3 mL colocándolo directamente en el pico de la gallina.

Las aves eran pesadas cada tercer día empleando una balanza digital (Salter Brecknel®); el alimento y el agua consumida, así como el peso de los huevos (una vez iniciada su producción) fueron registrados diariamente. El tiempo total del experimento fue de 41 semanas.

Tabla 1. Composición de las dietas utilizadas en la experimentación

Dieta	Composición
D1	Maíz quebrado
D2	Alimento comercial
D3	Alimento comercial suplementado con aceite de hígado de bacalao
D4	Maíz quebrado suplementado con aceite de hígado de bacalao

A fin de tener una muestra representativa de huevo, de cada grupo se tomaron aleatoriamente 20, posteriormente fueron homogenizados durante 1 minuto en una licuadora (Moulinex®).

Identificación de ácidos grasos en yema de huevo

Extracción de lípidos totales

Los ácidos grasos fueron extraídos colocando en refrigeración durante 48 horas tubos de ensaye con 5 g de yema y 10 mL de cloroformo-metanol (2:1). Transcurrido ese tiempo los tubos se sometieron a centrifugación durante 10 minutos a 4000 rpm. De cada tubo se tomaron alícuotas de 500 µL de la fase líquida y se transfirieron a tubos para metilación (Añorve, 2006).

Metilación y extracción de los metil ésteres de ácidos grasos (MEAG) presentes en los lípidos totales

A los tubos con los lípidos totales concentrados se les aplicó una transesterificación ácida (Metcalfé and Schmitz, 1961). Se les adicionó 1 mL de BF₃:MeOH (12,5:100; v/v, Merck®) y fueron calentados en un baño termostatizado (BoekelGrant®) a 100 °C durante 10 min.

En seguida se les aplicaron dos lavados para obtener los MEAG. A los "tubos para metilación" se añadieron 1 mL de Hexano y 1 mL de agua (tipo MilliQ) saturada de hexano. Se agitaron vigorosamente con un Vortex® durante 10 min posteriormente se centrifugaron durante 10 min a 4000 rpm y se obtuvieron dos fases, la inferior (acuosa) que extrajo las impurezas solubles en agua se eliminó,



en tanto que la superior (orgánica) que contenía los MEAG se sometió a un segundo lavado únicamente con 2 mL de agua MilliQ saturada de hexano.

A continuación se retiró de nuevo la fase inferior (se aplicó el procedimiento antes descrito) y se mantuvieron los tubos de metilación durante 4 h, en congelación. De esta forma los restos de agua se congelaron.

La fase orgánica con los MEAG se transvasó a un vial de inyección de 1 mL con fondo en pico y se concentró con flujo de Nitrógeno (N₂) para evitar oxidaciones de los MEAG. Se le adicionaron 0.5 mL de diclorometano (Cl₂CH₂) para redissolver los MEAG y se inyectó 1 µL en un cromatógrafo de gases para identificar y cuantificar los ácidos grasos presentes.

Identificación y cuantificación de los metil ésteres de ácidos grasos (MEAG) mediante cromatografía de gases (GC)

La cuantificación de los MEAG se realizó utilizando un cromatógrafo de gases (GC) Marca Perkin Elmer, modelo Autosystem XL equipado con un detector de ionización de llama (FID), se empleó una columna capilar polar (SPTM-2560 75 m X 0.18 mm de d.i. X 0.14 µm de epf, de SupelcoTM). La inyección se realizó en el modo splitless. Las temperaturas del inyector y el detector fueron 230 °C y 250 °C respectivamente. Se utilizó hidrógeno como gas portador a un flujo de 1 mL/min⁻¹; con un tiempo de corrida de 53 minutos.

La identificación de los MEAG de las muestras se realizó por comparación con los tiempos de retención de una mezcla patrón de ácidos grasos metilados (FAMEMix C4-C24, Supelco®) inyectados previamente bajo las mismas condiciones que la muestra.

Para llevar a cabo la cuantificación de los MEAG se prepararon estándares en el intervalo de 0.04 a 0.06 mg/mL (considerando el porcentaje de cada uno de los MEAG presentes en el estándar comercial), analizándose de la misma forma que las muestras. La cuantificación se realizó por interpolación en la curva de calibración por cada MEAG.

La curva de calibrado sigue un comportamiento lineal con respecto a la [MEAG] vs Área de pico, por lo que la expresión para realizar los cálculos es:

$$A = a \times [MEAG] + b$$

Donde:

A= Área de pico correspondiente a cada MEAG

a= pendiente

[MEAG]= concentración de cada MEAG

b= ordenada al origen

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición en ácidos grasos de la yema del huevo, particularmente su contenido en PUFA's, puede ser modificada mediante cambios en la dieta de la gallina. En este sentido Cruickshank (1934), encontró que la dieta interviene en la composición en ácidos grasos que presenta la grasa de la yema y que los PUFA's cambian las proporciones de los ácidos grasos presentes logrando de esta manera, manipular la composición de los lípidos para cubrir los requerimientos nutricionales de los humanos obteniéndose así lo que hoy en día se conoce como alimento funcional.

La composición de ácidos grasos contenidos en las yemas de huevos de gallinas ponedoras sometidas a las diferentes dietas se muestra en la tabla 2 se observa que el ácido palmítico (C16:0), considerado como el precursor de los ácidos grasos insaturados y saturados de mayor tamaño; es el ácido graso más abundante en todas las dietas; seguido del ácido linoleico (C18:2n6c); y de DHA para el caso de las dietas D1, D3 y D4; lo que indica que la suplementación es una buena fuente de ácidos grasos omega-3 y omega-6. Sin embargo se observa de manera general que los grupos alimentados con maíz como dieta base (D1 y D4) presentan un mayor número de ácidos grasos respecto a los que en la dieta base se empleo alimento comercial (D2 y D3).

Los resultados provenientes tanto de C16:0 como de ácido palmitoleico (C16:1), EPA y DHA para las dietas a base de maíz (D1 y D4) muestran que los huevos presentan un contenido bajo en C16:0, y contenidos altos en C16:1, EPA y DHA.

Esto resulta de que una parte del C16:0 de la suplementación y de la dieta base se almacena en el tejido y otra porción se trasvasa al huevo y que alguna cantidad ha sido metabolizada, fungiendo el ácido palmítico como el precursor en la síntesis endógena de los ácidos grasos insaturados antes mencionados; ya que se producen interconversiones de los ácidos grasos mediante desaturaciones y elongaciones (Whitehead, 1984).

Además de lo mencionado, el incremento del C16:1, EPA y DHA se ve favorecido de D1 a D4 por el contenido de los mismos en el aceite de hígado de bacalao utilizado en la suplementación. Para el (C18:2n6c) los resultados muestran cuatro grupos de medias estadísticamente diferentes. Lo que indica que además de la suplementación tanto la dieta base como las transformaciones originadas por el metabolismo del propio animal tienen un rol importante en el contenido final de los ácidos grasos (tabla 2).

Esto reafirma la teoría de que parte de los ácidos grasos provenientes de la dieta se incorporan a los productos de las aves, en tanto que otros se metabolizan.

Tabla 2. Composición de ácidos grasos (mg/100g) de huevo de gallinas ponedoras alimentadas con 4 dietas diferentes

Acido graso	D1	D2	D3	D4	Literatura* (mg/100 g)
C12:0	126.39 ^b	NE	NE	1.53 ^a	
C14:0	26.78 ^a	NE	NE	NE	
C15:0	3.91 ^a	NE	NE	NE	
C16:0	52.51 ^a	4424.58 ^d	2871.51 ^c	55.76 ^b	
C16:1	2094.74 ^c	445.61 ^b	246.03 ^a	2315.88 ^d	
C17:1	NE	NE	2.91 ^a	NE	
C18:0	30.92 ^a	NE	NE	40.03 ^b	
C18:1n9t	NE	NE	NE	33.03 ^a	
C18:1n9c	NE	NE	NE	66.07 ^a	
C18:2n6t	411.37 ^a	NE	NE	457.40 ^b	
C18:2n6c	998.96 ^a	1277.24 ^d	1185.33 ^c	1133.85 ^b	14.98
C20:0	395.78 ^a	NE	NE	NE	
C18:3n3	NE	NE	NE	384.32 ^a	1.54
C20:1	62.53 ^b	68.01 ^c	88.69 ^d	20.06 ^a	
C21:0	8.30 ^c	NE	0.73 ^a	6.58 ^b	
C20:2	8.30 ^c	NE	0.73 ^a	6.58 ^b	
C20:3n6	22.61 ^a	47.77 ^d	36.38 ^{bc}	35.94 ^{bc}	
C20:3n3	7.60 ^a	NE	NE	9.92 ^b	
C20:4n6	NE	20.58 ^a	112.51 ^c	77.50 ^b	
C20:5n3 (EPA)	55.18 ^a	NE	215.28 ^c	103.24 ^b	1.57
C24:1	30.93 ^a	190.33 ^b	NE	NE	
C22:6n3 (DHA)	2115.02 ^c	20.72 ^a	1110.25 ^b	3162.30 ^d	0.89

Superíndices diferentes dentro de la misma columna, denotan diferencia significativa a un nivel de significación del 95 %.

Nota: D1 Maíz, D2 Alimento comercial, D3 Alimento comercial + Aceite de hígado de bacalao, D4 Maíz + Aceite de Hígado de bacalao. NE no encontrado.*Fuente: Carnevale, y col., 2006. N.R. no reportado

El menor incremento del C18:2n6c de los grupos controles a los suplementados puede ser originado por su transformación en C20:4n6 por medio de la acción de enzimas elongasas y desaturasas (tabla 2).

La inhibición de la síntesis endógena y la redistribución de las diferentes fracciones de ácidos grasos (saturados e insaturados) origina cambios en su contenido total en el huevo. Así, en D4 los ácidos grasos totales se incrementan en 22 % con respecto a D1; mientras que en D3 se reducen un 10 % respecto a D2, observándose que los cuatro grupos presentan diferencias estadísticamente significativas. De acuerdo al Instituto Nacional Avícola, el contenido máximo aceptable de grasa saturada en huevos de gallina debe ser de 6.67 a 7.5 % (INA, 2010), esto indica que todas las muestras están por debajo del máximo aceptado,

excepto las obtenidas de la D4, que presentan valores más elevados, sin embargo, esto es favorable porque es causado por la mayor proporción de ácidos grasos insaturados, tal y como lo muestra la tabla 3, lo que indica que es grasa de mejor calidad.

Tabla 3. Contenido de ácidos grasos clasificados por tipo, provenientes de la yema de huevo de gallinas ponedoras alimentadas con 4 dietas diferentes

Acido graso	D1	D2	D3	D4
Sumatoria	6451.82 ^D	6494.84 ^C	5870.35 ^A	7910.02 ^D
Saturados	644.59 ^D	4424.58 ^D	2872.24 ^C	103.91 ^A
%AGS	10.00	68.12	48.93	1.31
Insaturados	5807.23 ^C	2070.25 ^A	2998.11 ^D	7806.11 ^D
%AGI	90.00	31.88	51.07	98.69
Monoinsaturados	2125.67 ^C	635.93 ^D	248.94 ^A	2414.98 ^D
%AGMI	36.60	30.72	8.30	30.94
Poliinsaturados	3681.56 ^C	1434.32 ^A	2749.17 ^B	5391.12 ^D
%PUFA's	63.40	69.28	91.70	69.06
n6	1432.95 ^C	1345.59 ^{AD}	1334.22 ^{AD}	1704.69 ^D
n3	2177.79 ^C	20.72 ^A	1325.54 ^D	3659.79 ^D
n9	70.82 ^C	68.01 ^C	89.42 ^D	26.64 ^A
n6:n3	0.66 ^D	64.95 ^D	1.01 ^C	0.47 ^A
AGI:AGS	9.01 ^C	0.47 ^A	1.04 ^D	75.12 ^D

Superíndices diferentes dentro de la misma columna, denotan diferencia significativa a un nivel de significación del 95 %.

Nota: D1 Maíz, D2 Alimento comercial, D3 Alimento comercial + Aceite de hígado de bacalao, D4 Maíz + Aceite de Hígado de bacalao.

En cuanto a los contenidos de ácidos grasos saturados e insaturados, los contenidos encontrados en los huevos muestran cuatro grupos de medias significativamente diferentes observándose que la dieta base desempeña un rol importante en su contenido y que la suplementación disminuye significativamente la fracción de ácidos grasos saturados e incrementa también de manera significativa la fracción de ácidos grasos insaturados (tabla 3). El INA recomienda un contenido máximo de ácidos grasos saturados en huevos de gallina de entre 33.33 y 37.5 % (INA, 2010), en este sentido las dietas de maíz sin suplementar (D1) y suplementadas (D4) resultaron ser las mejores.

El incremento de la fracción de ácidos grasos insaturados fue originado por el aumento de los poliinsaturados, que en D4 fue del 32.69 % en relación a D1 y del 48.63 % para D3 en comparación con D2.

En la tabla 4 se observa claramente el efecto de la suplementación en el contenido de EPA y DHA de los huevos obtenidos. Así D4 incrementa 1.2% y 7% en EPA y DHA respectivamente al compararlo con su control (D1), en tanto que, D3 lo hace

en 3% y 18% respecto a D2. Lo anterior sugiere que una dieta base con alimento comercial permite una mejor incorporación de estos ácidos grasos de la suplementación al huevo.

Los porcentajes obtenidos de la inclusión de EPA en los huevos provenientes de gallinas alimentadas con dietas suplementadas con aceite de hígado de bacalao se encuentran en los intervalos que han encontrado diferentes autores (0.013-10.75 %) con la suplementación con aceites tanto de origen animal (pescado) como vegetal, teniendo como fuente de ácidos grasos la linaza, el maní, el girasol, entre otros (Baucells *et al.*, 2000; Grobas *et al.*, 2001; Cherian *et al.*, 2002; Galobart *et al.*, 2002; Beynen, 2004; Bölükbasi *et al.*, 2010).

Con respecto a los porcentajes de DHA encontrados (0.06-6.13 %), éstos fueron superiores a los hallados previamente en otras investigaciones (Baucells *et al.*, 2000; Grobas *et al.*, 2001; Cherian *et al.*, 2002; Galobart *et al.*, 2002; Beynen, 2004; Bölükbasi *et al.*, 2010); estas diferencias son debidas a las fuentes de ácidos grasos utilizadas.

El incremento del EPA Y DHA ayuda a mejorar la proporción de ácidos grasos n6:n3, obteniéndose valores para las muestras de huevo de las diferentes dietas por debajo de la relación 10:1 recomendada por Simopoulos (2000), excepto D2 (dieta a base de alimento comercial), lo que sugiere que la suplementación del aceite de hígado de bacalao en la dieta de gallinas ponedoras permite obtener huevos más saludables al mejorar la calidad de su grasa por la reducción de los ácidos grasos saturados, el incremento de los insaturados y principalmente por la incorporación del EPA y DHA (tablas 3 y 4) que son los ácidos grasos de la familia omega 3 que mejores beneficios has mostrado para la salud humana.

Tabla 4. Contenido de EPA y DHA (% con respecto al total de ácidos grasos) de huevos de gallinas ponedoras alimentadas con 4 dietas diferentes

Acido graso	D1	D2	D3	D4
EPA (%)	0.08	NE	3.31	1.30
DHA (%)	32.78	0.32	18.91	39.98

D1 Maíz, D2 Alimento comercial, D3 Alimento comercial + Aceite de hígado de bacalao, D4 Maíz + Aceite de Hígado de bacalao

CONCLUSIONES

La calidad nutritiva de los huevos de gallinas ponedoras se favorece sustancialmente por la suplementación de aceite de hígado de bacalao en la dieta de estas aves ya que, se incrementa el contenido de ácidos grasos insaturados omega 3 principalmente en forma de EPA y DHA.



La concentración de ácidos grasos saturados y ácidos grasos monoinsaturados en el huevo de las gallinas ponedoras dependen tanto de la aportación de la dieta como de la síntesis endógena, mientras que la de los poliinsaturados se obtiene exclusivamente de fuentes externas, dado que las gallinas ponedoras son incapaces de sintetizarlos.

REFERENCIAS

- Anzures, U. R. (2008). Publicidad Comercial en los Alimentos Funcionales. Procuraduría Federal del Consumidor.
- Añorve, M. J. (2006). Obtención de una leche natural enriquecida en ácidos grasos omega-3 mediante el empleo de aceite de hígado de bacalao en la alimentación de ganado vacuno. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela, España. Pp. 68-99.
- Ashes, J. R., Gulati, S. K. and Scott, T. W. (1995). The role of rumenprotected proteins and energy sources in the diet of ruminants. Page. 177 in *Animal Science Research and Development: Towards a New Century*. M. Ivan, 1ed. Ctr. Food Anim. Res., Agric. Agri-Food Canada, Ottawa, ON, Canada.
- Astiasarán, I. y Martínez, A. (1999). Alimentos, Composición y Propiedades. Mc.Graw-Hill. Interamericana España, 1ª edición.
- Baucells M. D., Crespo N., Barroeta A. C., López-Ferrer S., y Grashorn M. A. (2000). Incorporation of Different Polyunsaturated Fatty Acids into Eggs. Departameno de Nutrición y Alimentación Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, España, y Department of Poultry Science, Institute for Animal Husbandry and Breeding, University of Hohenheim, Garbenstr. 17, 70593-Stuttgart, Alemania.
- Beynen A. C. (2004). Fatty acid composition of eggs produced by hens fed diets containing groundnut, soya bean or linseed. Department of Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, P.O. Box 80.152, NL-3508 TD Utrecht, The Netherlands.
- Bölükbasi S. Canan, Erhan Kuddusi M. y Ürüsan H. (2010). The effects of supplementation of Bergamot Oil (*Citrus bergamia*) on egg production, egg quality, fatty acid composition of egg yolk in Laying hens. Ataturk University, Faculty of Agriculture, Department of Animal Science, Erzurum, Turkey. J. Poult Sci. 47:163-169.
- Cherian G., Holsonbake T. B., y Goeger M. P. (2002). Fatty Acid Composition and Egg Components of Specialty Eggs. Department of Animal Sciences, Oregon State University, Corvallis, Oregon 97331-6702 Poultry Science 81:30-33
- Cruickshank, E.M. (1934) *Biochem. J.* 28, 965-2977.



- Delbecchi L., Ahnadi E. C., Kennelly J.J., and Lacasse P. (2001). Milk Fatty Acid Composition and Mammary Lipid Metabolism in Holstein Cows Fed Protected or Unprotected Canola Seeds. *J. Dairy Sci.* 84:1375-1381.
- Galobart J., Barroeta A. C., Cortinas L, Baucells M. D., y Codony R. (2002). Accumulation of α -Tocopherol in Eggs Enriched with ω 3 and ω 6 Polyunsaturated Fatty Acids. Departamento de Nutrición y Alimentación Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona. *Poultry Science* 81:1873–1876
- Grobas, S., Méndez J., Lázaro R., De Blas C., y Mateos G.G. (2001). 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. Departamento de Producción Animal, Universidad Politécnica de Madrid, 28040 Madrid y COREN, Sociedad Cooperativa Limitada, 32003 Orense, España. *Poultry Science* 80:1171–1179
- Instituto Nacional Avícola (2010). Composición del huevo. Disponible en <http://www.institutonacionalavicola.org.mx/>.
- Jenkins, T.; Blateman, H.; y Block, S. (1996). Butyl-soyamide increases unsaturation of fatty acids in plasma and milk of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79:585.
- Kris-Etherton PM, Shaffer TD, Yu-PothS, Huth P, Moriarty K, Fishel V, Hargroe RL, Zhao G, Etherton TD (2000) Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. *Am. J. Clin. Nutr.* 71:179S-88S.
- Lewis NM, Seburg S, Flanagan NL (2000) Enriched Eggs as a Source of ω -3 polyunsaturated fatty acids for humans. *Poultry Sci.* 79: 971-974.
- Metcalfe, L. D., and A. A. Schmitz. 1961. Preparation of Fatty Acid Esters for Gas Chromatography Analysis. *Anal. Chem.* 33: 363-364
- Nitsan Z, Mokadi S, Sukenik A (1999) Enrichment of poultry products with ω -3 fatty acids by dietary supplementation with the alga *Nannochloropsis* and Mantur oil. *J. Agric. Food Chem.* 47: 5127-5132.
- Noakes, M., Nestel, P. J., and Clifton, P. M. 1996. Modifying the fatty acid profile of dairy products through feedlot technology lowers plasma cholesterol of humans consuming the products. *Am. J. Clin. Nutr.* 63:42-44.
- Simopoulos, A. (2000). Symposium: Role of poultry products in enriching the human diet with n-3 PUFA. Human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. *Poultry Science* 79: 961-970.
- Whitehead, C.C. (1984) En: *Fats in animal nutrition*. Ed Wiseman, J. pp. 153-166. Butterworths. Londres.