



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA

***OBTENCIÓN DE HUEVOS DE GALLINAS ENRIQUECIDOS EN
EPA Y DHA A TRAVÉS DE LA SUPLEMENTACIÓN CON
MICROCÁPSULAS DE ACEITE DE PESCADO***

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

CAROLINA CERÓN ZAMORA

D I R E C T O R:

DR. JAVIER AÑORVE MORGÁ

CODIRECTORAS:

DRA. ELIZABETH CONTRERAS LÓPEZ

DRA. JUDITH JAIMEZ ORDAZ

MINERAL DE LA REFORMA, HGO., 2018





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería
Institute of Basic Sciences and Engineering
Dirección
 Dean

Mineral de la Reforma, Hgo., a 3 de julio de 2018

Número de control: ICBI-D/631/2018
 Asunto: Autorización de impresión.

M. EN C. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR

Por este medio le comunico que el Jurado asignado a la Pasante de Licenciatura en Química en Alimentos **Carolina Cerón Zamora**, quien presenta el trabajo de titulación **“Obtención de huevos de gallinas enriquecidos en EPA y DHA a través de la suplementación con microcápsulas de aceite de pescado”** después de revisar el trabajo en reunión de Sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación firman de conformidad los integrantes del Jurado:

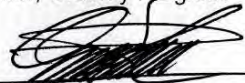
PRESIDENTE: Dr. Ernesto Alanís García
 PRIMER VOCAL: Dr. Javier Añorve Morga
 SEGUNDO VOCAL: Dra. Judith Jaimez Ordaz
 TERCER VOCAL: Dra. Araceli Castañeda Ovando
 SECRETARIO: Dra. Elizabeth Contreras López
 PRIMER SUPLENTE: Dr. Juan Ramírez Godínez
 SEGUNDO SUPLENTE: Dr. Luis Guillermo González Olivares



Juan Ramírez Godínez

Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

Atentamente
 “Amor, Orden y Progreso”



Dr. Óscar Rodolfo Suárez Castillo
 Director del ICBI



ORSC/SEPC



Ciudad del Conocimiento
 Carretera Pachuca - Tulancingo km. 4.5
 Colonia Carboneras
 Mineral de la Reforma, Hidalgo, México, C.P. 42184
 Tel. +52 771 7172000 exts 2231, Fax 2109
 direccion_icbi@uaeh.edu.mx

www.uaeh.edu.mx

Algunos de los resultados del presente trabajo fueron presentados en el 6° Congreso Internacional de Biología, Química y Agronomía. Celebrado del 27 al 29 de septiembre del 2017 en Zapopan, Jalisco, México





La Universidad Autónoma de Guadalajara
a través del
Decanato de Diseño, Ciencia y Tecnología

otorga el presente
Reconocimiento

Cerón-Zamora C, Añorve-Morga J, Contreras-López E, Jaimez-Ordaz J, Castañeda-Ovando A, y González-Olivares L

por la presentación en formato CARTEL del trabajo titulado

EVALUACIÓN DE PARÁMETROS PRODUCTIVOS EN GALLINAS PONEDORAS SUPLEMENTADAS CON ACEITE DE PESCADO MEDIANTE ENCAPSULADOS DE ALGINATO E INGESTA ORAL DIRECTA

en el **6° Congreso Internacional de Biología, Química y Agronomía**

"Ciencia e innovación para la Salud", llevado a cabo del 27 al 29 de septiembre.

Zapopan, Jalisco, México, 29 de septiembre de 2017.

MSc. Tomas Ornelas Salas
Director de la Facultad de Ciencias Químicas

MVZ Fernando Gabriel Cinco Castellanos
Director de la Facultad de Ciencias Biológico Agropecuarias



La Universidad Autónoma de Guadalajara
a través del
Decanato de Diseño, Ciencia y Tecnología

otorga el presente

Reconocimiento

a

**Cerón-Zamora, C., Añorve-Morga, J., Contreras-López, E.,
Jaimez-Ordaz, J., Castañeda-Ovando, A., y Gonzalez-Olivares,
L.**

Por la presentación en formato Oral del trabajo

**OBTENCIÓN DE HUEVOS DE GALLINAS PONEDORAS SUPLEMENTADAS CON ACEITE
DE PESCADO A TRAVÉS DE ENCAPSULADOS E INGESTA ORAL DIRECTA.**

durante el **6° Congreso Internacional de Biología, Química y Agronomía**
"Ciencia e innovación para la Salud", llevado a cabo del 27 al 29 de
septiembre.

Zapopan, Jalisco, México, 29 de septiembre de 2017.

MSC. Tomas Ornelas Salas
Director de la Facultad de Ciencias Químicas

MVZ Fernando Gabriel Cinco Castellanos
Director de la Facultad de Ciencias Biológico Agropecuarias

Agradecimientos

Ante todo doy gracias a Dios, por la vida y la familia que me dio, por todo el amor y valores, donde gracias al esfuerzo de mis padres que día con día me ayudaron hacer la persona que soy, por eso gracias a mi madre por todo los consejos que me brindo, por la mano dura que en algún momento tuvo y que no lo lograba entender, gracias por todas esas palabras de aliento y serenidad que me brindaste en momentos difícil a lo largo de mi vida no solo personal si no educativa, gracias madre por todos esos desvelos juntas y esas platicas que hemos tenido durante todos estos años, gracias por siempre apoyarme.

Gracias padre por ser mi ejemplo a seguir, por ser la persona más fuerte y valiente que he conocido en mi vida, gracias por todo ese esfuerzo que has hecho a lo largo de tantos años y que has tenido que lidiar con él para que a nosotros no nos faltara nada, gracias por darme y apoyarme en mis estudios, por jamás negarme nada. Gracias por esas risas y uno que otro regaño que me has dado y que me han enseñado que lo que se hace se hace con entusiasmo y con una sonrisa.

Gracias padres por que han dejado deja de hacer muchas cosas de sus vidas para poder darles todo a unos hijos que gracias a Dios y a su esfuerzo hoy somos unos profesionistas, gracias por inculcarme y siempre estar ahí en los momentos más importantes de mi vida y gracias por jamás decirme un no.

Gracias hermano por siempre estar ahí cuidándome y aconsejándome, dándome apoyo y ayudándome a cumplir muchos sueños y metas, gracias por esa infancia llena de felicidad que vivimos juntos por que a pesar de las peleas siempre hemos estado ahí el uno para el otro y sé que jamás no vamos a separar.

Gracias a mis abuelos (Lidia, Benita y Justino) por apoyarme y ayudarme en este proyecto y en muchos otros, gracias por siempre darme entusiasmo.

Gracias tíos por estar ahí en cada etapa de mi vida, tanto profesional como personal, gracias por darme y apoyarme en este proyecto por estar ayudándome

par que esto siguiera adelante. Gracias primos que sin su apoyo y entusiasmo, por esos momentos de diversión y felicidad que me han dado.

Gracias Doctores (Araceli, Elizabeth, Juan, Ernesto, Judith, Guillermo) por apoyarme en este proyecto, por la paciencia, las enseñanzas a lo largo de mi paso por la universidad. Gracias por brindarme parte de su tiempo y lugar de trabajo, gracias por su comprensión y apoyo que han tenido conmigo, ya que no solo he aprendido la teoría sino también a como ser mejores personas y amar lo que realmente nos gusta.

Gracias Doctor Javier por enseñarme y apoyarme en este proyecto, que a pesar de los diversos obstáculos, se culminó con ética y responsabilidad. Gracias por ayudarme a esforzarme más día con día, a siempre dar lo mejor de mí.

Gracias a mis amigos que siempre me apoyaron durante toda la carrera, que estuvieron ahí en la buenas y en las malas, por el apoyo que siempre me dieron y el entusiasmos que siempre tuvieron conmigo, gracias chicas (Bely, Keni, Mabe, Cory, Ale) por todas esas tardes o mañanas justas realizando trabajos, tareas o proyectos, también por esos momentos de felicidad y diversión que hemos pasado. Gracias chicos (Alfredo y Luis) por siempre estar ahí apoyándome, a dar lo mejor de mí, gracias por todo el aprendizaje que me dieron, las risas y los momentos de alegría que vivimos. Gracias amigos.

Gracias a Gina y Enrique, que sin su esfuerzo, comprensión y apoyo este proyecto no hubiera sido el mismo, gracias por ser parte de mi vida y brindarme no solo su sabiduría si no también su amistad.

Gracias Doctores de los laboratorios del área académica de Química (Naye, Aldapa, Vero, Gian, Icela) por su tolerancia y por permitirme usar las instalaciones y equipo.



ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	2
2. ANTECEDENTES	4
2.1 AVES DE CORRAL	4
2.2 EL HUEVO	4
2.2.1 Composición del huevo	5
2.2.2 Efecto del consumo de huevo en la salud humana	7
2.2.3 Estudios realizados para mejorar la calidad del huevo	8
2.3 IMPORTANCIA DE CONSUMIR OMEGA 3	9
3. JUSTIFICACIÓN	12
OBJETIVOS	14
4.1 GENERAL	14
4.2 ESPECÍFICOS	14
METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	16
5.1 CONDICIONES EXPERIMENTALES	16
5.2 ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LAS CÁPSULAS (ETAPA 1) ..	18
5.2.1 Elaboración	18
5.2.2 Evaluación morfológica, química y digestiva	19
5.2.2.1 Morfología	19
5.2.2.2 Glucosa	19
5.2.2.3 Grasa	20
5.2.2.4 Calcio	21
5.2.3 Digestión in vitro	21
5.2.3.1 Liberación de grasa	22
5.2.3.2 Perfil de ácidos grasos	22

5.3 ALIMENTACIÓN Y SUPLEMENTACIÓN DE LAS AVES (ETAPA 2)	24
5.3.1 Diseño de instalaciones y equipos	25
5.3.2 Formación de grupos experimentales	25
5.3.3 Manejo del ave y medición de parámetros productivos	26
5.3.3.1 Ganancia en peso.....	26
5.3.3.2 Consumo de agua	26
5.3.3.3 Consumo de alimento	27
5.3.3.4 Producción de huevo	27
5.3.4 Diseño de la suplementación de la dieta con aceite de pescado	27
5.3.5 Análisis bromatológico del alimento	28
5.3.5.1 Humedad	28
5.3.5.2 Cenizas	28
5.3.5.3 Proteína	29
5.3.5.4 Grasa total	29
5.3.5.5. Fibra cruda	30
5.3.5.6 Minerales	31
5.3.5.7 Ácidos grasos	31
5.4 ANÁLISIS DEL HUEVO (ETAPA 3)	31
5.4.1 Caracterización química	32
5.4.1.1. Análisis proximal.....	32
5.4.1.2 Colesterol	32
5.4.1.3 Minerales	33
5.4.1.4 Ácidos grasos	33
5.4.2 Caracterización física	33
5.4.2.1 Color	33
5.4.2.2 Peso	34
5.4.3 Sensorial	34
5.4.3.1 Prueba triangular	34
5.4.3.2 Prueba hedónica de nivel de agrado	36
5.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	38
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40

6.1 ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LAS CÁPSULAS (ETAPA 1) ..	40
6.1.1 Selección de la matriz encapsulante	40
6.2 CARACTERIZACIÓN DE LAS CÁPSULAS DE ALGINATO DE SODIO ..	43
6.2.1 Morfología	43
6.2.2 Glucosa	44
6.2.3 Grasa	45
6.2.4 Calcio	45
6.2.5 Digestión in vitro	45
6.2.5.1 Grasa	45
6.2.5.2 Perfil de ácidos grasos	46
6.3 ALIMENTACIÓN Y SUPLEMENTACIÓN DE LAS AVES (ETAPA 2)	49
6.3.1 Parámetros evaluados en gallinas ponedoras	49
6.3.1.1 Ganancia en peso	49
6.3.1.2 Consumo de agua	51
6.3.1.3 Consumo de alimento	53
6.3.1.4 Producción de huevo	55
6.4 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DEL ALIMENTO	57
6.4.1 Análisis proximal	57
6.4.2 Minerales	58
6.4.3 Perfil de ácidos grasos	59
6.5 ANÁLISIS DEL HUEVO (ETAPA 3)	60
6.5.1 Caracterización química	60
6.5.1.1 Humedad	60
6.5.1.2 Cenizas	60
6.5.1.3 Proteína	61
6.5.1.4 Grasa total	62
6.5.1.5 Colesterol	63
6.5.1.6 Minerales	64
6.5.1.7 Perfil de ácidos grasos	68
6.5.2 Caracterización física	75
6.5.2.1 Color	75

6.5.2.2 Peso	77
6.5.3 Análisis sensorial	78
6.5.3.1 Prueba triangular	78
6.5.3.2 Prueba de nivel de agrado.....	79
7. CONCLUSIONES	87
8. REFERENCIAS	89
9. ANEXOS.....	97

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química del huevo.	6
Tabla 2. Grupos experimentales.	26
Tabla 3. Ácidos grasos de los aceites y de la digestión in vitro (mg/100g)..	49
Tabla 4. Cantidad de huevos producidos de los diferentes tratamientos.	56
Tabla 5. Composición química del alimento para aves.	57
Tabla 6. Minerales presentes en el alimento para aves.	58
Tabla 7. Contenido de humedad en huevo de gallina ponedora.	60
Tabla 8. Contenido de cenizas en huevo de gallina ponedora.	61
Tabla 9. Contenido de proteína en huevo de gallina ponedora.	62
Tabla 10. Contenido de grasa en huevo de gallina ponedora.	63
Tabla 11 . Contenido de colesterol en mg/100 g de huevo de gallina ponedora.	64
Tabla 12. Minerales de la parte comestible del huevo (mg/100 g de huevo)..	66
Tabla 13. Minerales de la parte no comestible del huevo (g/100 g de huevo).	67
Tabla 14. Composición de ácidos grasos (mg/100g) de huevo de gallina ponedora.	73
Tabla 15 . Color de huevo de gallina ponedora.	76
Tabla 16. Diferencia de color entre muestras.	77

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Incremento de peso de los diferentes grupos de estudio.....	50
Gráfica 2. Ganancia de peso de los diferentes grupos de estudio al final del periodo de experimentación.	51
Gráfica 3. Consumo de agua de los diferentes grupos de estudio.	53
Gráfica 4. Consumo de alimento de los diferentes grupos de estudio.	55
Gráfica 5 . Nivel de agrado por el color de la yema en el huevo crudo de los diferentes tratamientos.....	80
Gráfica 6 . Nivel de agrado de los diferentes atributos en el huevo cocido ..	82
Gráfica 7. Nivel de agrado hacia los diferentes atributos evaluados en el huevo revuelto.....	83
Gráfica 8 . Nivel de agrado general mostrado hacia los diferentes tratamientos	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Gallinas ponedoras de la estirpe Rhode Island y Plymouth Rock....	4
Figura 2. Metodología experimental para la elaboración de los encapsulados (etapa 1).....	17
Figura 3. Metodología experimental del manejo y análisis de alimento para las aves (etapa 2).	24
Figura 4. División del corral fase 1 (aceite de bacalao).....	25
Figura 5. Suplementación de aceite de pescado en las aves.	27
Figura 6. Metodología experimental para el análisis del huevo (etapa 3).	32
Figura 7. Presentación de muestras para la prueba triangular (izquierda huevo cocido, derecha huevo revuelto).	35
Figura 8. Desarrollo de la prueba triangular en las cabinas de la sala de cata del Laboratorio de Análisis Sensorial.	36
Figura 9. Presentación de muestras para la prueba de nivel de agrado.....	37
Figura 10. Cápsulas de alginato de sodio y aceite de pescado.....	40

Figura 11. Cápsulas de alginato de sodio y aceite de pescado a diferente pH. Incremento de pH de izquierda a derecha.....	41
Figura 12. Cápsulas de caseína y aceite de pescado a diferente pH. Incremento de pH de izquierda a derecha (intervalo de 2 a 7).....	41
Figura 13. Cápsulas de caseína y aceite de pescado.....	42
Figura 14. Problemas de sinéresis en cápsulas de caseína y aceite de pescado.	42
Figura 15. Cápsulas de alginato de sodio y aceite de pescado deshidratadas.	43
Figura 16. Cápsulas de alginato al 0.3% hidratada (x10).....	43
Figura 17. Micrografías de cápsula de alginato al 0.3% hidratada (a) y deshidratada (b) (x50).....	44
Figura 18. Liberación final de aceite de pescado de la digestión in vitro	46
Figura 19. Cromatograma de aceite de hígado de bacalao.....	47
Figura 20. Cromatograma de aceite de salmón.	47
Figura 21. Cromatograma del alimento para aves de postura.	59
Figura 22. Cromatograma del huevo perteneciente al grupo control (CF1)...	69
Figura 23. Cromatograma del huevo perteneciente al grupo de aceite de hígado de bacalao en cápsula (HBC).....	70
Figura 24. Cromatograma del huevo perteneciente al grupo de aceite hígado de bacalao ingesta directa (HBID).	70
Figura 25. Cromatograma del huevo perteneciente al grupo control (CF2)...	71
Figura 26. Cromatograma del huevo perteneciente al grupo de aceite Salmón Cápsula (SC).....	71
Figura 27. Cromatograma del huevo perteneciente al grupo de aceite Salmón Ingesta Directa (SID)	72
Figura 28. Muestra de huevo homogenizado (de izquierda a derecha: suplementado con cápsulas de aceite de hígado de bacalao, control, con aceite de salmón en cápsulas y con aceite de salmón en pico).....	75



1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

El incremento en la aparición de las enfermedades crónicas degenerativas resalta la importancia de tener un estilo de vida saludable, en donde la alimentación juega un papel muy importante. México es el mayor consumidor de huevo per cápita en el mundo (Mendoza *et al.*, 2016), sin embargo, las tendencias hacia una alimentación sana y natural, han impactado en la disminución del consumo de huevo genérico. De esta manera, la Ciencia y Tecnología de Alimentos se ha enfocado a desarrollar alimentos o mejorar los ya existentes principalmente por la incorporación de principios activos con probados efectos benéficos en el consumidor.

Por esta razón, la industria del huevo, se ha dado a la tarea de producir nuevos tipos de huevo basados en estas tendencias (Cruz, 2012). Estos huevos se denominan huevos diferenciados, ejemplo de ello son los huevos con un mayor contenido de ciertos nutrientes como el caso de los ácidos grasos omega 3 “principalmente EPA y DHA”, algunos minerales, vitaminas y precursoras de estas últimas (IEH, 2009; Torre *et al.*, 2012). Los ácidos grasos omega 3, principalmente el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el docosahexaenoico (DHA), cuyo consumo se ha asociado con la prevención de determinadas enfermedades como las cardiovasculares o diferentes tipos de cáncer. Estos ácidos grasos se han incorporado en alimentos de consumo habitual mediante procesos tecnológicos o por inclusión en la dieta de ciertos animales. En este sentido, en el presente trabajo se buscó incorporar ácidos grasos omega 3 de cadena larga (EPA y DHA) en huevos de gallinas utilizando como mecanismo la suplementación de la dieta de gallinas ponedoras con aceite de pescado en encapsulados de alginato o suministrado con una jeringa directamente en el pico del ave para obtener así huevos con mayores contenidos de EPA Y DHA, ayudar a diversificar las fuentes naturales de estos ácidos grasos y lograr que un mayor número de personas se beneficien con su consumo.



2. ANTECEDENTES

2. ANTECEDENTES

2.1 AVES DE CORRAL

El término ave de corral se emplea para referirse a las aves domésticas granívoras y aves acuáticas que se utilizan para producir carne y huevos (Church *et al.*, 2006). Para el caso de las gallinas productoras de huevo, existen diferentes clasificaciones en función de las características que tienen en común, zona geográfica de origen y el propósito que se persigue (Church *et al.*, 2006).

Nieves (2015) describe a las gallinas ponedoras como aves de tamaño pequeño cuya carne no es muy apreciada, muy fértiles, ya que comienzan la etapa de postura entre los 5 y 6 meses de vida generando huevos de tamaño medio destacando las razas Leghorn productoras de huevo blanco, y Rhode Island y Plymouth Rock barrada en huevo rojo (Figura 1).



Figura 1. Gallinas ponedoras de la estirpe Rhode Island y Plymouth Rock.

2.2 EL HUEVO

La NOM-159-SSA1-1996 define al huevo como el producto de la ovulación de la gallina (*Gallus domesticus*) y otras especies de aves que sean aceptadas para consumo humano. Además, hace hincapié en que un huevo fresco es aquel que

presenta un olor y sabor característico y que al ser observado al ovoscopio, aparecerá completamente claro, sin sombra alguna, con yema centrada apenas perceptible, cámara de aire equivalente al tiempo transcurrido, teniendo como máximo 15 días después de la postura.

2.2.1 Composición del huevo

El huevo es un ingrediente básico en la cocina, de alto valor nutritivo, apetecible, gastronómicamente muy versátil, fácil de preparar y con una excelente relación calidad-precio.

Está constituido por la yema que representa aproximadamente el 31% del peso total; la clara un 58% y la cáscara o cascarón un 11%. Sin embargo, estos valores pueden presentar variaciones debidas a factores como edad, estirpe, nutrición, entre otros (Sastre *et al.*, 2002).

Los componentes nutricionales del huevo están heterogéneamente repartidos, existiendo importantes diferencias entre la clara y la yema (Sastre *et al.*, 2002). De tal manera que, la grasa, el colesterol y algunos micronutrientes como los minerales y las vitaminas hidrosolubles se encuentran principalmente en la yema (Tabla 1); en tanto que, la clara está formada principalmente por agua (88%) y proteínas (11%), siendo la ovoalbúmina la más importante (Sastre *et al.*, 2002).

De acuerdo con el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (s.f), el huevo aporta al total de la dieta una apreciable cantidad de proteína de fácil digestión y un perfil de aminoácidos esenciales similar al que se considera ideal para el hombre. Por esta razón, se dice que es de alto valor biológico (Ángeles, 2006).

El contenido total de grasas del huevo es de 4 a 4.5 g por unidad, de las cuales 1.5 g son grasa saturada y el resto insaturada. El principal fosfolípido es la lecitina (fosfatidilcolina), con algo de fosfatidiletanolamina y pequeñas cantidades de fosfatidilserina. Los ácidos grasos que se encuentran mayoritariamente en los

triglicéridos de la yema de huevo, son oleico, palmítico, esteárico y linoleico (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, s.f.).

Tabla 1. Composición química del huevo.			
Nutriente	Huevo entero	Clara	Yema
Agua (g)	37.66	29.32	8.10
kcalorías (g)	74.5	16.7	59.42
Proteínas (g)	6.24	3.51	2.78
Lípidos totales (g)	5.01	-	5.12
Ácidos grasos como TAG (g)	4.32	-	4.42
AGS (g)	1.55	-	1.58
AGM (g)	1.90	-	1.94
AGP (g)	0.68	-	0.69
Colesterol (mg)	212.5	-	212.64
Lecitina (g)	1.15	-	1.11
Vitaminas			
A (UI)	317.5	-	322.8
D (UI)	24.5	-	24.5
E (mg)	0.52	-	0.52
B12 (mcg)	0.5	0.067	0.51
B1 Tiamina (mg)	0.031	0.002	0.028
B2 Riboflavina (mg)	0.254	0.151	0.10
B3 Niacina (mg)	0.03	0.031	0.002
B5 Ac. Pantoténico. (mg)	0.627	0.04	0.63
B6 Piridoxina (mg)	0.070	0.001	0.06
B9 Folato (mcg)	23.5	1.002	24.23
Biotina (mg)	9.98	2.34	7.58
Colina (mg)	215.06	0.42	215.97
Minerales			
Calcio (mg)	24.5	2.004	22.74
Hierro (mg)	0.72	0.01	0.58
Magnesio (mg)	5	3.67	1.49
Fósforo (mg)	89	4.34	81
Potasio (mg)	60.5	47.76	15.6
Selenio (mcg)	15.4	5.87	7.50
Sodio (mg)	63	54.77	7.13
Zinc (mg)	0.55	0.003	0.51

Fuente: USDA (Egg Nutrition Center – USA) y Caso, 2016.

2.2.2 Efecto del consumo de huevo en la salud humana

El huevo es rico en aminoácidos esenciales, ácidos grasos y algunos minerales y vitaminas necesarias en la dieta del ser humano. Además, por sus altas concentraciones de nutrientes y su bajo nivel calórico, aunado al aporte de algunos componentes que hoy se saben tienen un importante papel en la salud y en la prevención de algunas enfermedades crónicas frecuentes en las sociedades desarrolladas, el huevo recobra importancia no sólo en la dieta de la población en general, sino también en la de algunos grupos con necesidades alimenticias específicas como ancianos, adolescentes, gestantes, personas que realizan dietas hipocalóricas y vegetarianos (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, s.f.).

En este sentido, existen diversos estudios que ponen de manifiesto los efectos benéficos del consumo de huevo (Instituto de Estudios del Huevo, 2009), por la alta calidad de la proteína y la biodisponibilidad de ésta, el huevo se ha convertido en una gran fuente de nutrientes en las primeras etapas de la vida (desarrollo del feto) y en una alternativa para que los deportistas ganen músculo, de la misma manera que ayuda a las personas mayores a no perder masa muscular (Instituto de Estudios del Huevo, 2009).

Además, ha tomado un interés especial en las dietas para adelgazamiento debido a que por su composición nutricional, el huevo es un alimento con una gran capacidad saciante (Instituto de Estudios del Huevo, 2009).

Se ha demostrado también el efecto benéfico que ejerce el consumo de huevo en los vasos sanguíneos, reduciendo el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares y hepáticas, debido al alto contenido de ácido oleico. De igual forma, los fosfolípidos, como la colina, ayudan a combatir el padecimiento de deterioros hepáticos, de infertilidad, hipertensión, cáncer, pérdida de memoria, entre otros; y la lecitina (fosfatidilcolina) ayuda en la formación de las sales biliares y la emulsificación de las grasas en el organismo humano (Instituto de Estudios del Huevo, 2009).

Otro compuesto importante del huevo es la biotina, nutriente esencial que se encuentra vinculado a la protección de la piel y al mantenimiento de importantes funciones corporales. La ingesta diaria recomendada de biotina (30 mg por día), se cubre aproximadamente en un 40% con el consumo de un huevo (Instituto de Estudios del Huevo, 2009).

Los huevos aportan también el 20% de la cantidad diaria recomendada de riboflavina, la cual es muy importante para el crecimiento corporal y la producción de glóbulos rojos.

El consumo de huevo proporciona también antioxidantes al organismo humano, principalmente en forma de los pigmentos luteína y zeaxantinas pertenecientes a la familia de los carotenoides. Se ha demostrado que estos pigmentos se depositan en el ojo y lo protegen previniéndolo de las cataratas y la degeneración macular, causas frecuentes de ceguera en edades avanzadas (Instituto de Estudios del Huevo, 2009).

2.2.3 Estudios realizados para mejorar la calidad del huevo

Sabiendo que el huevo forma parte de la canasta básica (PROFECO, 2013; SIAP, 2016) y que cumple un rol importante en la dieta, se han realizado diversos estudios para mejorar la calidad de este producto alimenticio mediante la incorporación o incremento de la concentración de nutrientes específicos.

En este sentido, uno de los aspectos que mayor interés ha generado en los últimos años es la incorporación de ácidos grasos omega 3 en productos de consumo habitual como la carne y el huevo. Lo anterior por los probados efectos benéficos de estos ácidos grasos en la salud del consumidor. Así, algunos estudios han mostrado que mediante dietas especiales a las aves por un periodo de tres semanas y de uso continuo se pueden alcanzar niveles deseados de omega 3 y vitamina E en los huevos (Mónica, 2010), sin alterar el sabor o el olor del huevo.

Un mecanismo para obtener huevos con ácidos grasos omega 3, es con la incorporación de aceites vegetales, como el de linaza (Betancourt y Díaz, 2009) o

de pescado, como el de atún (Valladolid *et al.*, 2005), sardina (Carrillo *et al.*, 2012) o bacalao en la alimentación de la gallina, originando huevos enriquecidos con ácido eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) (Pérez *et al.*, 2011; Baños *et al.*, 2011).

2.3 IMPORTANCIA DE CONSUMIR OMEGA 3

Los ácidos grasos omega 3 son indispensables en la dieta, ya que aportan beneficios a la salud humana. A estos se les cataloga como ácidos grasos poliinsaturados esenciales, debido a que el cuerpo humano no los puede sintetizar a partir de otras sustancias y que, por lo tanto, se han de ingerir a través de la dieta, ya que son necesarios para que se desarrollen correctamente funciones básicas del organismo como el metabolismo lipídico, la coagulación, la regulación de la presión sanguínea y de los procesos inflamatorios (Yannakopoulos, 2007). Los principales ácidos grasos omega 3 son el ácido linolénico (de cadena media), el eicosapentaenoico (EPA; C20:5 n-3) y el docosahexaenoico (DHA; C22:6 n-3), ambos de cadena larga. Aunque el ácido linolénico es imprescindible para el organismo, el EPA y el DHA tienen la capacidad de prevenir o contrarrestar las consecuencias de ciertas enfermedades, como las de tipo cardiovascular (Jackson, 2008). Por este motivo, aquellos alimentos que han sido enriquecidos con omega 3 deben contener EPA y DHA y no sólo ácido linolénico (Castro, 2002).

El EPA y el DHA son ácidos grasos esenciales para una extensa variedad de funciones biológicas. Están presentes en cada célula del cuerpo humano donde afectan directamente a la salud, al crecimiento y al bienestar humano (Jackson, 2008). Estos ácidos grasos también contribuyen al buen funcionamiento del cerebro, el sistema inmune y el sistema nervioso (Yannakopoulos, 2007).

El 25% de la grasa en el cerebro de los humanos y los animales es DHA y muchas investigaciones publicadas actualmente muestran el beneficio de un aumento en el consumo de DHA para la función cerebral (IFFO, 2008). El DHA también es el ácido graso preferido para la construcción y el funcionamiento correcto de las membranas,

particularmente aquellas en tejidos muy activos como los nervios y músculos (Hustvedt *et al.*, 2012).

El EPA en particular contribuye a la respuesta antiinflamatoria, es el componente esencial de un grupo de mensajeros celulares llamado eicosanoides, estas células afectan la presión sanguínea, coagulación sanguínea, la respuesta alérgica, función inmunológica y las secreciones reproductivas y gástricas (IFFO, 2008).

En el mismo sentido, Valenzuela *et al.* (2011) cita algunas evidencias que sugieren que los ácidos grasos de cadena larga omega 3 pueden tener diversas aplicaciones en el tratamiento y/o la prevención de diferentes patologías clínicas o nutricionales como las enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas, cáncer, enfermedad inflamatoria intestinal, artritis reumatoide, entre otras.

El EPA y el DHA son esenciales en la alimentación humana para el crecimiento, desarrollo y buena salud. Sin embargo, la mayoría de las dietas occidentales son deficientes en omega 3 de cadena larga, por lo que es importante realizar investigaciones científicas que permitan ampliar la gama de fuentes de dichos ácidos grasos omega 3. Por lo anterior, en el presente trabajo se estudian alternativas para incorporar EPA Y DHA en huevo de gallinas ponedoras mediante la inclusión en la dieta de aceite de hígado de bacalao o salmón ya sea suministrándolo directamente en el pico de las aves o por medio de encapsulados mezclados con el alimento habitual.



3. JUSTIFICACIÓN

3. JUSTIFICACIÓN

Los ácidos grasos omega 3 son esenciales en la alimentación humana para el crecimiento, desarrollo y buena salud. Su ingesta permite una rápida incorporación al organismo, ayudando a prevenir o retardar las enfermedades crónicas degenerativas. Sin embargo, el consumo de estos ácidos grasos de cadena larga es deficiente en la alimentación por diversos factores que van desde lo cultural, geográfico, económico, sensorial y disponibilidad. Por ello, se ha visto la necesidad de crear alternativas para la incorporación de estos ácidos grasos en diferentes productos de consumo habitual.

En este sentido, al ser el huevo un alimento básico de la dieta del ser humano, en el presente trabajo se han realizado estudios para incorporar EPA y DHA mediante la suplementación de aceite de hígado de bacalao o salmón en la dieta de gallinas ponedoras sin alterar las propiedades organolépticas del huevo. Lo anterior con la finalidad de diversificar las fuentes de estos tipos de ácidos grasos y lograr que un mayor número de personas se beneficien con su consumo.



4. OBJETIVOS

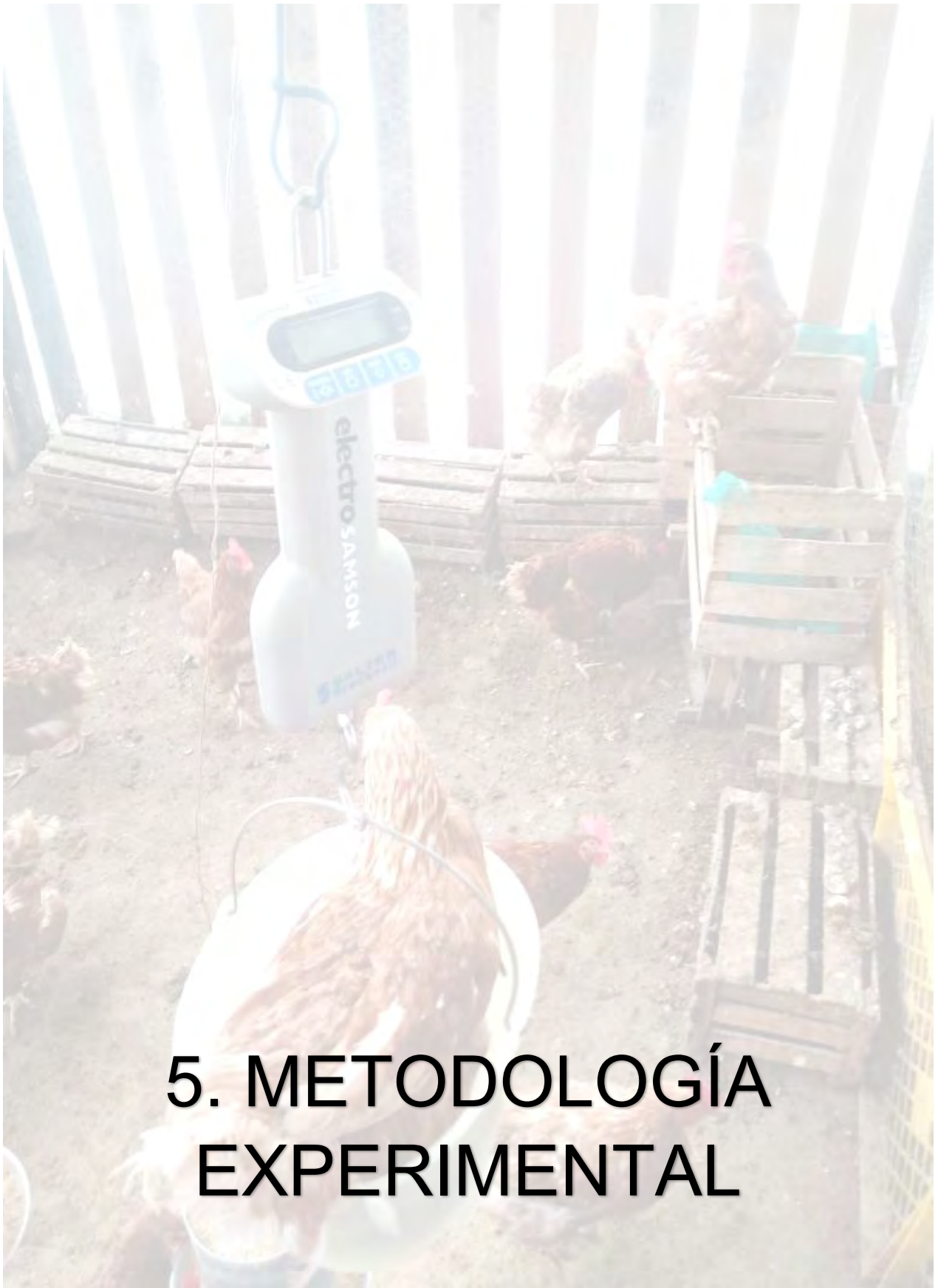
OBJETIVOS

4.1 GENERAL

Suplementar la dieta de gallinas ponedoras con aceite de pescado suministrado de forma directa o encapsulado para obtener huevos con altos contenidos de ácidos omega 3 esenciales (EPA y DHA).

4.2 ESPECÍFICOS

1. Elaborar cápsulas de aceite de pescado mediante el estudio de diferentes matrices para seleccionar la más adecuada para la alimentación de gallinas ponedoras.
2. Evaluar mediante estudios *in vitro* la eficiencia de liberación del aceite de las cápsulas seleccionadas para determinar la cantidad de encapsulados a incorporar en la dieta de las gallinas.
3. Comparar el efecto de la suplementación del aceite de pescado de forma directa y mediante los encapsulados sobre los parámetros productivos (cantidad y peso de los huevos) para establecer el mejor método de administración.
4. Analizar la composición química y perfil de ácidos grasos de los huevos obtenidos en la experimentación para determinar el efecto de la suplementación de la dieta con aceite de pescado de forma directa y mediante los encapsulados.
5. Evaluar sensorialmente mediante una prueba discriminativa y una afectiva, las propiedades organolépticas de los huevos obtenidos durante la experimentación para determinar posibles cambios negativos perceptibles por el consumidor.



5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

5.1 CONDICIONES EXPERIMENTALES

El siguiente proyecto se desarrolló en tres etapas: La primera consistió en la elaboración de las cápsulas, la selección de la matriz encapsulante adecuada, el análisis y la digestión *in vitro* de las cápsulas (simulación del tracto gastrointestinal del ave), la determinación del perfil de ácidos grasos del aceite y los productos de la simulación, así como, el establecimiento de la dosis de encapsulado a suministrar (Figura 2). En la segunda etapa se realizó la alimentación de las aves con dos tipos de aceites y se efectuó la evaluación de los parámetros productivos y el alimento (Figura 3) y en la tercera se llevó a cabo el análisis de los huevos (Figura 6).

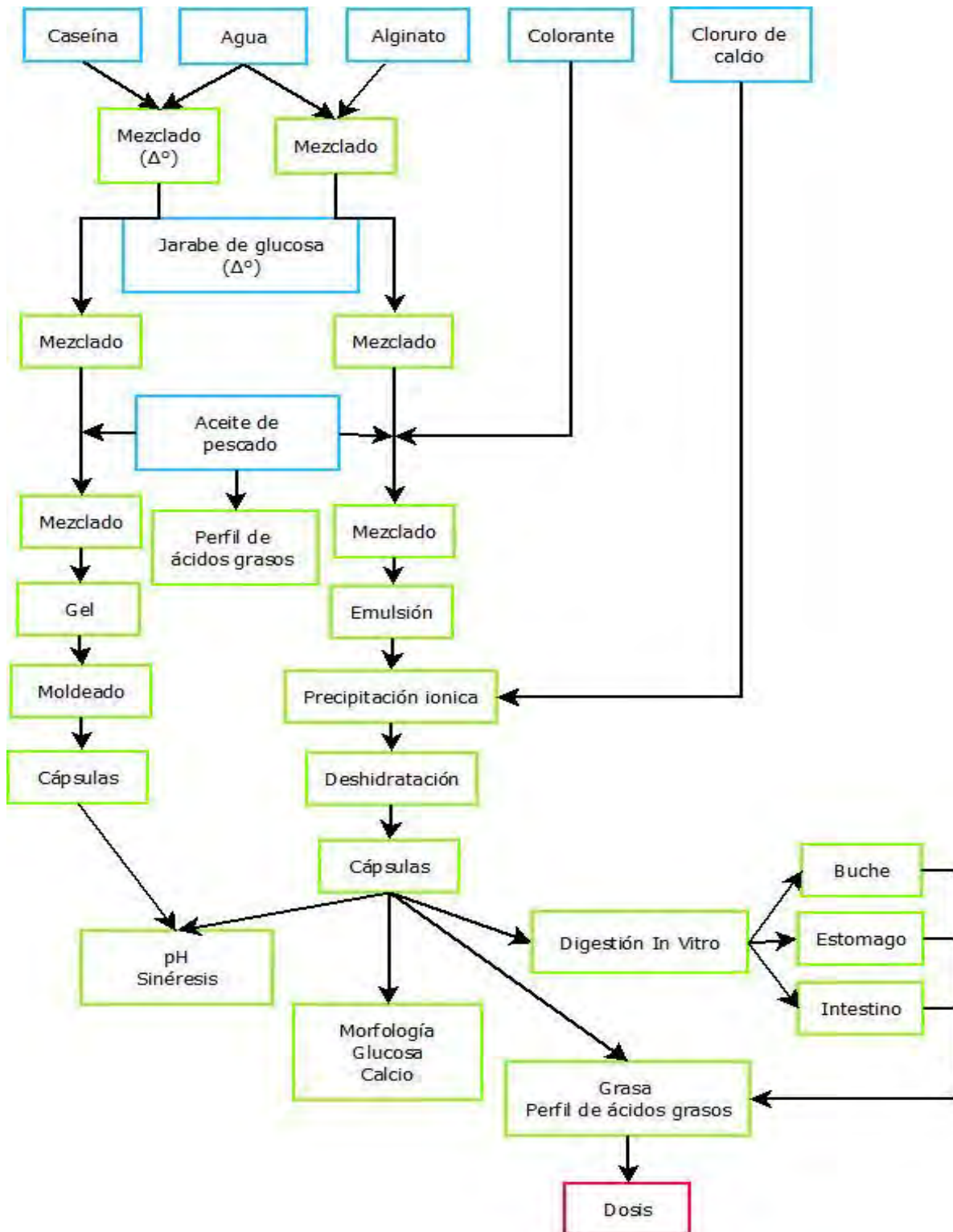


Figura 2. Metodología experimental para la elaboración de los encapsulados (etapa 1).

5.2 ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LAS CÁPSULAS (ETAPA 1)

5.2.1 Elaboración

En la elaboración de las cápsulas se probaron dos diferentes matrices encapsulantes (alginato y caseinato de sodio) siguiendo la metodología de Kosaraju *et al.* (2009) con ciertas modificaciones, con la finalidad de seleccionar la mejor para encapsular el aceite de pescado y suplementar la dieta de gallinas ponedoras. Para ello, se prepararon 5 mL de una solución al 0.3% de alginato por cada mL de aceite añadido. Por otro lado, se calentó a 50°C jarabe de glucosa (60% dextrosa) para aumentar su fluidez e incorporarlo a la solución de alginato. La mezcla se homogeneizó a 200 rpm y se dejó enfriar. En seguida, se añadió 1 mL de aceite y 10 gotas de colorante vegetal rojo con la finalidad de que la cápsula resultara atractiva para las aves (el color llama su atención y con ello se incrementa la posibilidad de su ingesta). La emulsión se realizó con ayuda de un ultraturrax® a 15000 rpm durante 10 min.

Una vez obtenida la emulsión, se encapsulo por ionización. Para ello se colocó rápidamente en jeringas de 5 mL con aguja de 0.8 X 40 mm y se dejó caer por goteo en 50 mL de una solución de cloruro de calcio 0.5 mol L⁻¹.

Posteriormente, se eliminó el exceso de líquido de las cápsulas en un colador casero y se depositaron en un frasco de color ámbar con solución limpia de cloruro de calcio durante 12 h a temperatura ambiente para incrementar la resistencia de la matriz encapsulante. A continuación, se volvieron a escurrir en un colador casero y se colocaron en papel encerado, en el que se extendieron con una espátula para evitar apelmazamiento (Baños, 2018). Después, se sometieron a deshidratación a 45°C durante 6 a 8 h en una deshidratadora convencional (Weston®-74-101-W). Finalmente, las cápsulas se almacenaron en frascos ámbar con una atmósfera de nitrógeno y en congelación (-8°C) hasta su utilización.

Por otro lado, con la finalidad de probar la caseína como posible matriz encapsulante se aplicó la metodología descrita por Kosaraju *et al.* (2009) con ciertas modificaciones. Para ello, se preparó una solución de caseína al 45%, jarabe de glucosa al 30% y glucosa anhidra al 25%. En seguida, se mezclaron en porciones 1:1:1 durante 10 min a 170°C y 600 rpm. Una vez homogeneizada, la solución se colocó en un tubo de ensayo, se agregó 1 mL de aceite de pescado y se mezcló en un vórtex durante 1 min. Para formar las esferas, la emulsión formada se transfirió a moldes de acrílico forrados con papel aluminio con ayuda de una jeringa de 5 mL con aguja de 0.8 X 40 mm. Las esferas se enfriaron a temperatura ambiente para su gelificación.

5.2.2 Evaluación morfológica, química y digestiva

5.2.2.1 Morfología

Los encapsulados se analizaron por microscopía electrónica de barrido ambiental (ESEM, Zeiss EVO LS10, Carl Zeiss, Oberkochen, Alemania). Las partes transversales de los encapsulados se prepararon usando un calibrador digital (Neiko 01 407^a, EE. UU.). Las muestras se colocaron en una placa estándar de aluminio de media pulgada, la cual estaba recubierta con cinta de carbón de doble cara. Las placas se colocaron en el microscopio para obtener las micrografías explorando el tamaño y la morfología de la superficie de los encapsulados. Las micrografías se adquirieron con un aumento de 60x.

5.2.2.2 Glucosa

En la determinación del contenido de glucosa se aplicó la metodología del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) descrita por Gil, *et al.* (2006). Para preparar la solución de DNS se disolvieron 0.8 g de NaOH en 10 mL de agua destilada. Posteriormente, se le adicionaron 0.5 g de DNS y 25 mL de agua destilada; en seguida se le agregaron 15 g de tartrato de potasio tetrahidratado. La solución se aforó a 50 mL con agua destilada y se almacenó en un recipiente ámbar.

La curva de calibrado se realizó con una solución estándar de glucosa de 100 mg/L. Se tomaron los volúmenes necesarios para preparar 10 mL de soluciones patrón en

el intervalo de 20-100 mg/L (n=5). A cada solución se le agregaron 3 mL de DNS, se colocó en un baño con agua a 95°C por 5 min y se aforó. Posteriormente, se dejó enfriar durante 15 min. Transcurrido el tiempo, se realizaron las lecturas de absorbancia en un espectrofotómetro a 540 nm.

Una vez construida la curva patrón, para el análisis de las muestras, se colocó 1 g de cápsulas en un tubo con 10 mL de una solución de cloroformo: metanol (2:1), se le agregaron 10 mL de agua para formar dos fases, una orgánica la cual se desechó y una acuosa de la que se recuperó la glucosa. De esta fase, se tomaron 0.2 mL y se le agregaron 3 mL del reactivo DNS, la mezcla se colocó en un baño María a 95°C por 5 min y se aforó. Para finalizar, se tomó la lectura a 540 nm. La cuantificación se realizó por interpolación a la curva de calibración.

5.2.2.3 Grasa

La determinación se basó en la metodología descrita por Bligh y Dyer (1959) con algunas modificaciones. En un tubo de ensayo limpio (libre de grasa) y seco con un peso conocido, se colocaron 2 g de muestra y se adicionaron 10 mL de una solución cloroformo-metanol (2:1 v/v), la mezcla se agitó con un vórtex durante 1 min. Después, se retiró el líquido con una pipeta Pasteur, tratando de no alterar la capa flotante ni los sólidos desprendidos. Este procedimiento se realizó hasta que la muestra se precipitó al fondo del tubo y el solvente se tornó incoloro. Posteriormente, el tubo se colocó en una estufa a 60°C para eliminar el exceso de solvente y se pasó a un desecador. Finalmente, se pesó el tubo con la materia sólida para conocer la cantidad de grasa liberada (Ecuaciones 1 y 2).

$$\% \text{ Sólido} = ((P_f - P_i) * 100) / m \quad (\text{Ec.1})$$

$$\% \text{ Grasa} = 100 - \% \text{ de sólido} \quad (\text{Ec. 2})$$

Dónde: P_f = peso constante del tubo con la materia sólida (g), P_i = peso constante del tubo antes de la determinación (g), m = peso de la muestra (g).

5.2.2.4 Calcio

Aun cuando en las cápsulas únicamente se determinó el contenido de calcio, para este análisis se realizó una curva de calibración multielemental, debido a que se utilizó también para cuantificar otros minerales en diversas matrices como alimento [Ca y P (0-30 mg/L)], huevo [Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P, K, Na, Se, Ni y Zn (0-30 mg/L)] y cascarón [Ca y Na (0-150 mg/L)]. La solución estándar multielemental se preparó a partir de una solución madre (matriz nítrica al 5%), con una concentración conocida de cada uno de los elementos analizados. Las muestras se analizaron en espectrofotómetro de emisión atómica con fuente de plasma (Optima 8300, Perkin Elmer®). Se utilizó un flujo de argón 8 L/min.

Una vez que se construyó la recta de calibrado, se procedió a la digestión de las muestras mediante el método EPA 3052 (EPA, 1996), con modificaciones acorde al tipo de muestra. Se colocaron 500 mg de cada muestra seca en vasos de teflón modelo HP500 de CEM, a cada uno se le adicionaron 10 mL de HNO₃ concentrado, se sometieron a calentamiento en un sistema de reacción acelerada por microondas modelo MARS X de CEM, equipado con un rotor. Para ello, se empleó una rampa de temperatura, desde T_{amb} hasta 165°C durante 5.5 min y de 165°C a 180°C durante 4.5 min; el límite de presión fue de 300 psi. Una vez digestadas las muestras se llevaron a volúmenes finales de 50 mL con agua desionizada.

En seguida, las muestras se analizaron en el espectrofotómetro aplicando las condiciones de la recta de calibrado. La cuantificación de cada elemento se realizó por interpolación en las curvas de calibrado.

5.2.3 Digestión *in vitro*

Este proceso se realizó para conocer el comportamiento de la cápsula durante el sistema digestivo del ave.

Para la realización de la digestión *in vitro* de las cápsulas se siguió la metodología de Menezes-Blackburn *et al.* (2015) con ligeras modificaciones. Primero se realizó la simulación del buche, para ello, se pesó en un vaso de vidrio 1 g de cápsulas deshidratadas, se agregaron 10 mL de buffer de acetatos a pH 5 y la mezcla se

colocó en una incubadora incu-shaker mini ® a 40°C durante 30 min. Posteriormente, para la simulación del estómago, se agregaron 560 µL de HCl 1mol L⁻¹ y 1040 µL de buffer de acetatos a pH 3, el cual contenía la pepsina disuelta (21 mg mL⁻¹), esto se llevó nuevamente a incubación durante 45 min a 40°C y 100 rpm. Finalmente, se realizó la simulación del intestino, en la que el líquido del vaso se depositó en una bolsa de diálisis que se activó con agua destilada a 100°C durante 5 min. Esta bolsa se selló con pinzas de plástico, se colocó en un frasco de vidrio con tapón de rosca [en el que se adicionaron 1300 µL de pancreatina (14.8 mg mL⁻¹) y 250 mL de carbonato de sodio (1 molL⁻¹)] y se incubó a 40°C durante 60 min.

En cada etapa de simulación del tracto gastrointestinal se recogió parte del líquido para el posterior análisis de grasa y perfil de ácidos grasos.

5.2.3.1 Liberación de grasa

Para determinar el contenido de grasa liberada en la simulación del tracto gastrointestinal, se tomó por separado 1 mL del líquido que se recuperó en cada etapa (buche, estómago e intestino) y se colocó en un vaso de 10 mL (previamente puesto a peso constante). Acto seguido, se colocó en la estufa Felisa® a 60°C por 2 h. Finalmente, se llevó a peso constante y se registró el peso. La cantidad de aceite liberado se determinó por medio de la ecuación 3.

$$\% \text{ Grasa liberada} = \frac{p_a - p_b}{m} \times 100 \quad (\text{Ec. 3})$$

Dónde: P_a = Peso constante del vaso con extracto etéreo; P_b = Peso constante del vaso antes de la determinación; m = Peso de la muestra (g).

Se consideró el volumen original y se realizó la corrección del porcentaje de grasa.

5.2.3.2 Perfil de ácidos grasos

El análisis del perfil de ácidos grasos se realizó mediante la metodología descrita por Añorve *et al.* (2015).

Se colocó 1 mL de muestra (aceite o líquido recuperado en cada etapa de simulación de la digestión *in vitro*) en un tubo de ensayo con tapón de rosca.

Posteriormente, se le adicionaron 10 mL de una solución cloroformo:metanol (2:1 v/v), se homogeneizó en vórtex® durante 2 min, se marcó el volumen de la mezcla y se refrigeró durante 12 h. Transcurrido este tiempo, se tomó una alícuota de 500 µL de la fase lipídica y se transfirió a un tubo limpio, al cual se le adicionó 1 mL de BF₃:MeOH (12.5:100; v/v). Posteriormente se sometió a calentamiento 90°C durante 8 min. Para obtener los metil ésteres de los ácidos grasos, el contenido se lavó dos veces con 1 mL de hexano y 1 mL de agua saturada de hexano. De esta manera se cambió la polaridad de la mezcla para separar los compuestos hidrofílicos de los hidrofóbicos. Inmediatamente, se agitó durante 2 min en un vórtex y se obtuvieron así dos fases. La fase acuosa (inferior) se desechó ya que ahí se encontraban las impurezas y la fase superior (lipídica) se lavó con 2 mL más de agua saturada de hexano para eliminar de manera total los compuestos hidrofílicos. El tubo se congeló por 5 h con el fin de eliminar la mayor cantidad de agua e impurezas. Pasado el tiempo, se transfirió la fase orgánica a un vial de inyección de 1 mL con fondo en pico y se concentró con flujo de nitrógeno (N₂) para desplazar el oxígeno presente y evitar las oxidaciones en los metil ésteres de ácidos grasos. Para su redisolución, se le adicionaron 500 µL de diclorometano (CH₂Cl₂) al vial de inyección.

Posteriormente, se inyectó 1 µL de la solución en un cromatógrafo de gases (Perkin Elmer, modelo autosystem XL) equipado con un detector de ionización de flama (FID). Se utilizó una columna capilar polar (75m x 0.18 mm de diámetro interno x 0.14 mm de grosor de Supelco TM). La inyección se realizó en el modo *splitless* utilizando nitrógeno como gas portador a un flujo de 1 mL min⁻¹. La temperatura de inyección se mantuvo en 230°C y la temperatura del detector en 250°C. Se utilizó un gradiente de temperatura: inicio en 150°C, incremento cada 4°C/min hasta 214°C, mantenimiento por 2 min a 214°C, incremento 2.5°C/min hasta 244°C y mantenimiento durante 5 min.

Para la identificación y cuantificación se utilizó una recta de calibrado realizada con una mezcla de ácidos grasos (Supelco®) de concentraciones conocidas.

5.3 ALIMENTACIÓN Y SUPLEMENTACIÓN DE LAS AVES (ETAPA 2)

La segunda etapa del proyecto consistió en la alimentación y suplementación de las aves; así como en la determinación de los parámetros productivos, el análisis bromatológico y el perfil de ácidos grasos del alimento (Figura 3). Esto se realizó con aves de estirpe entre Plymouth Rock y Rhode Island Red de 18 semanas de edad en la comunidad de San Juan Solís, municipio de San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo. El estudio se llevó a cabo en los periodos del 16 de agosto al 3 de diciembre del 2016 y del 13 de abril al 3 de mayo del 2017.

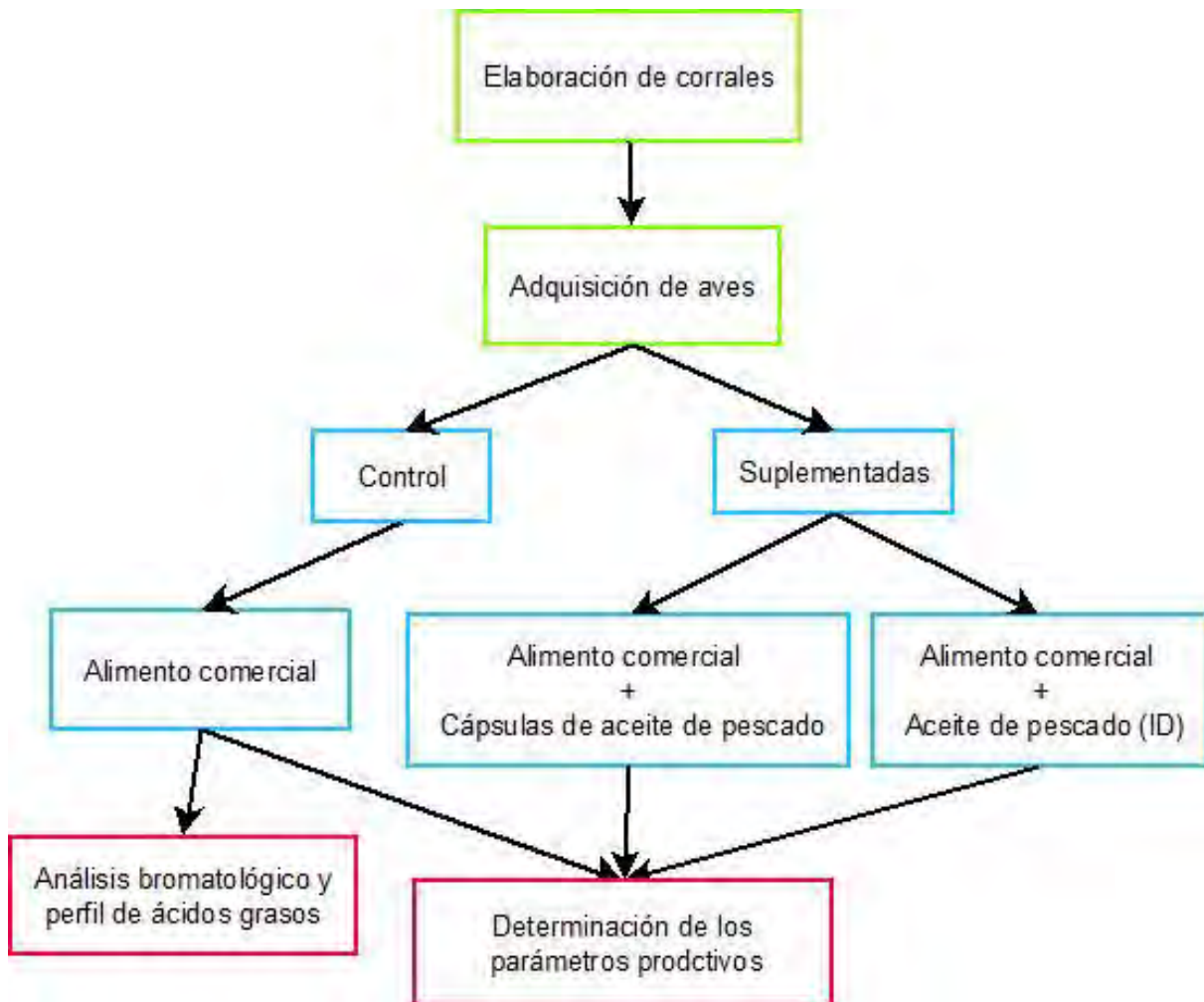


Figura 3. Metodología experimental del manejo y análisis de alimento para las aves (etapa 2).

5.3.1 Diseño de instalaciones y equipos

Después de adquiridas, las aves se alojaron en un corral de 4x4 m, el cual se dividió en dos partes (primera fase del experimento con aceite de hígado de bacalao) y posteriormente en 3 (segunda fase del experimento con aceite de salmón) (Figura 4).



Figura 4. División del corral fase 1 (aceite de bacalao).

Cada corral contenía dos bebederos de plástico con capacidad de 3.5 L. La primera división contenía dos comederos de tolva de 2.5 kg de capacidad, y las divisiones restantes un comedero de las mismas características.

Posteriormente, en la segunda fase, la tercera división contenía dos botes de plástico con capacidad de 500 g cada uno. En todos los corrales se utilizó forraje de cebada como cama. El corral y las divisiones se realizaron con malla gallinera y madera. En cada división se le colocaron cajas de madera que sirvieron como lugar de postura.

5.3.2 Formación de grupos experimentales

Se utilizaron 50 gallinas ponedoras provenientes de Zumpango, Estado de México. En la primera fase, las aves se separaron en dos grupos [grupo control (A): 30 aves y grupo suplementado (B): 20 aves]. Las aves de ambos grupos se identificaron con una etiqueta de color negro para grupo A y blanco para el grupo B, colocada en la pata izquierda.

Posteriormente, en la segunda fase, del grupo B se tomaron 5 gallinas al azar y se colocaron en la tercera división realizada al corral. En la Tabla 2 se muestra los grupos, cantidades y edades de las aves durante el experimento.

Tabla 2. Grupos experimentales.						
Fase	1° Aceite de hígado de bacalao			2° Aceite de salmón		
Grupo	Control	Cápsulas	Ingesta directa	Control	Cápsulas	Ingesta directa
Aves	30	20	19	30	5	14

La primera fase de experimentación se inició con aves de 19 semanas de vida y la segunda de 36 semanas.

5.3.3 Manejo del ave y medición de parámetros productivos

Para el adecuado manejo de las aves, tal como lo recomienda la FAO, semanalmente se efectuó el aseo de los corrales, se recogieron las camas y se limpiaron las cajas de madera donde las aves dormían (Williams, 2013).

5.3.3.1 Ganancia en peso

Para este parámetro, cada ave se pesó en ayunas y por las mañanas. Las mediciones se realizaron antes de iniciar el experimento (día cero) y cada día posterior con ayuda de una báscula digital y una canasta. El incremento de peso se calculó con la Ecuación 4 y se registró cada tercer día.

$$\text{Incremento de peso} = \text{Peso final del ave} - \text{Peso inicial del ave} \quad (\text{Ec. 4})$$

5.3.3.2 Consumo de agua

En cuanto al agua consumida, se calculó diariamente con ayuda de una probeta de plástico considerando el volumen inicial y final (Ec. 5).

$$\text{Volumen de agua consumida} = \text{volumen de agua inicial} - \text{volumen de agua sobrante} \quad (\text{Ec. 5})$$

5.3.3.3 Consumo de alimento

Para conocer la cantidad de alimento consumido se pesó el comedero diariamente al inicio y al final del día (Ec. 6).

$$g \text{ de alimento consumido} = g \text{ de alimento inicial} - g \text{ de alimento sobrante} \quad (\text{Ec.6})$$

5.3.3.4 Producción de huevo

Para conocer la producción de huevo se registró el día y el número de huevos encontrados en las cajas de madera de cada grupo, esto se realizó diariamente por las mañanas.

5.3.4 Diseño de la suplementación de la dieta con aceite de pescado

Las gallinas fueron alimentadas con alimento comercial Purina®. Se inició con “startina”, que es especial para gallinas a punto de romper postura y posteriormente se utilizó “posturina” en la etapa de postura. Tanto el alimento como el agua se suministraban una vez al día.

De los dos grupos de aves formados, uno se utilizó como control (30 gallinas) y únicamente consumió el alimento comercial; el otro grupo (20 gallinas) consumió la dieta suplementada con aceite de pescado. Para esto último, se utilizaron dos métodos: el primero fue mediante cápsulas de alginato (1 g por ave; equivalente a 0.71 g de aceite) mezcladas con el alimento comercial y el segundo de forma directa en el pico (progresivamente de 0.3 hasta 0.5 mL de aceite) con jeringas de plástico (Figura 5).



Figura 5. Suplementación de aceite de pescado en las aves.

5.3.5 Análisis bromatológico del alimento

5.3.5.1 Humedad

La determinación se basó en el método 925.10 de la Association of Official Analytical Chemists, AOAC por sus siglas en inglés (AOAC, 1995).

La humedad se determinó utilizando el método de secado en estufa. 5 gramos de alimento se colocaron en charolas de aluminio a peso constante y se introdujeron a una estufa a 105°C durante 3 h. Pasado el tiempo, se retiraron las charolas con ayuda de unas pinzas de crisol y se colocaron en un desecador, hasta obtener un peso constante. Se determinó la cantidad de humedad por medio de la ecuación 7:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{p_i - p_f}{m} \times 100 \quad (\text{Ec. 7})$$

Dónde: P_i = peso de la charola con muestra antes del secado (g); P_f = peso de la charola con muestra después del secado (g); m = peso de la muestra fresca (g).

5.3.5.2 Cenizas

La determinación de las cenizas se basó en el método 923.03 de la AOAC (1995). En un crisol de porcelana puesto previamente a peso constante se colocaron 3 g de alimento, el crisol con la muestra se colocó en una parrilla a 300°C hasta su incineración total, después se llevó a una mufla a 550°C durante 6 h hasta que las cenizas presentaron un color homogéneo (blanquecinas) indicando el final del tratamiento. El crisol se situó en un desecador y se pesó. Se utilizó la ecuación 8 para conocer la cantidad de cenizas presentes en la muestra.

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{p_f - p_o}{m} \times 100 \quad (\text{Ec. 8})$$

Dónde: P_f = peso del crisol con la muestra después de incinerada (g); P_o = peso del crisol a peso constante (g); m = peso de la muestra fresca (g).

5.3.5.3 Proteína

La determinación de proteína se realizó con el método de Kjeldahl, 977.14 de la AOAC (1995). Inicialmente se realizó una digestión, para ello, se colocaron 70 mg de la muestra previamente deshidratada, una tableta digestiva Kjelcat™ Cu (5 g K₂SO₄+0.5 g CuSO₄ x H₂O) y 10 mL de ácido sulfúrico en un tubo Kjeldahl. El tubo se colocó en un digestor hasta la finalización de la digestión, que fue cuando la solución presentó un color azul verdoso. Para correr el blanco, se pesó sacarosa en sustitución de la muestra.

La muestra digerida, se sometió a destilación, en un destilador automático que adicionó 10 mL de NaOH al 50% en un tiempo de 6 min. El destilado se recolectó en un matraz que contenía 50 mL de solución indicadora preparada con 5 g de ácido bórico, 35 mL solución A y 10 mL solución B aforada a 1 L [Solución A (50 mg de fenolftaleína aforada a 50 mL con etanol), solución B (33 mg de verde de bromocresol y 66 mg de rojo de metilo aforados a 100 mL en etanol)], posteriormente se realizó una valoración con HCl 0.01 N. El contenido de proteína se calculó con las ecuaciones 9 y 10.

$$\% \text{Nitrógeno} = \frac{(P-B) \times N \times meq \times 100}{m} \quad (\text{Ec. 9})$$

$$\% \text{ Proteína} = \% N \times F \quad (\text{Ec. 10})$$

Dónde: *P*= volumen gastado en la valoración de la muestra (mL); *B*= volumen gastado en la valoración del blanco (mL); *N*= normalidad del HCl; *meq*= miliequivalentes de nitrógeno (0.014); *m*= peso de la muestra (g); *F*= factor de conversión (6.25).

5.3.5.4 Grasa total

La determinación de grasa se basó en el método Soxhlet 920.29 de la AOAC (1995). Se introdujeron en un dedal de celulosa, 5 g de alimento triturado finamente y libre de humedad. Éste se colocó en un matraz balón (previamente puesto a peso constante), se adicionaron 150 mL de éter de petróleo. El matraz se montó en la

parrilla del equipo Soxhlet. Se realizaron de 6 a 7 ciclos de lavado con un tiempo total aproximado de 4 h. Pasado el tiempo, el matraz se retiró con cuidado del equipo. Se evaporó el solvente en un rotavapor a una temperatura de 65°C. Posteriormente, se retiró el matraz del rotavapor y se introdujo en una estufa a 60°C para eliminar parte del solvente y agua. Enseguida, se colocó en un desecador hasta obtener un peso constante, se pesó el matraz y se calculó el contenido de grasa con la ecuación 11.

$$\% \text{ Grasa cruda} = \frac{p_f - p_o}{m} \times 100 \quad (\text{Ec. 11})$$

Dónde: P_f =peso constante del matraz con el extracto etéreo (g); P_o =peso constante del matraz antes de la determinación (g); m = peso de la muestra fresca referido al peso original (g).

5.3.5.5. Fibra cruda

La determinación de fibra se basó en el método 923.03 de la AOAC (1995). En un vaso Berzelius de 600 mL se colocaron 2 g de muestra. Se le adicionaron 200 mL de una solución de H₂SO₄ al 1.25%, perlas de ebullición, tween 20 y tela de lino (utilizada para filtrar). Se colocó el vaso en el digestor durante 30 min, se agitó ligeramente cada vez que la espuma provocaba que la materia orgánica se pegara en las orillas. Una vez transcurrido el tiempo, se retiró el vaso y se filtró en un embudo Buchner, con la tela previamente digestada. El vaso se lavó con una porción y el filtrado con tres de 50 mL de agua caliente.

Posteriormente, se recuperó todo el material contenido en el embudo Buchner y se colocó de nuevo en el vaso Berzelius. Se adicionaron 200 mL de solución caliente de NaOH al 1.25% y perlas de ebullición, y se colocó en el equipo de digestión por 30 min. Una vez finalizado el tiempo se removió el vaso Berzelius y se procedió a realizar la filtración utilizando la misma tela. Se lavó el filtrado con 25 mL de solución de H₂SO₄ al 1.25% caliente, después con 3 porciones de 50 mL de agua y finalmente con 25 mL de etanol al 95%.

Se pasó la tela de lino con la muestra que quedó en el embudo Buchner a un crisol a peso constante. El crisol se colocó en una estufa Felisa® a 105°C durante una hora y después se llevó a peso constante. El crisol se dejó en una parrilla de calentamiento a 250°C, hasta que ya no hubiera desprendimiento de humo, a continuación, se colocó en una mufla Thermo SCIENTIFIC® a 550 °C por 24 h hasta que se obtuvo un color homogéneo en las cenizas y el crisol se llevó a peso constante. El porcentaje de fibra se calculó mediante la ecuación 9.

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{p_1 - p_2}{m} \times 100 \quad (\text{Ec. 12})$$

Dónde: P₁= peso del crisol antes de la incineración (g); P₂= peso del crisol después de la incineración (g); m= peso inicial de la muestra (g).

5.3.5.6 Minerales

La preparación de muestra y cuantificación de minerales se realizó como se describe en el apartado 5.2.5, sólo que se pesaron 500 mg de alimento.

5.3.5.7 Ácidos grasos

Para la identificación y cuantificación de ácidos grasos, se colocaron 5 g de alimento y 10 mL de solución cloroformo: metanol (2:1 v/v) en un tubo de ensayo con tapón de rosca y se aplicó el procedimiento descrito en el apartado 5.2.6.2.

5.4 ANÁLISIS DEL HUEVO (ETAPA 3)

La tercera etapa se llevó a cabo en los laboratorios de Fisicoquímica de Alimentos 1, Biotecnología de Alimentos 1 y Análisis Sensorial, y del edificio de Química de Alimentos del Área Académica de Química pertenecientes a la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y consistió en el análisis de los huevos de los grupos control y experimentales.



Figura 6. Metodología experimental para el análisis del huevo (etapa 3).

5.4.1 Caracterización química

5.4.1.1. Análisis proximal

El análisis proximal se realizó de la misma forma que para las muestras del alimento, sólo se variaron las cantidades de muestra analizadas (15 g para humedad y 3 g para cenizas), para cenizas y proteína se partió de las muestras deshidratadas, y en el caso de grasa, se tomaron 5 g de muestra líquida que se mezcló con arena para incrementar el contenido de sólidos.

5.4.1.2 Colesterol

El colesterol se determinó en la yema de huevo por el método de Liebermann-Burchard (Liebermann, 1885 & Burchard, 1885). Se realizó una curva de calibración a partir de una solución madre de 1000 mg L⁻¹. Se prepararon estándares de colesterol en el intervalo de 0-100 mg L⁻¹ en matraces de 10 mL. Se agregaron a cada matraz 400 µL de anhídrido acético y se agitaron durante 30 s, posteriormente se adicionaron 50 µL de H₂SO₄ concentrado y se agitó durante 1 min. Se dejó reposar durante 5 min y se aforó con cloroformo. Se determinó la absorbancia a 640 nm en un espectrofotómetro UV-vis, antes de que trascurrieran 20 min, ya que el producto de reacción es muy inestable.

Para la muestra, se pesaron 5 g de yema y se colocaron en un tubo de ensaye con tapón de rosca, se le adicionaron 10 mL de la solución cloroformo: metanol (2:1 v/v) y se homogeneizó en un vórtex ® durante 20 min. Pasado el tiempo se filtró.

Al filtrado, se le adicionaron 5 mL de KCl 1 mol L⁻¹ y se agitó nuevamente en el vórtex durante 5 min. Se dejó reposar y se extrajo la fase orgánica (extracto lipídico). Se tomaron 850 µL y se transfirieron a matraces volumétricos de 10 mL, posteriormente, se realizó el mismo tratamiento que a los estándares.

La cuantificación de colesterol se realizó interpolando en la recta de calibración.

5.4.1.3 Minerales

La cuantificación de minerales se realizó como se describe en el apartado 5.2.5, Se partió de 0.5 g de huevo deshidratado y desgrasado.

5.4.1.4 Ácidos grasos

Para la identificación y cuantificación de ácidos grasos, se colocaron 5 g de huevo líquido homogenizado y 10 mL de solución cloroformo: metanol (2:1 v/v) en un tubo de ensayo con tapón de rosca y se aplicó el procedimiento descrito en el apartado 5.2.6.2.

5.4.2 Caracterización física

5.4.2.1 Color

La determinación de color se realizó con ayuda de una cámara profesional Nikon® modelo D5100 (tamaño de imagen medio JPG normal, toma manual en balance en blancos automáticos, con F 1/6. Apertura 8.0 y sensibilidad 500) y una caja blanca con iluminación como describe Retting & Ah-Hen (2014). Las muestras se colocaron en recipientes de color blanco, para que no influyera en el contraste de color, y se siguiera manteniendo el campo blanco en su totalidad.

Las imágenes se analizaron con el programa GIMP versión 2.8 para conocer el color de la muestra. El dato obtenido fue en código HTML que posteriormente se

introdujo en el programa “workwithcolor” (workwithcolor.com and lincensor, 2013) para obtener los valores L* a* b*. La diferencia de color (ΔE) se determinó con la ecuación 14.

$$\Delta E^* = \{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2\}^{0.5} \quad (\text{Ec. 14})$$

5.4.2.2 Peso

Para conocer el peso del huevo, diariamente se recolectó la producción y se pesó individualmente con ayuda de una balanza analítica. Este procedimiento se realizó para cada grupo.

5.4.3 Sensorial

Con la finalidad de determinar si existían diferencias perceptibles significativamente entre los huevos producidos por el grupo control (CF2) y los grupos suplementados (SID y SC) se realizó una prueba triangular. Del mismo modo, se aplicó una prueba hedónica para conocer el nivel de agrado de los huevos producidos por los diferentes grupos bajo estudio. Las pruebas sensoriales se realizaron en las cabinas de la sala de cata del Laboratorio de Análisis Sensorial del Edificio de Química en Alimentos de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y en las instalaciones del Instituto de Ciencias de la Salud de la UAEH.

5.4.3.1 Prueba triangular

Esta prueba se aplicó de acuerdo a la metodología descrita en la norma UNE-87-006-92 (ISO 4120-1983). El panel utilizado para esta prueba se conformó por 15 jueces (9 hombres y 6 mujeres), con edades entre 22 y 33 años, estudiantes de Licenciatura y Doctorado de la UAEH, los cuales habían recibido una formación teórico-práctica sobre el análisis sensorial considerándose como jueces semientrenados (Anzaldúa-Morales, 1994).

La prueba se realizó en una sola sesión con dos ensayos, en un horario entre 10:00 a 15:00 horas. Las muestras correspondían al huevo control y al huevo proveniente de las gallinas con las dietas suplementadas (ingesta directa y encapsulados) y se

probaron en dos presentaciones. La primera presentación fue el huevo revuelto, el cual se preparó por cocción en un sartén caliente (durante aproximadamente 5 min) sin la adición de sal, aceite o condimentos. La segunda presentación fue huevo cocido, el cual se sometió a cocción en agua en ebullición durante 30 min sin adición de sal. Una vez cocido, se procedió a retirar el cascarón y a cortarlo en rodajas de aproximadamente 1 cm de espesor.

Tanto una porción del huevo revuelto (aproximadamente 25-30 g) como una rodaja del huevo cocido se colocaron en recipientes individuales (Figura 7) codificados con cifras de tres números elegidos al azar.



Figura 7. Presentación de muestras para la prueba triangular (izquierda huevo cocido, derecha huevo revuelto).

Se prepararon las series necesarias con las 6 combinaciones posibles de las muestras (AAB, ABB, ABA, BAB, BBA y BAA y AAB', AB'B', AB'A, B'AB', B'B'A y B'AA) donde la muestra A correspondía al control, y la muestra B al huevo obtenido de la suplementación mediante ingesta directa y B' al obtenido mediante la suplementación con cápsulas.

Las series de ambas presentaciones de huevo, se prepararon de manera idéntica para cada juez, se sirvieron bajo las mismas condiciones de temperatura y se repartieron de manera aleatoria a los jueces en las cabinas de la sala de cata del Laboratorio de Análisis Sensorial (Figura 8).

Se les indicó a los jueces que probaran las muestras de izquierda a derecha y que se enjuagaran la boca con agua y galletas integrales entre cada muestra, con el fin de eliminar sabores y residuos previos. Las respuestas se plasmaron en la ficha de cata que se muestra en el Anexo B.



Figura 8. Desarrollo de la prueba triangular en las cabinas de la sala de cata del Laboratorio de Análisis Sensorial.

Para la interpretación de los resultados se eligió un nivel de significación del 5%. Las respuestas correctas obtenidas se sumaron y el resultado se comparó con el número de juicios correctos necesario para establecer diferencia significativa establecida en la tabla para la interpretación de resultados de la prueba triangular (UNE-87-006-92; Watts *et al.*, 1992).

5.4.3.2 Prueba hedónica de nivel de agrado

El panel para esta prueba estuvo conformado por 60 jueces no entrenados con edades de 18 a 33 años (39 mujeres, 21 hombres), estudiantes de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo quienes declararon ser consumidores habituales de huevo en distintas presentaciones.

Se evaluó el nivel de agrado producido por el huevo proveniente del grupo control y los tratamientos en tres presentaciones: huevo crudo, huevo cocido y huevo revuelto. Para la primera presentación, correspondiente al huevo crudo, se rompía una pieza de cada tratamiento y se colocaba en recipientes transparentes para la evaluación del agrado en cuanto a apariencia y color. En la segunda presentación, se proporcionó a los participantes muestras de huevo cocido y en la tercera presentación, huevo revuelto. Las muestras se prepararon y presentaron a los participantes del mismo modo descrito para la prueba triangular en el apartado 5.4.3.1



Figura 9. Presentación de muestras para la prueba de nivel de agrado.

Se prepararon series con muestras de los diferentes tratamientos en 3 presentaciones crudo, cocido y revuelto (Figura 9), los recipientes se encontraban marcados con claves (cifras de 3 números elegidos al azar). Las muestras se sirvieron bajo las mismas condiciones de temperatura y las series se repartieron de manera aleatoria a los participantes a quienes se les proporcionó agua y galletas integrales (Habaneras®) para realizarse enjuagues con la finalidad de eliminar sabores y residuos de la muestra anterior. Las respuestas se plasmaron en la ficha de cata que se muestra en el Anexo C.

Para el análisis de resultados de esta prueba, a cada punto de la escala se le asignó un valor del 1 al 7 donde 1 representaba “me disgusta mucho” y el 7 “me gusta mucho”. Los puntajes numéricos para cada muestra se tabularon y analizaron utilizando un análisis de varianza (ANOVA), para determinar si existían diferencias significativas en el promedio de los puntajes asignados a las muestras.

5.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los resultados obtenidos (excepto las pruebas sensoriales) se llevó a cabo a través de la prueba de Tukey utilizando el programa SPSS, versión 15.0.



6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LAS CÁPSULAS (ETAPA 1)

6.1.1 Selección de la matriz encapsulante

Para la elaboración de la cápsula de aceite se utilizaron por separado dos matrices encapsulantes (caseína y alginato de sodio) con la finalidad de seleccionar la mejor para encapsular el aceite de pescado utilizado en el presente estudio.

De acuerdo con los resultados, se decidió trabajar con las cápsulas elaboradas con alginato de sodio como vehículo para suplementar el aceite de pescado en las dietas de gallinas ponedoras, ya que presentaron mejores atributos en general.

Así, cuando se adicionó el alginato en agua fría, éste se solubilizó totalmente y la pasta que se formó fue fácilmente manipulable por lo que se obtuvieron cápsulas esféricas y rígidas, sin problemas de sinéresis durante el almacenamiento a temperatura ambiente (Figura 10).



Figura 10. Cápsulas de alginato de sodio y aceite de pescado.

Otro aspecto importante fue, que cuando se sometieron a diferentes pH en tubos de ensaye (para determinar la estabilidad en el pH del tracto gastrointestinal de la gallina). Las cápsulas de alginato mostraron gran estabilidad a pH neutro y muy ácido (1), en tanto que en el intervalo de pH de 2-4 presentaron una lenta fragmentación de su estructura esférica (Figura 11) lo que fue muy relevante ya que, coincide con el pH (3) del estómago del ave que es el sitio en el que el aceite tenía que ser liberado de la cápsula (FAO, 1995).



Figura 11. Cápsulas de alginato de sodio y aceite de pescado a diferente pH. Incremento de pH de izquierda a derecha

Por otro lado, aun cuando las cápsulas de caseína también mostraron gran solubilidad en los diferentes pH (Figura 12) en los que se probaron, sobre todo a pH entre 2 y 3 (valor del pH del estómago de las aves) éstas no fueron consideradas aptas para la suplementación del aceite a las aves.

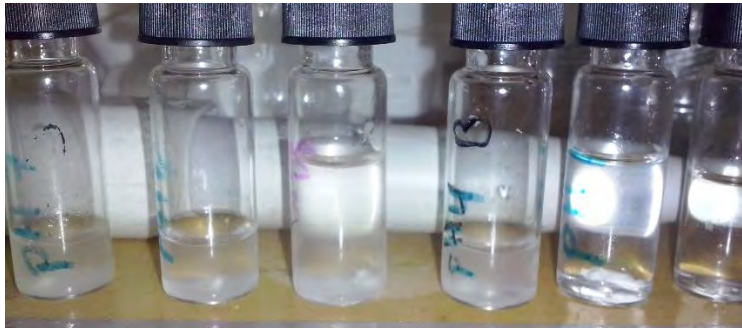


Figura 12. Cápsulas de caseína y aceite de pescado a diferente pH. Incremento de pH de izquierda a derecha (intervalo de 2 a 7).

Lo anterior, debido a que en la elaboración, al momento que se añadió la caseína en agua fría ésta no se disolvió por lo que se sometió a calentamiento a 80°C durante 10 min, lo que pudo afectar la estabilidad de los ácidos grasos. Posteriormente, cuando la mezcla se enfrió se solidificó rápidamente lo que impidió un manejo adecuado para la elaboración de las cápsulas (Figura 13).



Figura 13. Cápsulas de caseína y aceite de pescado.

Además, a diferencia de las cápsulas elaboradas con alginato, las de caseína sí presentaron severos problemas de sinéresis después de 1-3 min de almacenamiento a temperatura ambiente (Figura 14) lo que impidió su conservación.



Figura 14. Problemas de sinéresis en cápsulas de caseína y aceite de pescado.

López (2010) considera que las matrices encapsulantes se pueden utilizar solas o combinadas para encapsular aceite de pescado, aceite de hígado de tiburón, aceite de hígado de bacalao o sustancias oleosas. Por su parte, Lopez *et al.* (2015) indican que estas encapsulaciones se han hecho para enmascarar olores, sabores y proteger ácidos grasos importantes (ALA, EPA y DHA) en el desarrollo de alimentos funcionales.

6.2 CARACTERIZACIÓN DE LAS CÁPSULAS DE ALGINATO DE SODIO

La caracterización únicamente se realizó a las cápsulas deshidratadas de alginato de sodio que fueron las consideradas aptas para la suplementación del aceite de pescado a las gallinas (Figura 15).



Figura 15. Cápsulas de alginato de sodio y aceite de pescado deshidratadas.

6.2.1 Morfología

La microscopía óptica mostró que las cápsulas hidratadas tenían una forma irregular (Figura 16) con una apariencia lisa y homogénea debido a la gran cantidad de aceite contenida en su interior (Hernández, 2015).



Figura 16. Cápsulas de alginato al 0.3% hidratada (x10).

Posteriormente, mediante microscopía electrónica de barrido se observó la forma irregular de las cápsulas, así como el tamaño de éstas. Las cápsulas hidratadas presentaron una forma irregular con ligeros gránulos en la superficie (Figura 17a) y un diámetro de 1.655 mm. En tanto que, la deshidratada fue más pequeña (1.337 mm) con forma irregular pero con superficie lisa (Figura 17b). Esto último, pudo estar asociado a que durante la deshidratación la glucosa se unió de manera más homogénea a los demás constituyentes. La morfología de las cápsulas ha sido estudiada en trabajos previos, en los que consideran que mientras más viscosa sea la solución para la elaboración de las cápsulas, éstas se formarán con un aspecto deforme y superficie irregular (Fundueanu *et al.* 1999).

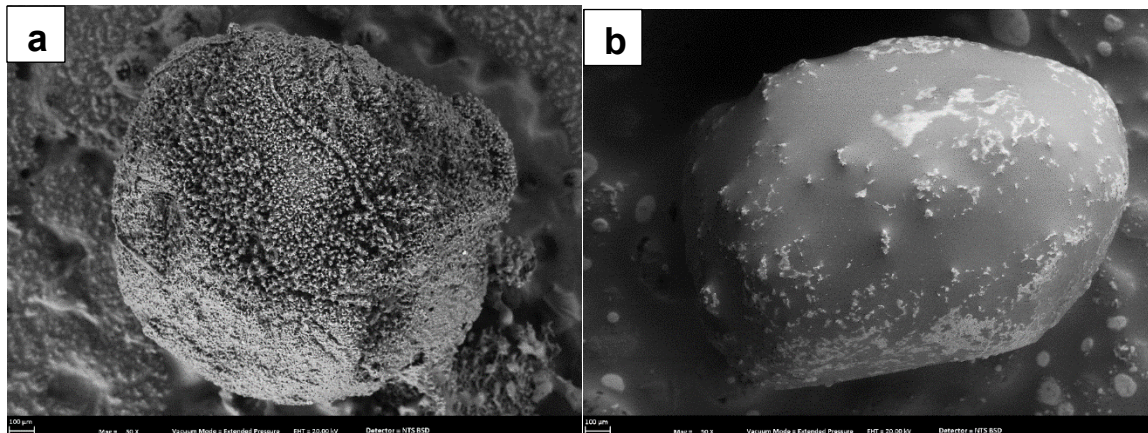


Figura 17. Micrografías de cápsula de alginato al 0.3% hidratada (a) y deshidratada (b) (x50).

6.2.2 Glucosa

Para elaborar las cápsulas, el 33% de los constituyentes adicionados fue de glucosa. Los resultados, mostraron un contenido de 30.65 ± 0.31 g de glucosa por cada 100 g de cápsulas, lo que indica que se logró incorporar casi el 100% de ésta. Lo anterior, es de gran importancia ya que la glucosa ayuda a mejorar la fuerza de los geles de alginato al formar un mayor número de enlaces entrecruzados y disminuir con ello el tamaño de los poros (Avendaño *et al.* 2013), lo que en el presente estudio permitió evitar la pérdida de aceite de pescado durante el almacenamiento.

6.2.3 Grasa

Para establecer la cantidad de encapsulados necesarios para cubrir la dosis de aceite de pescado a suministrar a las gallinas se realizó la determinación del contenido de grasa. De acuerdo a los resultados, cada cápsula contenía $71.29 \pm 0.23\%$ de aceite. Posteriormente, con el porcentaje de liberación en cada etapa del tracto digestivo del ave (prueba *in vitro*, apartado 6.2.5.1) se ajustó la cantidad exacta de cápsulas a suministrar para lograr cubrir lo equivalente a 0.3 g de aceite por ave.

6.2.4 Calcio

Los resultados mostraron un contenido de 496.03 ± 4.07 mg de Ca/100g de cápsulas, asociado esto al CaCl_2 incorporado en la elaboración de los encapsulados. Esta cantidad es adicional a lo incorporado en el alimento. Este es un aspecto muy importante, ya que, el calcio juega un papel relevante en la dieta de gallinas ponedoras y en la dureza del cascarón del huevo.

6.2.5 Digestión *in vitro*

6.2.5.1 Grasa

En la simulación del tracto digestivo de la gallina, la cantidad de grasa liberada de la cápsula en cada etapa del tracto gastrointestinal fue la siguiente: en el buche $56.71 \pm 1.28\%$, en el estómago $5.15 \pm 0.77\%$ y finalmente en el intestino $38.14 \pm 1.41\%$ lo que coincide con lo reportado por Baños (2018).

Considerando que lo que queda en el intestino del ave (que en el caso de la digestión *in vitro* completa (sin filtración) era simulada por una bolsa de diálisis) es lo que se desecha por la heces fecales del ave y que en el presente estudio fue de 43.24%. Por diferencia se calculó que el $56.76 \pm 1.67\%$ del aceite fue lo que se asimiló y pasó a torrente sanguíneo para ser aprovechado.

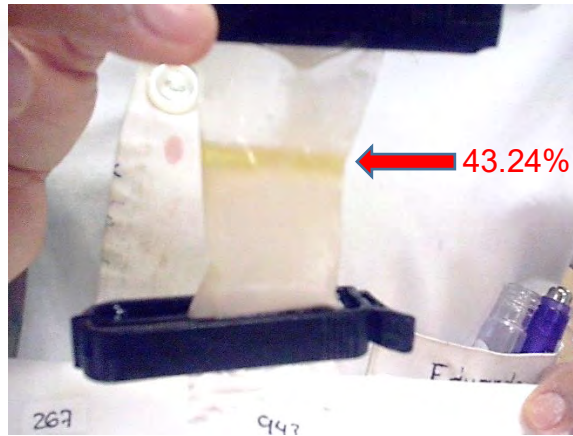


Figura 18. Liberación final de aceite de pescado de la digestión in vitro

Con estos datos y con los del contenido de grasa en las cápsulas se estableció que con 1 g de encapsulados se lograba suministrar 0.3 g de aceite por ave por día.

6.2.5.2 Perfil de ácidos grasos

En las Figuras 19 y 20 se observa que el perfil de ácidos grasos de los aceites de hígado de bacalao y salmón es muy similar. Es importante resaltar en ambos la presencia de EPA y DHA, que son los ácidos grasos que se pretenden incorporar en los productos obtenidos de las gallinas ponedoras.

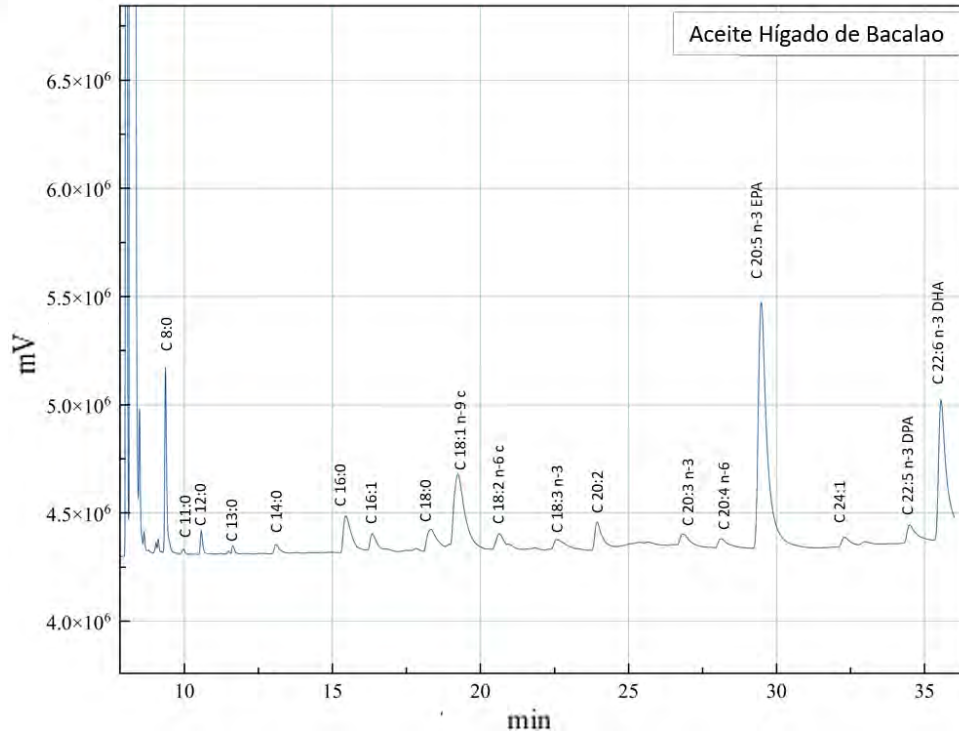


Figura 19. Cromatograma de aceite de hígado de bacalao.

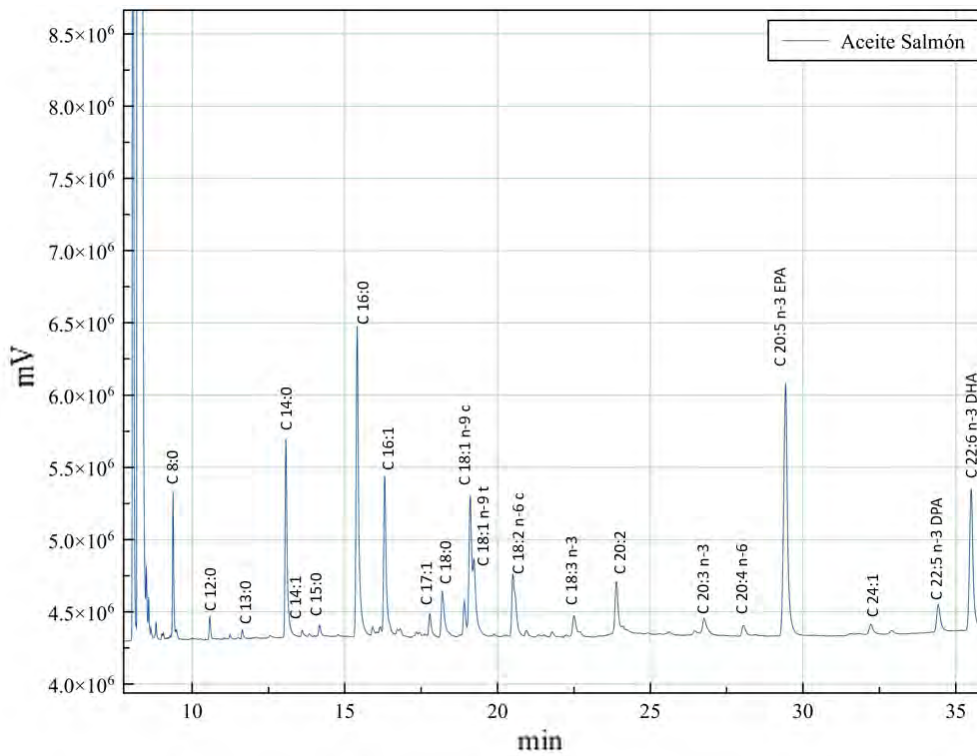


Figura 20. Cromatograma de aceite de salmón.

Badui (2006) menciona que la relación de ácidos grasos en los aceites vegetales es realmente sencilla, esto debido a que el aceite de canola contienen solo siete picos equivalentes a siete ácidos grasos, mientras que en el cromatograma de aceite de pescado se observan por lo menos 25 picos correspondientes a ácidos grasos, y que son muy diferentes a los encontrados en los animales terrestres, con cadenas que van de 12 a 26 C, aun cuando la mayoría son de 16 a 20. Lo anterior coincide con el perfil de ácidos grasos de los diferentes aceites (bacalao y salmón) utilizados en la experimentación (Figuras 24 y 25), en los cuales resalta la presencia de EPA y DHA.

En la Tabla 3 se indican las concentraciones de los ácidos grasos presentes mayoritariamente en los diferentes aceites analizados y de las distintas etapas de la simulación del tracto gastrointestinal de las aves. Se observó que el contenido de ácidos grasos saturados y monoinsaturados es ligeramente superior en el aceite de salmón respecto al del aceite de hígado de bacalao. Pero, que éste último contiene el doble de ácidos grasos poliinsaturados, principalmente de EPA y DHA.

Lo anterior, es muy importante, ya que se trata de los ácidos grasos que se pretendían incorporar en los productos obtenidos de las aves. En ambos aceites la presencia de EPA y DHA es muy superior a lo reportado por Carrillo *et al.* (2012) y por Castro *et al.* (2013) para el pescado *Symphurus elongatus*.

En lo que respecta a la identificación del perfil de ácidos grasos en las diferentes etapas de la digestión *in vitro* realizada únicamente con cápsulas de aceite de hígado de bacalao, los resultados ponen de manifiesto que en el buche y en el estómago se da la liberación de la mayoría de los ácidos grasos y principalmente de EPA y DHA (Tabla 3). Esto es muy importante porque ello permitirá el trasvase a torrente sanguíneo para su posterior incorporación en el huevo. De hecho, se ha reportado que la digestión de los lípidos es ayudada por las lipasas, las cuales desdoblan los lípidos en glicerol y ácidos grasos, para que así en el intestino delgado, las sales biliares segregadas por el hígado entren en contacto con los

productos de la digestión de lípidos y el jugo pancreático (FAO, 1995; Quishpe, 2006).

Tabla 3. Ácidos grasos de los aceites y de la digestión *in vitro* (mg/100g).

Ácido graso	Hígado bacalao	Salmón	Buche	Estómago	Intestino
C16:0	1397.57	5388.43	299.00	175.00	10.51
C18:0	856.28	796.05	482.00	226.70	
Total AGS	24471.49	30441.09	4791.16	2532.28	600.08
C16:1		2867.44	ND	ND	
C18:1 n-9	1327.48	1798.34	ND	ND	12.63
Total AGMI	7722.13	9715.40	332.64	184.99	13.80
C18:2 n-6	3053.43	895.01	ND	ND	ND
C18:3 n-3	217.16	575.25	ND	ND	ND
C20:4 n-6	336.67	262.63	ND	ND	ND
C20: 5 n-3 EPA	36462.98	19897.70	435.84	236.60	ND
C22:5 n-3 DPA	361.39	468.0	-	-	-
C22:6 n-3 DHA	25172.96	12790.5	40606.42	20893.61	ND
Total AGPI	77123.22	39029.20	8448.60	41116.91	21166.45
Total	109316.84	79185.69	31265.98	46240.71	23883.72

Los valores son la media de tres réplicas con su desviación estándar.

6.3 ALIMENTACIÓN Y SUPLEMENTACIÓN DE LAS AVES (ETAPA 2)

6.3.1 Parámetros evaluados en gallinas ponedoras

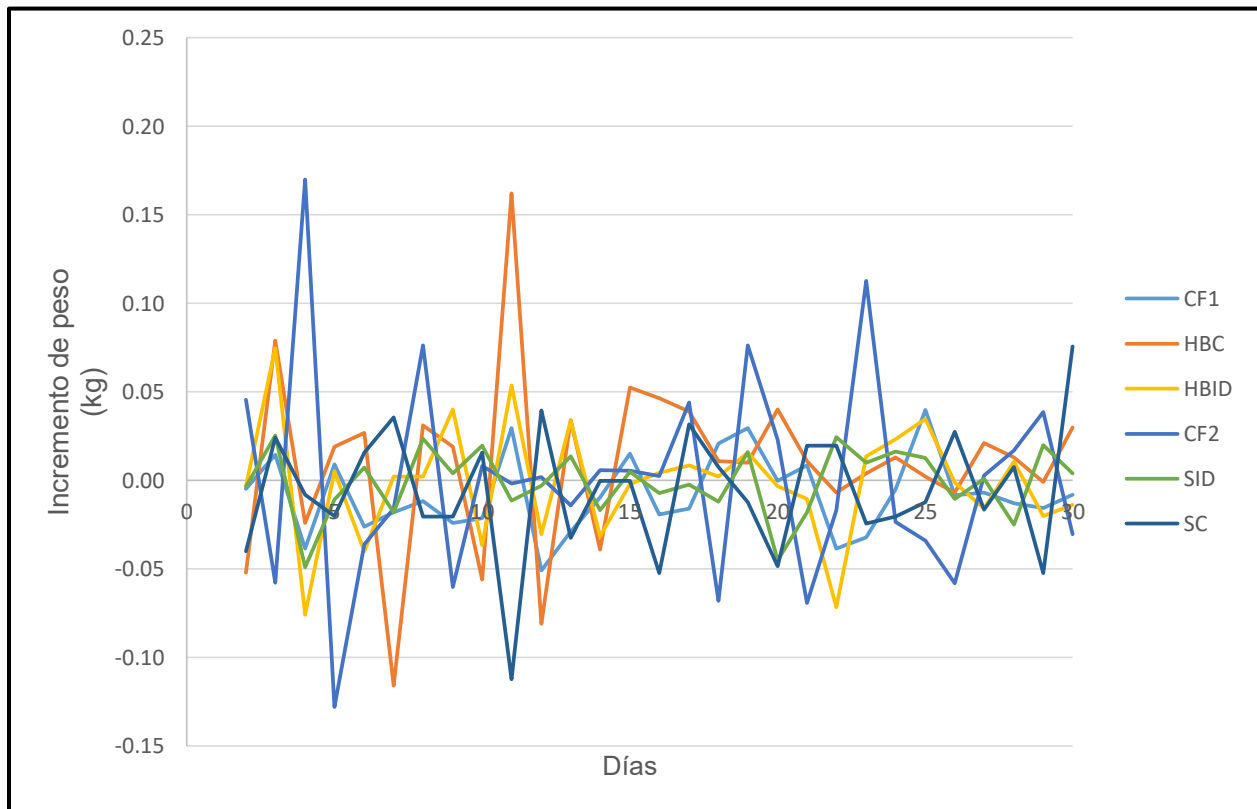
Como ya se comentó previamente, los grupos fueron alimentados con alimento comercial apropiado para cada etapa de desarrollo, agua *ad libitum* y suplementadas con aceite de hígado de bacalao o salmón (cápsulas o ingesta directa) para determinar el efecto de esta última en los diversos parámetros analizados.

6.3.1.1 Ganancia en peso

El incremento en peso de las aves depende mucho de la alimentación y la raza de las gallinas. En este estudio se utilizaron gallinas de la estirpe Plymouth Rock y Rhode Island red que se caracterizan por ser livianas (peso promedio de 1.400 y 2.940 kg, respectivamente) sin mucha ganancia de peso (Torres, 2010). El peso de

las aves al finalizar el estudio fue de 900 g a 1.200 kg siendo similar a los datos de la raza Rhode Island red.

En la Gráfica 1 se observa que todos los grupos mostraron la misma tendencia en la ganancia en peso, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Lo anterior reafirma que en gallinas destinadas a la producción de huevo la ganancia en peso al culminar la etapa de crecimiento y madurez sexual es casi nula (Barroeta, 2002).

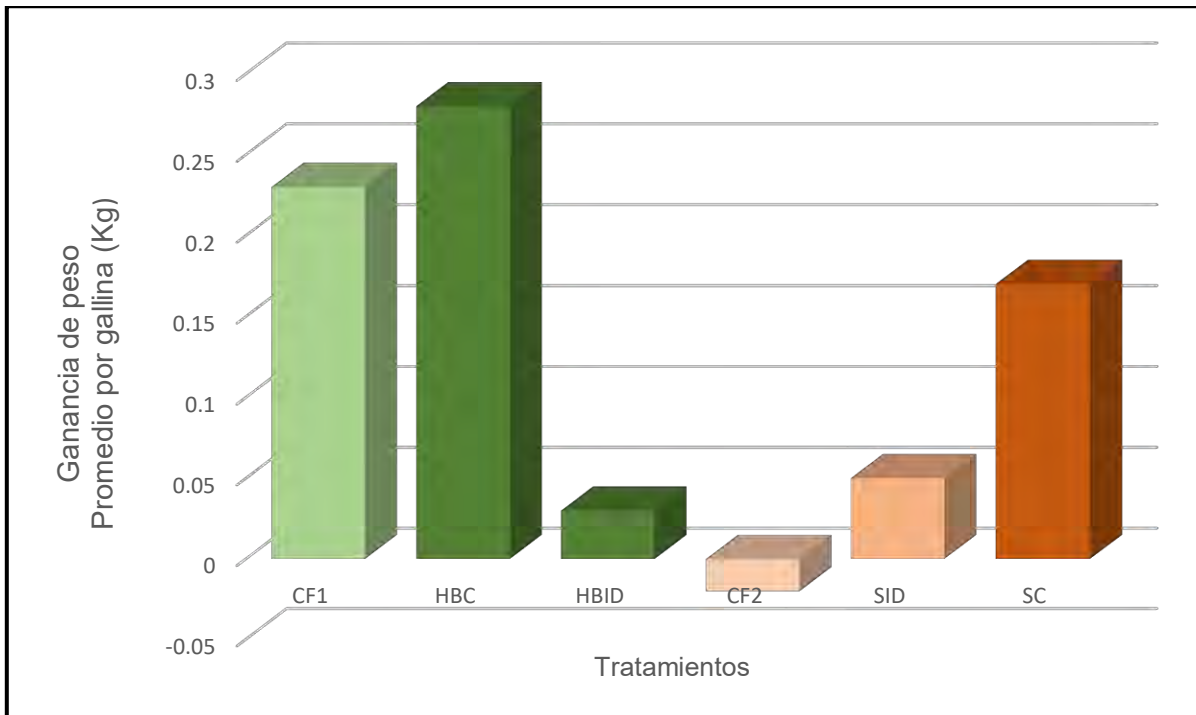


Gráfica 1. Incremento de peso de los diferentes grupos de estudio.

Nota: Control Fase 1 (CF1), aceite de Bacalao en Cápsula (HBC), aceite de Bacalao Ingesta Directa (HBID), Control Fase 2 (CF2), aceite Salmón Ingesta Directa (SID), aceite Salmón Cápsula (SC).

En la Gráfica 2 se observa que en las dos fases de experimentación los grupos suplementados con aceite encapsulado (HBC y SC) tuvieron mayor ganancia de peso al final del tratamiento que sus respectivos controles (CF1 y CF2). Aun cuando en la primera fase el grupo control y el suplementado con aceite de hígado de

bacalao mostraron mayor ganancia en peso que los de la segunda fase, la diferencia entre el control y los suplementados es mayor al emplear aceite de salmón sobre todo cuando se suministra encapsulado. Con estos resultados se puede decir que el encapsulado es una manera eficiente de suplementar aceite de pescado en las dieta de gallinas ponedoras, pero, que la ganancia en peso se potencia cuando el aceite es de salmón.



Gráfica 2. Ganancia de peso de los diferentes grupos de estudio al final del periodo de experimentación.

Nota: Control Fase 1 (CF1), aceite de Bacalao en Cápsula (HBC), aceite de Bacalao Ingesta Directa (HBID), Control Fase 2 (CF2), aceite Salmón Ingesta Directa (SID), aceite Salmón Cápsula (SC).

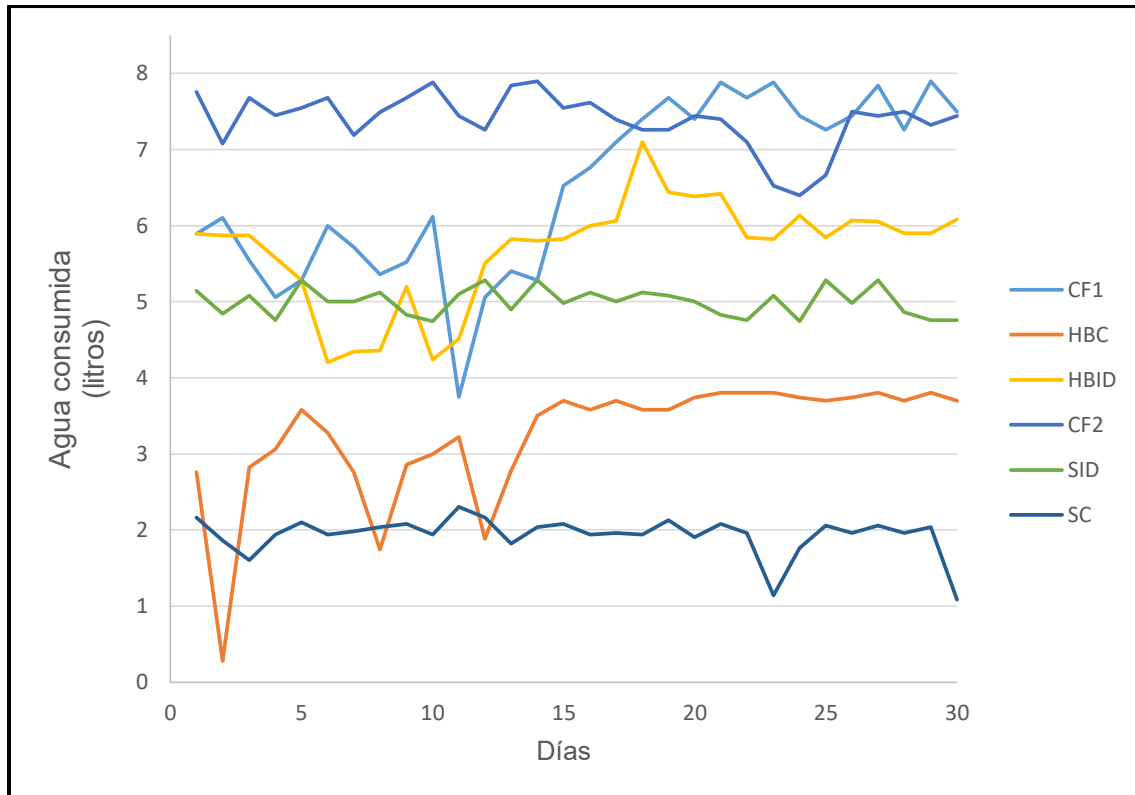
6.3.1.2 Consumo de agua

El agua es uno de los componentes esenciales de la dieta de las aves, ya que las mantiene sanas y productivas, al funcionar en el cuerpo como el disolvente en el cual los nutrientes se transportan y los productos de desecho se excretan (PESA 2007; Quishpe, 2006). Aunque, no se puede determinar fácilmente el valor requerido como sí se hace con los otros componentes. El consumo de agua ha sido reportado previamente, siendo que por cada 10 gallinas el consumo de agua es entre dos a

tres litros (PESA, 2007), esto coincide con lo observado en el presente estudio. En la Gráfica 3 se reporta que los grupos control (CF1 y CF2), que constaban de 29 a 30 aves, consumían alrededor de 7 a 8 litros al día.

De manera general, se observa, que el grupo que recibió suplementación de AHB de forma directa al final del periodo de tratamiento no mostró incremento en el consumo de agua respecto a los valores iniciales. En tanto, que entre el grupo control de la primera fase y el suplementado con AHB encapsulado no hubo diferencias estadísticamente significativas, siendo el incremento de aproximadamente 0.05 y 0.06 L. Para las aves de la segunda fase experimental no se observaron cambios entre el consumo de agua al inicio y al término de la experimentación.

Las variaciones mostradas en la Gráfica 3 pudieron estar asociadas a diferentes factores como el estrés por manejo, al clima o a la adaptación al alimento de la nueva etapa de desarrollo. Al respecto, Quishpe (2006) indica que el consumo de agua también se ve influenciado por el alimento ingerido, ya que, los alimentos desmoronados o peletizados aumentan el consumo de agua, tal como ocurrió en el presente estudio en el que se utilizó alimento en pellets.



Gráfica 3. Consumo de agua de los diferentes grupos de estudio.

Nota: Control Fase 1 (CF1), aceite de Bacalao en Cápsula (HBC), aceite de Bacalao Ingesta Directa (HBID), Control Fase 2 (CF2), aceite Salmón Ingesta Directa (SID), aceite Salmón Cápsula (SC).

6.3.1.3 Consumo de alimento

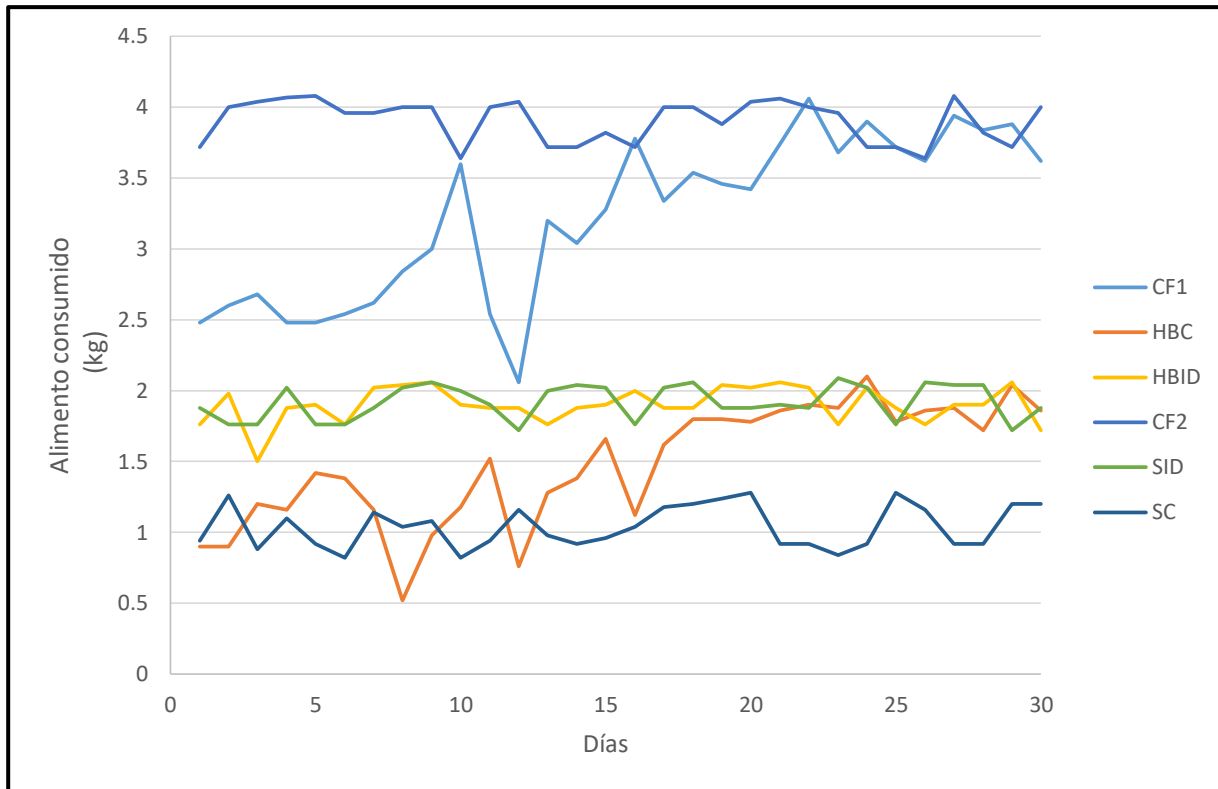
La alimentación en las aves de corral depende del uso que se les pretenda dar, ya sea para crecimiento o producción.

En la Gráfica 4 se muestra el consumo de alimento en los diferentes grupos del experimento. PESA (2007), menciona que cuando el alimento contiene niveles altos de energía, el animal consume menos y se mejora la conversión alimenticia. Como se observa en la gráfica anterior, los grupos CF1 y HBC son los que presentaron mayor consumo de alimento, debido a que aún se encontraban en etapa de crecimiento (19-21 semanas). Al aumentar la edad del ave ésta aumenta su capacidad corporal y con ello el volumen de alimento consumido (Juárez & Ortiz, 2001). También se observa que el alimento consumido al comienzo del experimento por parte de las gallinas suplementadas con aceite de hígado de bacalao (HBC) es

menor, debido quizás al estrés generado por la adaptación a la suplementación. Por otra parte, las gallinas suplementadas (HBID y SID) mantienen una tendencia similar de consumo de alimento, esto debido a que estas gallinas habían alcanzado la madurez total (36 a 40 semanas).

En la Gráfica 4 se observan grandes fluctuaciones en cuanto al alimento consumido en algunos días del experimento. Estas se deben a los diferentes tipos de estrés a que fueron sometidas las aves, desde el manejo para el pesaje, la división individual al comienzo del experimento (HBC) o incluso el estrés ambiental. Este último factor incluye las altas temperaturas a las que el ave se encontraba algunos días. El estrés por calor tiene efectos negativos sobre el consumo de alimento en las aves, ya que factores como tamaño corporal y la tasa de crecimiento, la temperatura ambiental y humedad relativa indicarán qué tanto pueda soportar el ave.

Como se puede observar en la Gráfica 4, el grupo control de la fase 1 (CF1), mostró un decremento en el consumo de alimento lo que pudo estar relacionado a estrés calórico, debido al lugar y condiciones donde se encontraban (Quishpe, 2006). Para evitar nuevamente este factor de estrés se realizaron cambios al corral, suministrándoles más cantidad de agua y mayor flujo de aire (Quishpe, 2006), observando mejores resultados en el grupo CF2 ya que mantuvieron una tendencia semi-lineal.



Gráfica 4. Consumo de alimento de los diferentes grupos de estudio.

Nota: Control Fase 1 (CF1), aceite de Bacalao en Cápsula (HBC), aceite de Bacalao Ingesta Directa (HBID), Control Fase 2 (CF2), aceite Salmón Ingesta Directa (SID), aceite Salmón Cápsula (SC).

6.3.1.4 Producción de huevo

La madurez sexual del grupo control (CF1) inició en la tercera semana, mientras que para las gallinas suplementadas con cápsulas (HBC) comenzó hasta la quinta semana, con lo que entre los experimentos de estos dos grupos se inició el ciclo de postura.

Sastre *et al.* (2002), menciona que las gallinas ponen huevos durante varios días consecutivos, es decir, una serie de 20 a 40 huevos y después de esto 1 o 2 días no producen huevo. El número de huevos de la serie marca la tasa de producción que irá disminuyendo con la edad, pero como se observa en la Tabla 4 la producción en el presente estudio, fue aumentado debido a que se trabajó con aves jóvenes (se inició con 19 semanas y culminó con 40 semanas de edad).

Otro aspecto que se observa en la Tabla 4, es que la dieta suministrada tiene una fuerte influencia en los parámetros productivos de las aves, ya que los grupos HBC, HBID, SID y SC produjeron una mayor cantidad de huevos con respecto a sus respectivos controles. Lo anterior debido a que los ácidos grasos omega-3 influyen en la síntesis de hormonas y para la producción de huevo existen dos hormonas de suma importancia. En este sentido, Sastre *et al.* (2002) indican que la ovulación de las gallinas comienza con dos fenómenos, uno de ellos es cuando el folículo más grande madura y es capaz de producir progesterona y el otro es la posterior liberación de la hormona luteinizante desde el cerebro (esto sólo ocurre en un margen de 6 a 8 h al día y siempre después de iniciarse el periodo de oscuridad).

Entre estas hormonas existe un mecanismo de retroalimentación positiva, que continua hasta la fase preovulatoria creando así la ruptura del folículo. Esto genera la liberación de la yema desde el ovario para que en las próximas 24 horas se genere la postura del huevo formado. La siguiente ovulación comienza 30 minutos después de haber puesto el huevo.

Tabla 4. Cantidad de huevos producidos de los diferentes tratamientos.		
Tratamiento	# de huevos	Huevos por ave
CF1	124	4.13
HBC	115	5.75
HBID	364	19.15
CF2	673	23.20
SID	388	25.86
SC	138	27.6

Nota: Control Fase 1 (CF1), aceite de Bacalao en Cápsula (HBC), aceite de Bacalao Ingesta Directa (HBID), Control Fase 2 (CF2), aceite Salmón Ingesta Directa (SID), aceite Salmón Cápsula (SC).

6.4 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DEL ALIMENTO

6.4.1 Análisis proximal

Para las aves, se considera un alimento de calidad cuando incluye granos de maíz y sorgo, pastas de soya, suplementos vitamínicos, minerales, antibióticos y desparasitantes (PESA, 2007). Por lo anterior, se utilizó “posturina” de la marca Purina ® que es el recomendado como alimento para aves de corral en etapa de producción de huevos.

En la Tabla 5 se observa que la composición del alimento analizado cumple con lo reportado en la etiqueta y con los requerimientos de energía y proteína vitales para el desarrollo normal del ave. Se ha reportado que durante la etapa productiva de las gallinas el pienso debe suministrar de un 16 a 18% de proteína cruda (PESA, 2007).

Tabla 5. Composición química del alimento para aves		
Nutriente	Etiqueta	Análisis
Humedad	12% max	12.13 ± 0.56
Cenizas	15% max	14.87 ± 0.32
Proteína	13.5% min	16.34 ± 0.76
Grasa	1% min	2.74 ± 0.03
Fibra cruda	10% max	9.32 ± 0.54
Carbohidratos	-	44.6%

Los valores son la media de tres réplicas con su desviación estándar.

De acuerdo con Ravindran (2012), las principales fuentes de energía en los piensos son los granos o salvado de cereales, tal como maíz, sorgo, arroz, trigo o cebada pero, se debe tener precaución con la gran cantidad de fibra. En la etiqueta del alimento utilizado, se reporta que las fuentes de energía son el aceite vegetal o lecitina de soya y grasa bovina.

En tanto que, para la proteína, las mejores fuentes son las de origen animal como huesos, sangre o la harina de pescado (PESA, 2007), menciona que, en la etiqueta

del alimento utilizado se indica que los ingredientes son harina de carne de cerdo y harina de sangre mixta de origen bovino y porcino.

6.4.2 Minerales

Como se observa en la Tabla 6 el contenido de Ca reportado en la etiqueta (3.50%), es ligeramente inferior al determinado en el laboratorio (4.30%) pero, cumple con lo reportado en la literatura para evitar problemas en el cascarón y en la salud del animal. Mateos *et al.* (2015) explican que es importante que el alimento cumpla con niveles altos de calcio ya que en las aves de postura es uno de los minerales con mayor importancia en el pienso debido a que valores inferiores al 3.7% son inadecuados si se suministran por periodos prolongados una vez iniciada la etapa de postura, porque las aves pueden sufrir una descalcificación a temprana edad perjudicando el cascarón en la etapa final. Pero, el problema no sólo se observa en el huevo sino también en el ave, ya que al no tener los requerimientos necesario de Ca en el pienso, éste se comenzará a tomar del hueso medular.

Tabla 6. Minerales presentes en el alimento para aves.		
Mineral	Etiqueta	Análisis
Calcio	3.50% min	4.30 % ± 0.27
Fósforo	0.50% min	0.40 % ± 0.05

Los valores son la media de tres réplicas con su desviación estándar.

El fósforo (P) es otro mineral de importancia y que se analizó en el pienso (Tabla 6), ya que un consumo excesivo de dicho mineral podría perjudicar la calidad de la cáscara en las aves viejas (Mateos *et al.*, 2015), y el suministro de este mineral debe ser del 0.4% (PESA, 2007).

6.4.3 Perfil de ácidos grasos

Otro aspecto de suma importancia para este estudio fue la composición lipídica del alimento (Figura 21), ya que se observó que el alimento suministrado no contenía el EPA y el DHA, pero sí es rico en ácidos grasos como C16:0, C18:1 (n-9c) y C18:2 (n-6c). Por lo que, de encontrarse el EPA y DHA en los huevos obtenidos de las gallinas suplementadas debería ser por su presencia en los aceites utilizados.

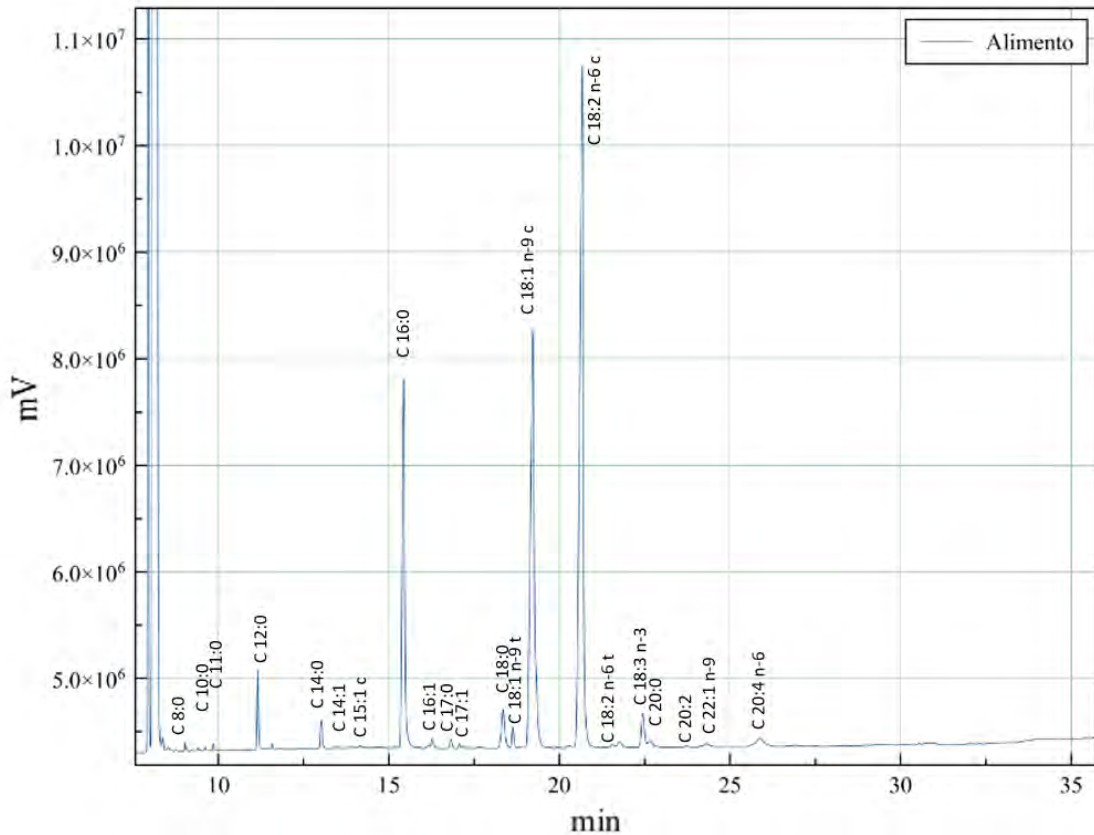


Figura 21. Cromatograma del alimento para aves de postura.

6.5 ANÁLISIS DEL HUEVO (ETAPA 3)

6.5.1 Caracterización química

6.5.1.1 Humedad

El principal componente del huevo es el agua (Grobas & Mateos, 1996; Congreso de Avicultura, 2008), en la literatura se reporta que el huevo entero contiene un aproximado de 65-75% de agua, la clara un 50-88% y la yema un 25-48%. Se puede observar que el huevo sin ningún tratamiento de aceite presentó menor cantidad de humedad, mientras que el huevo obtenido de gallinas suplementadas con aceite de hígado de bacalao ingesta directa tuvo los valores más altos durante las dos etapas del estudio (Tabla 7). Estos datos son similares a los obtenidos en estudios con gallinas de postura, pero no con gallinas criollas, ya que estas últimas presentaron valores de humedad entre 69 y 72% (Ramírez, 2011; Baños, 2011). Esto indica que la raza de la gallina afecta al valor del producto.

Tabla 7. Contenido de humedad en huevo de gallina ponedora.

Grupo	Bacalao		Salmón	
	Cápsulas	Ingesta directa	Cápsulas	Ingesta directa
Suplementado	75.33 ± 0.56 ^a	77.28 ± 0.16 ^d	76.62 ± 0.03 ^c	76.24 ± 0.19 ^{b,c}
Control	76.28 ± 0.14 ^{b,c}		76.04 ± 0.03 ^b	

Los valores son la media de tres réplicas con su desviación estándar. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas a P=0.05.

6.5.1.2 Cenizas

En el huevo el componente minoritario son las cenizas. Los resultados muestran (Tabla 8) que existe un incremento en el contenido de cenizas en el grupo suplementado con aceite de bacalao, y este efecto es más pronunciado cuando se suministra en los encapsulados que de manera directa. Esto puede deberse a que antes de romper posturas a las aves ya se les suministraba las cápsulas en el alimento, aumentando la concentración de minerales (posiblemente Ca) este mineral

fue el que se encontró en la cápsula, indicando esto que la dieta base si influye en la composición del producto final (huevo).

Estos datos son similares a los reportados por Ramírez (2011) y Baños (2011), quienes encontraron que la suplementación de aceite mediante una ingesta directa sólo aporta lípidos, más no minerales, pero si se da un alimento rico en minerales, éste tiende a pasar al huevo (Baños, 2011).

Tabla 8. Contenido de cenizas en huevo de gallina ponedora.				
	Bacalao		Salmón	
Grupo	Cápsulas	Ingesta directa	Cápsulas	Ingesta directa
Suplementado	1.20 ± 0.05 ^c	0.99 ± 0.02 ^b	0.88 ± 0.08 ^a	0.87 ± 0.09 ^a
Control	0.89 ± 0.08 ^a		0.85 ± 0.01 ^a	

Los valores son la media de tres réplicas con su desviación estándar. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas a $P=0.05$.

6.5.1.3 Proteína

En la Tabla 9, se observa que la suplementación con aceite de pescado (hígado de bacalao o salmón) incrementa el contenido de proteína, respecto a sus grupos controles, y que el efecto es mayor cuando ésta se suministra de manera directa (incrementa alrededor del 2%) que mediante encapsulados (incremento de aproximadamente el 1%). Resultados semejantes fueron reportados por Baños (2011) y Ramírez (2011) al suplementar la dieta base de gallinas reproductoras y ponedoras con aceite de hígado de bacalao. Ellos mencionan que el contenido de proteína en huevo y carne de las aves suplementadas es mayor que en sus respectivos controles, aun cuando se utiliza el mismo alimento base. Este incremento en el contenido de proteína puede deberse a que el aceite suministrado a las aves genera una mayor proporción de energía, por lo que la proteína dietética pasa directamente a formar parte de la proteína del huevo y no se utiliza como requerimiento energético (Baños, 2011). Los resultados obtenidos son similares a

los reportados por Martínez y Astiasarán (2005) que indican que el contenido de proteína en el huevo de gallina debe ser de 12.9%.

Tabla 9. Contenido de proteína en huevo de gallina ponedora.

Grupo	Bacalao		Salmón	
	Cápsulas	Ingesta directa	Cápsulas	Ingesta directa
Suplementado	14.95 ± 0.79 ^d	13.20 ± 2.32 ^c	12.07 ± 1.03 ^b	13.30 ± 0.97 ^c
Control	12.16 ± 0.70 ^b		11.28 ± 0.19 ^a	

Los valores son la media de tres réplicas con su desviación estándar. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas a $P=0.05$.

6.5.1.4 Grasa total

Las grasas y los aceites son los principales lípidos que se encuentran en los alimentos, y contribuyen a la textura y, en general, a las propiedades sensoriales y nutricionales (Badui, 2006). En el huevo, la grasa sólo se encuentra en la yema (Instituto de Estudios del Huevo, 2009).

Como se ve en la Tabla 10, en los huevos de todos los grupos suplementados, el contenido de grasa es menor que el de sus respectivos controles. Resultados semejantes (9.88% a 9.81% y 9.57% a 6.54%) fueron reportados por Baños (2011) y Ramírez (2011), al suplementar gallinas reproductoras y ponedoras con aceite de hígado de bacalao. Estos autores, indica que la modificación de la dieta (por inclusión de lípidos) origina cambios en la composición de la grasa en el huevo. Al respecto, Grobas & Mateos (1996) explican que la estirpe, el manejo y la alimentación influyen en la intensidad del efecto. A excepción del control de la fase 2 (CF2), todos los resultados obtenidos en el presente estudio son inferiores a lo reportado por Martínez y Astiasarán (2005) que mencionan que el contenido de grasa en un huevo es del 11.2%, comparando este dato con los resultados de cada grupo, se encuentran por debajo. Estos datos son similares a los reportados por Ramírez (2011) y Baños (2011) lo que podría deberse a que al tener una

alimentación balanceada (alimento comercial) y una fuente extra de grasa que proporciona ácidos grasos esenciales, la síntesis endógena se reprime, lo que ocasiona que se reduzca el nivel de grasa en el huevo.

Tabla 10. Contenido de grasa en huevo de gallina ponedora.

Grupo	Bacalao		Salmón	
	Cápsulas	Ingesta directa	Cápsulas	Ingesta directa
Suplementado	8.50 ± 0.5 ^a	8.50 ± 1.0 ^a	8.65 ± 0.40 ^{a,b}	10.42 ± 0.12 ^c
Control	9.44 ± 0.61 ^b		12.61 ± 0.17 ^d	

Los valores son la media de tres réplicas con su desviación estándar. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas a $P=0.05$.

Es importante mencionar que la grasa del huevo se encuentra en la yema y está constituida aproximadamente por un 66% de triacilglicéridos, 5% de colesterol y 28% de fosfoglicéridos (o fosfolípidos). Estos últimos están constituidos por 73% de fosfatidilcolina (lecitina), 15% de fosfatidiletanolamina (cefalina), 6% de lisofosfatidilcolina, 2.5% de esfingomielina, 2% de lisofosfatidiletanolamina y 1% de plasmalógeno componentes muy importantes para el desarrollo de diferentes procesos bioquímicos en los humanos (Badui, 2006).

6.5.1.5 Colesterol

Se realizó una curva de calibración como se muestra en el anexo. Aun cuando, Ferrier *et al.* (1995) mencionan que es complicado cambiar el contenido del colesterol en el huevo modificando solamente la dieta, en la Tabla 11 se puede observar claramente cómo la suplementación del aceite de pescado logró disminuir casi en un 50% el contenido de colesterol en los grupos en los que se incluyó aceite de hígado de bacalao, tanto en su forma directa (HBID) como encapsulado (CHB), y en los suplementados con aceite de salmón encapsulado (CS). Todos los resultados obtenidos del contenido de colesterol (Tabla 11) son inferiores a los reportados en la literatura, que van desde 395-410 mg/100 g (Eslaín, 1999;

Quintana, 1999) o a los 249.09 y 382.01 mg/100g expresados en estudios de Baños (2011) y Ramírez (2011). Esto se puede deber a que los niveles de colesterol varían entre especies y edades de la gallina, ya que las aves jóvenes no poseen las enzimas necesarias en la síntesis, lo cual perjudica el desarrollo del embrión si el huevo está destinado para ello (Whiteside y Fluckinger, 1965).

Tabla 11 . Contenido de colesterol en mg/100 g de huevo de gallina ponedora.

Grupo	Bacalao		Salmón	
	Cápsulas	Ingesta directa	Cápsulas	Ingesta directa
Suplementado	120.91 ± 3.16 ^a	137.24 ± 4.03 ^b	248.81 ± 4.71 ^e	130.4 ± 4.88 ^b
Control	201.21 ± 3.4 ^d		252.96 ± 5.41 ^e	

Los valores son la media de tres réplicas con su desviación estándar. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas a $P=0.05$.

6.5.1.6 Minerales

El huevo aporta cantidades significativas de minerales (fósforo, selenio, hierro, yodo y cinc) que contribuyen a cubrir gran parte de las necesidades diarias de nutrientes (Instituto de Estudios del Huevo, 2009). Estos nutrientes se ven afectados por el pienso del ave, ya que se pueden utilizar piensos de alta calidad o modificarlos para incrementar el contenido de algunos minerales en el huevo (Gil, 2010). La mayoría de los minerales encontrados en el huevo se encuentran por encima de lo reportado en la literatura (Tabla 12), excepto selenio y manganeso. Sin embargo, no se observó una influencia marcada por el efecto de la suplementación. Así en los grupos en que se suministró aceite de hígado de bacalao (HBID, HBC) el contenido de los diversos minerales analizados fue igual o ligeramente inferior a su control (CF1). En tanto que, en los suplementados con aceite de salmón (SID y SC), el contenido de minerales se incrementó ligeramente en algunos casos como en Ca, Fe y Mg y disminuyó el P, K, Na y Zn. Estos resultados son los esperados, ya que en el aceite no se incluyen minerales que puedan enriquecer la dieta. Gil (2010)

menciona que el contenido de minerales cubren el 10 % de las recomendaciones para el hombre en hierro y cinc, con los resultados obtenidos en el presente estudio en todos los grupos ya sea suplementado o control se cumple con las recomendaciones.

En cuanto al cascarón, se realizó el análisis de minerales, debido a que las personas que consumían el huevo suplementado comentaban que el cascarón era más grueso, más resistente y difícil de romper, esta parte del huevo, tiene un grosor aproximado de 0.35 mm, compuesto por un gran porcentaje de carbonato de calcio (90-94%), el cual se encuentra presente en forma de calcita (forma más estable) que tiene función estructural (Barroeta, 2002). También se encuentran pequeñas cantidades de carbonato de magnesio y fosfato de calcio (Arias *et al.*, 1990).

En la Tabla 13 se observa que, el calcio es el componente mayoritario y la concentración en todos los casos es el doble a lo reportado en la literatura (King' Ori, 2011). Se observa también que la suplementación con aceite de salmón incrementa ligeramente el contenido de calcio en el cascarón, pero la cápsula no influye significativamente en el aporte de calcio.

Tabla 12. Minerales de la parte comestible del huevo (mg/100 g de huevo).

Minerales	Aceite			Bacalao			Literatura (Gil, 2010)
	Control Fase 1	Cápsula	Ingesta directa	Control Fase 2	Cápsula	Ingesta directa	
Ca	43.04 ± 0.51 ^b	35.90 ± 0.44 ^a	41.87 ± 1.53 ^b	48.81 ± 2.48 ^c	52.53 ± 1.15 ^d	50.00 ± 0.01 ^c	25
Cu	0.34 ± 0.001 ^a	0.35 ± 0.02 ^{ab}	0.38 ± 0.01 ^b	0.45 ± 0.002 ^c	0.44 ± 0.001 ^c	0.49 ± 0.01 ^d	0.051
Fe	1.47 ± 0.06 ^a	1.62 ± 0.09 ^b	1.39 ± 0.04 ^a	1.89 ± 0.03 ^c	2.37 ± 0.08 ^d	2.45 ± 0.78 ^d	0.72
P	132.03 ± 3.26 ^d	107.62 ± 3.06 ^b	80.93 ± 2.26 ^a	150.13 ± 0.03 ^f	140.95 ± 3.56 ^e	125.62 ± 1.34 ^c	89
Mg	12.66 ± 0.65 ^d	11.51 ± 0.44 ^{b,c}	10.70 ± 0.23 ^a	12.14 ± 0.27 ^{c,d}	13.99 ± 0.3 ^e	11.17 ± 0.24 ^{a,b}	6
Mn	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.019
Se	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.55
K	116.87 ± 0.59 ^c	109.05 ± 3.11 ^b	92.96 ± 5.2 ^a	114.25 ± 1.76 ^{b,c}	108.44 ± 2.02 ^b	109.51 ± 5.65 ^b	67
Na	171.20 ± 3.23 ^{d,e}	175.20 ± 9.16 ^e	141.78 ± 2.21 ^b	167.54 ± 8.8 ^{d,e}	163.59 ± 3.43 ^{c,d}	156.32 ± 2.7 ^c	70
Zn	0.700 ± 0.06 ^{bc}	0.70 ± 0.090 ^c	0.56 ± 0.02 ^a	0.81 ± 0.04 ^e	0.69 ± 0.02 ^{bc}	0.66 ± 0.004 ^{abc}	0.55

Los valores son la media de tres réplicas con su desviación estándar. Letras distintas dentro de la misma fila representan diferencias estadísticamente significativas a $P=0.05$. $LOD Mn=0.05$, $LOD Se= 0.11$.

Tabla 13. Minerales de la parte no comestible del huevo (g/100 g de huevo).

Aceite	Bacalao			Salmón			Literatura (King'Ori, 2011)
	Control Fase 1	Cápsula	Ingesta directa	Control Fase 2	Cápsula	Ingesta directa	
Ca	16.30 ± 196 ^b	15.36 ± 181.52 ^a	17.11 ±190.43 ^{cd}	16.65 ± 560.40 ^{bc}	17.53 ± 387.12 ^{de}	17.88 ± 458.08 ^e	7.52-8
Na	<LOD	0.01021 ± 1.79	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	-

Los valores son la media de tres réplicas con su desviación estándar. Letras distintas dentro de la misma fila representan diferencias estadísticamente significativas a $P=0.05$. $LOD Na=0.01$

6.5.1.7 Perfil de ácidos grasos

El huevo es uno de los alimentos de origen animal con menos grasas saturadas y en el que la relación entre los ácidos grasos insaturados y los saturados es considerada más que aceptable (Figuras 22-27). Hoy en día se sabe sobre los riesgos de consumir las grasas denominadas “trans”, es bueno recordar que en el huevo no hay grasas de este tipo (Tabla 14), ya que ningún grupo, ya sea suplementado con aceite de pescado o sus respectivos controles, mostraron la presencia de algún ácido graso “trans” (Instituto de Estudios del Huevo, 2009).

El contenido de ácido linoleico en la yema de huevo incrementa a medida que la dieta de las aves es más rica en ácidos poliinsaturados, lo que se ha aprovechado para tener en el mercado huevos con un alto contenido de ácidos insaturados y menos colesterol (apartado 6.3.4.3) (Badui, 2006). En la Tabla 14 se puede observar ésta tendencia cuando el aceite se suministra de forma directa (HBID, SID). Sin embargo, cuando el aceite se da encapsulado el contenido de ácido linoleico disminuye (HBC, SC). En todos los casos los valores de este ácido graso son inferiores a los reportados por Gil (2010).

También se puede observar la incorporación del EPA y DHA en los huevos de los grupos suplementados, ya sea, con cápsulas o ingesta directa, estos ácidos se encuentran en el huevo, pero con una concentración muy baja (Carrillo *et al.*, 2012).

En la Tabla 14 se observa que cuando se utilizó aceite de salmón (SID y SC) la incorporación de EPA y DHA fue tres veces superior a cuando se emplea aceite de hígado de bacalao (HBID, HBC), esto a pesar de que en el aceite de salmón el contenido de estos ácidos grasos fue muy inferior al del aceite de hígado de bacalao. Otro aspecto importante es que, aun cuando los aceites contenían más EPA que DHA (Tabla 3), su incorporación en el huevo fue inversa. Es decir, se obtuvo un mayor contenido de DHA que de EPA en los huevos de todos los grupos suplementados. Esto se pudo deber a la transformación del EPA en DPA y posteriormente a DHA (Tabla 14). Otro aspecto de sumo interés fue que en los

grupos suplementados el contenido de ácidos grasos saturados disminuyó respecto a sus controles respectivos, en tanto que el de insaturados incrementó.

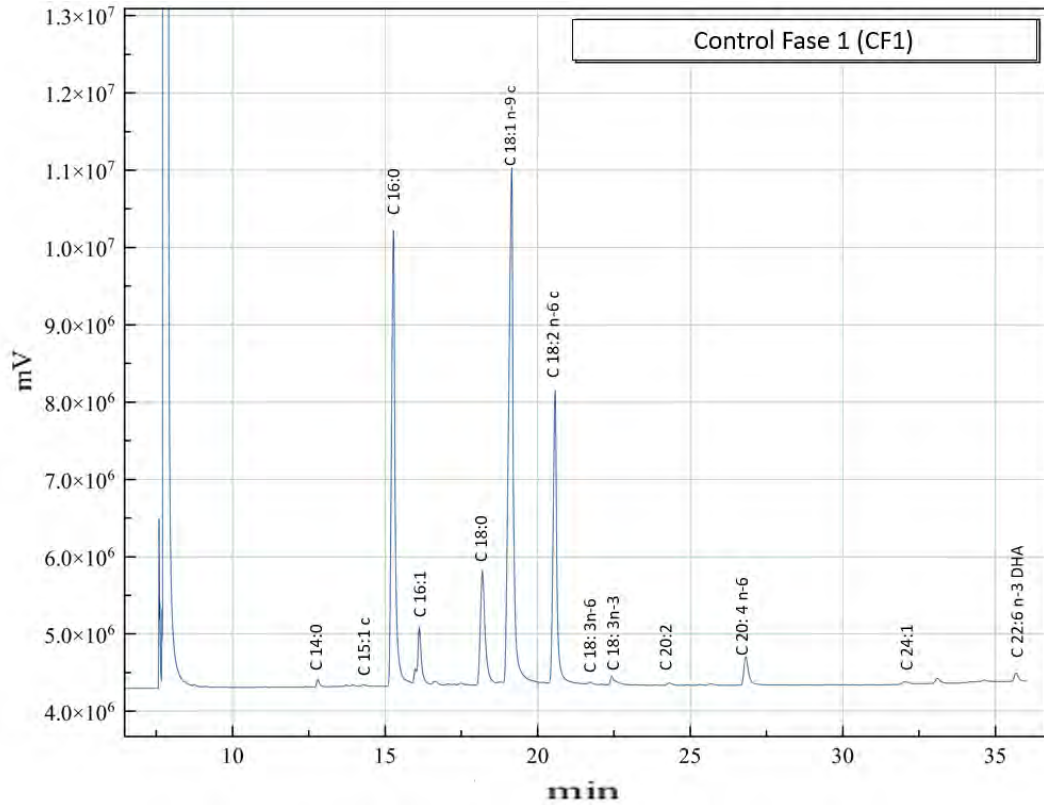


Figura 22. Cromatograma del huevo perteneciente al grupo control (CF1).

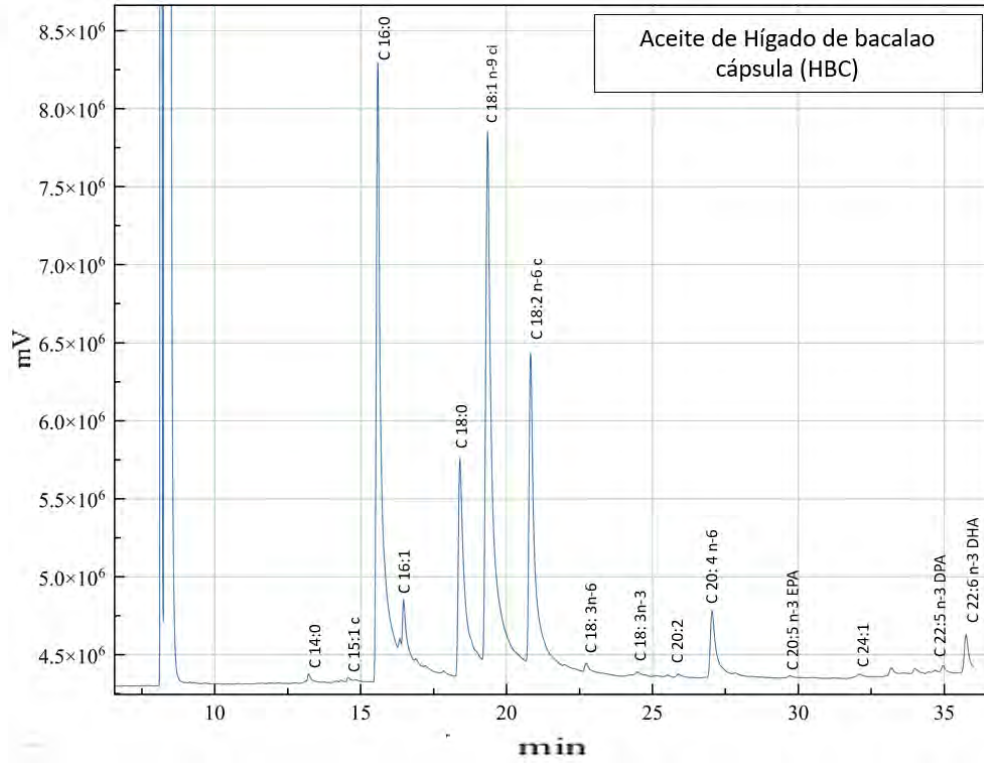


Figura 23. Cromatograma del huevo perteneciente al grupo de aceite de hígado de bacalao en cápsula (HBC).

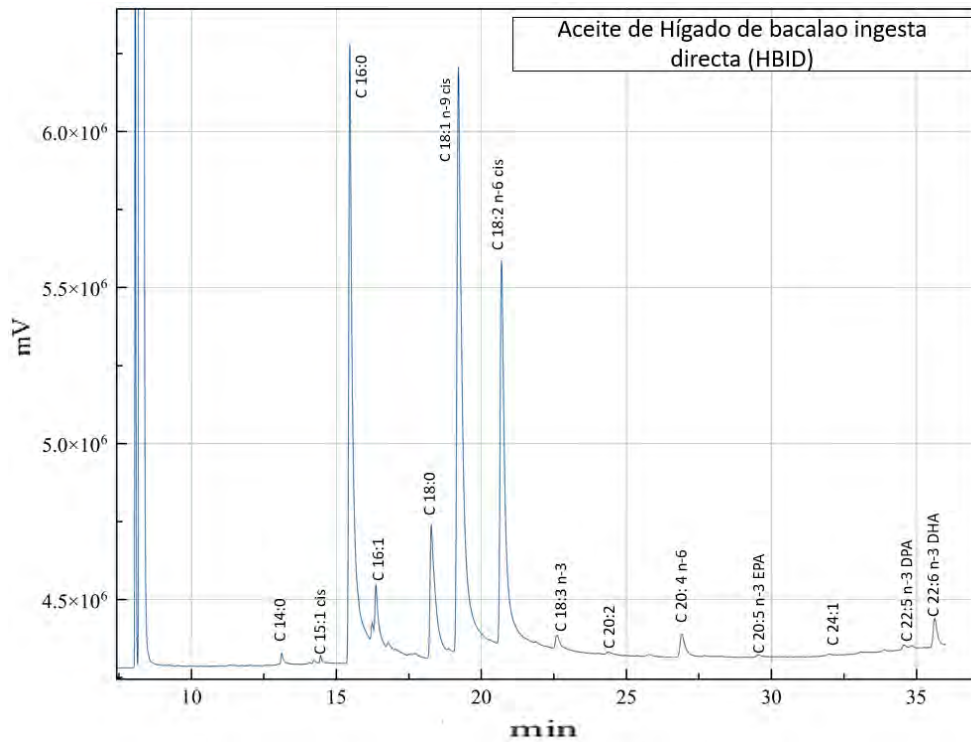


Figura 24. Cromatograma del huevo perteneciente al grupo de aceite hígado de bacalao ingesta directa (HBID).

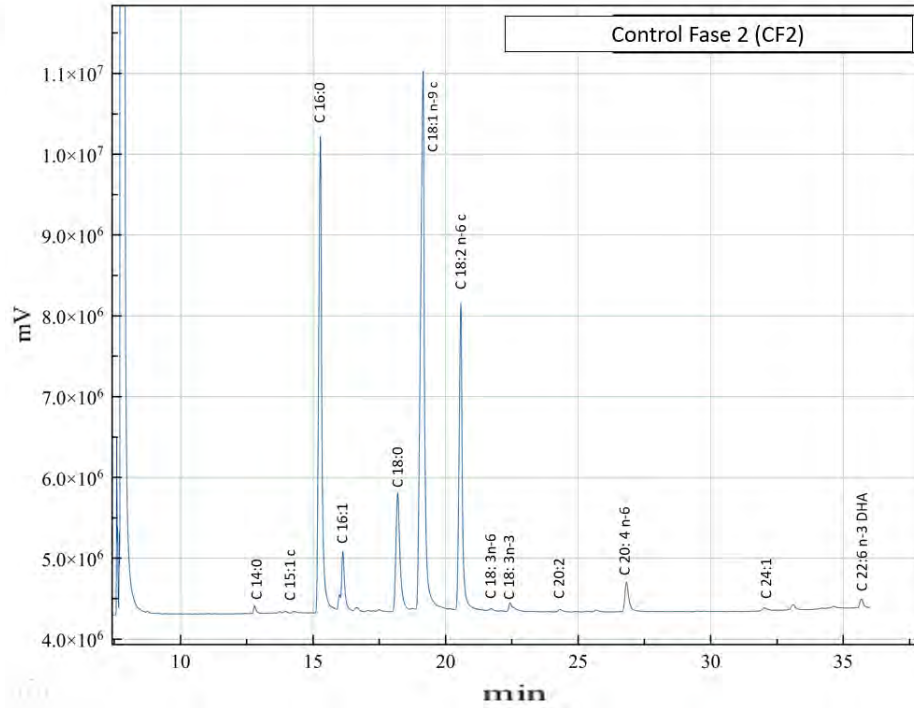


Figura 25. Cromatograma del huevo perteneciente al grupo control (CF2).

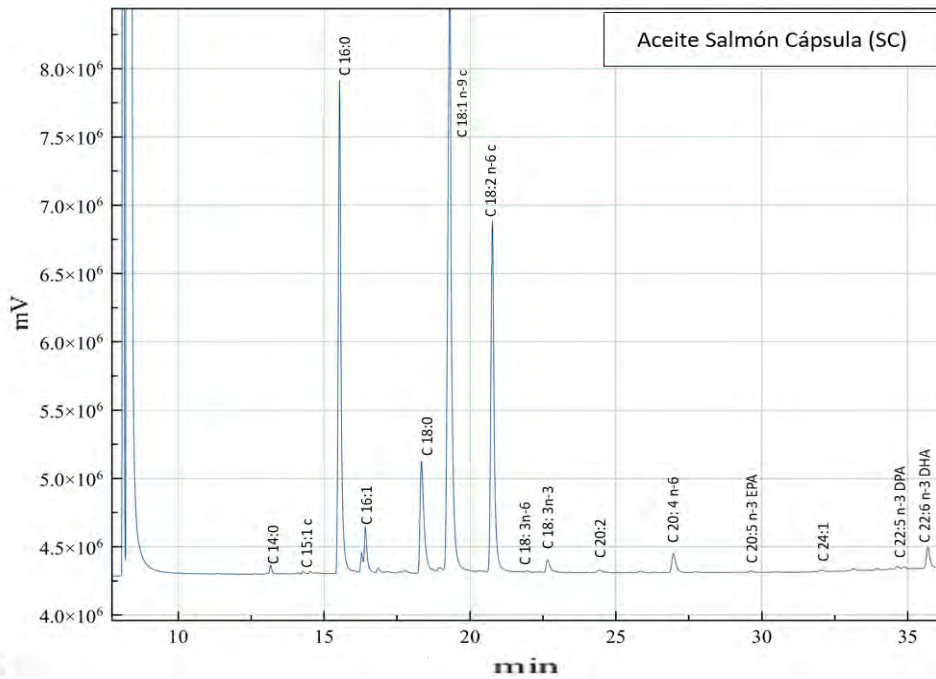


Figura 26. Cromatograma del huevo perteneciente al grupo de aceite Salmón Cápsula (SC).

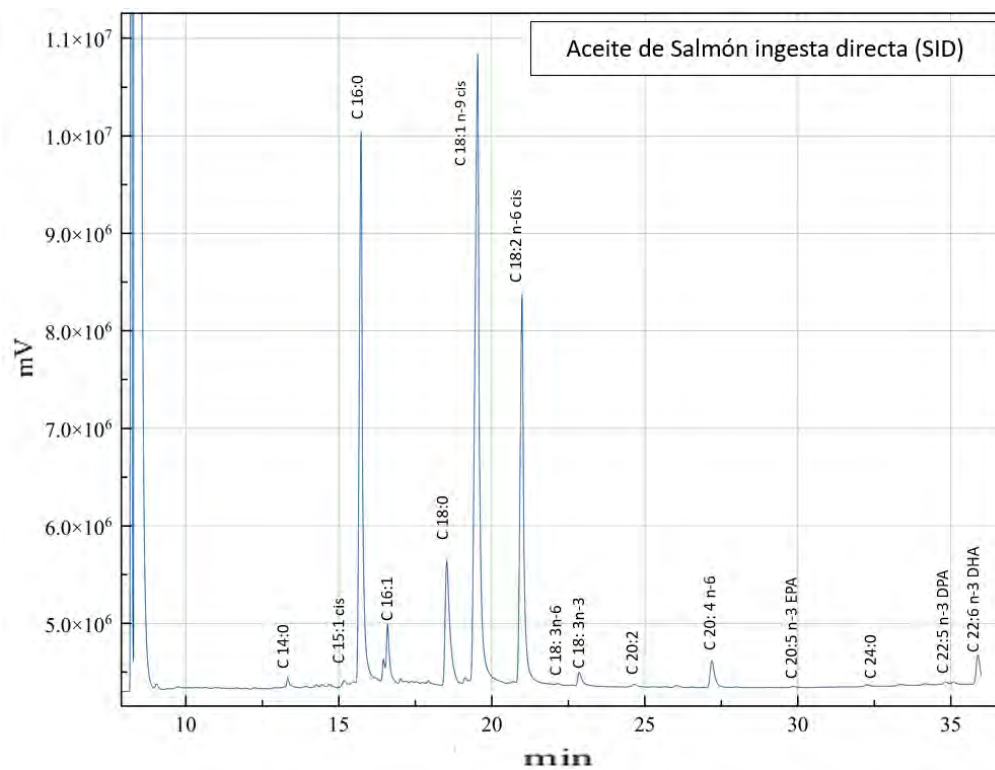


Figura 27. Cromatograma del huevo perteneciente al grupo de aceite Salmón Ingesta Directa (SID).

Tabla 14. Composición de ácidos grasos (mg/100g) de huevo de gallina ponedora.

Aceite	Hígado de Bacalao			Salmón			Literatura (Gil, 2010; Grobas & Mateos, 1996; Carbajar, 2006)
	Control Fase 1	Cápsula	Ingesta directa	Control Fase 2	Cápsula	Ingesta directa	
C 14:0	31.37 ± 0.17 ^b	17.52 ± 0.03 ^a	43.57 ± 0.36 ^e	36.55 ± 0.05 ^c	38.69 ± 0.28 ^{cd}	39.41 ± 1.36 ^d	31-36
C 16:0	2800 ± 38.12 ^c	1702.54 ± 0.49 ^a	3046.11 ± 87.69 ^e	2990.98 ± 16.94 ^d	2913.24 ± 18.68 ^{de}	2615.75 ± 3.03 ^b	2194
C 18:0	1098.78 ± 39.3 ^b	1409.98 ± 1.48 ^d	126.3 ± 0.14 ^a	1182.1 ± 9.71 ^c	102.7 ± 0.005 ^a	142.07 ± 2.00 ^a	818
TAGS	3930.15	3130.04	3215.98	4209.63	3054.63	2797.23	
C 15:1 c	24.08 ± 0.01 ^b	11.84 ± 0.001 ^a	55.59 ± 1.97 ^e	26.05 ± 0.15 ^b	31.63 ± 0.76 ^c	35.94 ± 0.50 ^d	4
C 16:1	168.85 ± 3.82 ^b	93.99 ± 0.17 ^a	217.79 ± 5.05 ^e	183.61 ± 1.72 ^c	197.46 ± 0.01 ^d	234.82 ± 2.37 ^f	203
C 18:1 n-9 c	1415.23 ± 3.48 ^b	1594.41 ± 1.20 ^d	1504 ± 1.95 ^c	1418.76 ± 0.005 ^b	1297.03 ± 13.14 ^a	1654.46 ± 6.52 ^e	3472-4071
C 24:1	3.32 ± 0.03 ^a	13.61 ± 0.04 ^b	26.60 ± 0.001 ^c	3.38 ± 0.01 ^a	27.25 ± 0.002 ^d	28.91 ± 0.03 ^e	1

TAGM	1611.48	1713.85	1804.76	1631.8	1553.37	1954.13	
C 18:2 n-6 c	535.33 ± 12.07 ^c	195.53 ± 0.02 ^a	573.65 ± 1.40 ^e	528.88 ± 0.62 ^c	456.08 ± 0.8 ^b	554.49 ± 0.17 ^d	1148-1826
C 18:3 n-6	31.47 ± 0.60 ^c	7.14 ± 0.09 ^a	ND	15.83 ± 0.76 ^b	57.38 ± 0.20 ^e	45.60 ± 0.51 ^d	3
C 18: 3 n-3	15.63 ± 0.03 ^b	9.15 ± 0.55 ^a	84.63 ± 0.74 ^f	19.84 ± 0.04 ^c	45.60 ± 0.02 ^e	22.18 ± 0.49 ^d	34-61
C 20:2	30.69 ± 0.46 ^c	21.13 ± 0.80 ^a	44.87 ± 0.33 ^e	30.51 ± 0.03 ^c	28.09 ± 0.43 ^b	42.13 ± 0.08 ^d	21
C 20:4 n-6	93.51 ± 1.34 ^d	43.09 ± 0.11 ^a	101.91 ± 0.90 ^e	93.66 ± 0.08 ^d	77.12 ± 0.001 ^b	90.06 ± 0.15 ^c	142-209
C 20:5 n-3 EPA	ND	10.18 ± 0.11 ^a	30.35 ± 0.15 ^c	ND	28.02 ± 0.47 ^b	35.8 ± 0.71 ^d	4
C 22:5 n-3 DPA	ND	7.36 ± 0.57 ^a	28.49 ± 1.83 ^c	ND	26.27 ± 0.70 ^{bc}	25.89 ± 0.007 ^b	
C 22:6 n-3 DHA	19.1 ± 0.03 ^a	71.9 ± 0.40 ^b	167.41 ± 0.35 ^c	19.35 ± 0.09 ^a	199 ± 0.06 ^d	200.66 ± 0.99 ^e	36-120
TAGP	725.73	365.48	833.61	733.87	887.233	1014.43	
TOTAL AG	6267.36	5209.37	5854.35	6575.3	5495.233	5765.79	

Los valores son la media de tres réplicas con su desviación estándar. Letras distintas dentro de la misma fila representan diferencias estadísticamente significativas a $P=0.05$.

6.5.2 Caracterización física

6.5.2.1 Color

El cascarón de los huevos obtenidos durante la experimentación fue de color rojo o rojizo como comúnmente se conoce, tanto en el grupo control como el suplementado. Esta coloración se da en la bolsa glandular, que es donde se realiza el proceso de mineralización y va adquiriendo dicha coloración por las porfirinas derivadas del metabolismo de la hemoglobina. Este pigmento se deposita en las últimas dos horas de la formación del huevo y depende mucho de la estirpe del ave (Sastre *et al.*, 2002).




Al momento de realizar la preparación de la muestra (homogenización) se observó que la yema tenía diferente coloración. Las muestras del grupo control (vaso A) presentaron un color amarillo tenue, en tanto que, las obtenidas de los huevos tratados con aceite de pescado mostraban una coloración más intensa (Figura 28).



Figura 28. Muestra de huevo homogenizado (de izquierda a derecha: suplementado con cápsulas de aceite de hígado de bacalao, control, con aceite de salmón en cápsulas y con aceite de salmón en pico).

Los principales pigmentos que dan la coloración al huevo son la luteína y zeaxantina, las cuales son xantofilas provenientes del maíz (Badui, 2006) que fue uno de los ingredientes del alimento utilizado en el presente estudio, Es importante mencionar que el huevo es el único alimento de origen animal que aporta dichos pigmentos y con una gran biodisponibilidad (Barroeta, 2008). Para observar la diferencia de color entre los diferentes tratamientos se realizó una medición

instrumental con una cámara profesional (Tabla 15). Esta parte experimental sólo se realizó en los huevos obtenidos de los animales suplementados con el aceite de salmón y su respectivo control, porque el ojo humano no puede distinguir pequeñas discrepancias entre los colores, ya sea por una mala memoria de color, vista cansada, daltonismo, etc. Adicionalmente el ojo humano no detecta diferencias de matiz, la saturación ni la claridad (Reyes, 2008).

Tabla 15 . Color de huevo de gallina ponedora.		
Tratamiento	Imagen	Color
Control		L=93.8^a ± 0.42 a= -8.8^a ± 0.42 b= 54.3^b ± 1.49
Cápsulas		L=94.2^{ab} ± 0.63 a= -8.8^a ± 0.42 b= 51.6^a ± 2.17
Ingesta directa		L=94.4^b ± 0.51 a= -8.8^a ± 0.42 b= 50.9^a ± 1.37

Los valores de luminosidad (L) en los tres grupos fueron de entre 93 a 94 (Tabla 15) y sólo se observó diferencia estadísticamente significativa entre el control y el

suplementado de manera directa. La luminosidad está relacionada con el brillo y valores de 100 representan el máximo de este atributo

En todos los grupos la coordenada b^* fue positiva (Tabla 15), la cual define la desviación hacia el amarillo, si b^* es positiva, y hacia el azul, si b^* es negativa. El grupo control obtuvo el valor más alto de b^* y mostró diferencia estadísticamente significativa con los grupos tratados.

La coordenada a^* define la desviación del punto acromático correspondiente a la luminosidad hacia el rojo si a^* es positiva, y hacia el verde si a^* es negativa (Mathias & Ah, 2014). Todos los tratamientos mostraron valores iguales de a^* y con tendencia negativa, ya que la coloración fue un amarillo muy tenue que se acerca más al verde que al rojo. Por dichos valores se puede afirmar que el colorante utilizado para teñir las cápsulas no influye en la coloración final de la yema.

También se realizaron los cálculos para saber la diferencia de las tonalidades entre los diferentes grupos (Tabla 16).

Tabla 16. Diferencia de color entre muestras.		
ΔE control vs cápsula	ΔE control vs ingesta directa	ΔE cápsula vs ingesta directa
2.72 ± 0.8^b	3.45 ± 0.09^c	0.72 ± 0.01^a

Como se puede observar en la Tabla 16, existe una diferencia menor (0.72) entre las tonalidades de los grupos suplementados con aceite, mientras que la mayor diferencia en la coloración fue entre los grupos control e ingesta directa (3.45), seguido del grupo control con el de cápsulas (2.72), indicando que la modificación de la dieta de las aves afecta de manera significativa la coloración de la yema de huevo.

6.5.2.2 Peso

En la Tabla 17 se puede observar claramente la influencia de la suplementación en el peso de los huevos, ya que, las aves suplementadas pesaron entre 13 y 14% más

que sus respectivos controles. Los huevos de los grupos que recibieron aceite de salmón ya sea encapsulado (CS) o en forma directa (SID) fueron los que mayores incrementos mostraron. El reglamento 1511/96 (Perriago, S.F.) indica que, los huevos se pueden clasificar por su peso, en “S” si el peso es menor a 53 g, en “M” cuando el peso es de entre 53 y 63 g. De acuerdo a la Tabla 17, los huevos obtenidos de las aves de todos los grupos suplementados entran en la categoría “M”, en tanto que todos los de los grupos controles se clasifican como “S” (Tabla 20).

La suministración de ácidos grasos poliinsaturados (Mateo, 1981), calcio (Menger, 1977) y la glucosa extra (Shutze *et al.*, 1962) de las cápsulas de alginato ayuda al aumento de peso del huevo.

Tabla 17. Promedio peso (g) del huevo de gallina ponedora.

Tabla 17. Promedio peso (g) del huevo de gallina ponedora.				
Bacalao			Salmón	
Grupo	Cápsulas	Ingesta directa	Cápsulas	Ingesta directa
Suplementado	52.4	54.66	55.56	55.63
Control	47.28		48.54	

6.5.3 Análisis sensorial

6.5.3.1 Prueba triangular

De acuerdo con la tabla para la interpretación de la prueba triangular, para un nivel de significación del 5%, para ensayos con 30 respuestas, se requieren 15 juicios correctos para establecer diferencias significativas entre las muestras. En los ensayos realizados entre el control y los grupos suplementados con cápsulas y por ingesta directa, 13 y 7 jueces, respectivamente identificaron la muestra diferente correctamente. Lo anterior indica que no hay diferencia significativa entre las

muestras de huevo cocido y huevo revuelto provenientes de los tratamientos (SC y SID).

Los resultados obtenidos en la presente investigación contradicen lo reportado por distintos autores que mencionan que la suplementación de la dieta convencional de las aves (con aceite de pescado o con otras fuentes de ácidos grasos omega 3 como el aceite de lino) perjudica la calidad sensorial del huevo y de la carne obtenidos (Van Elswyck, 1997; Wells y Belyawin, 1987; González Esquerra, y Leeson, 2001; Surai y Sparks, 2001). En dichos trabajos, la suplementación modificó de manera significativa atributos como el olor y el sabor ya que los productos adquirieron notas atípicas que impactaron negativamente su calidad global. Sin embargo, los resultados concuerdan con lo reportado por Ramírez (2011) y Baños (2011) quienes suplementaron con aceite de hígado de bacalao la alimentación de gallinas ponedoras y reproductoras, respectivamente. Ambos autores mencionan que las muestras de huevo producido bajo los distintos tratamientos ensayados no sufrieron cambios negativos en atributos como color, olor, sabor y textura, pues no se detectaron diferencias en las pruebas triangulares realizadas.

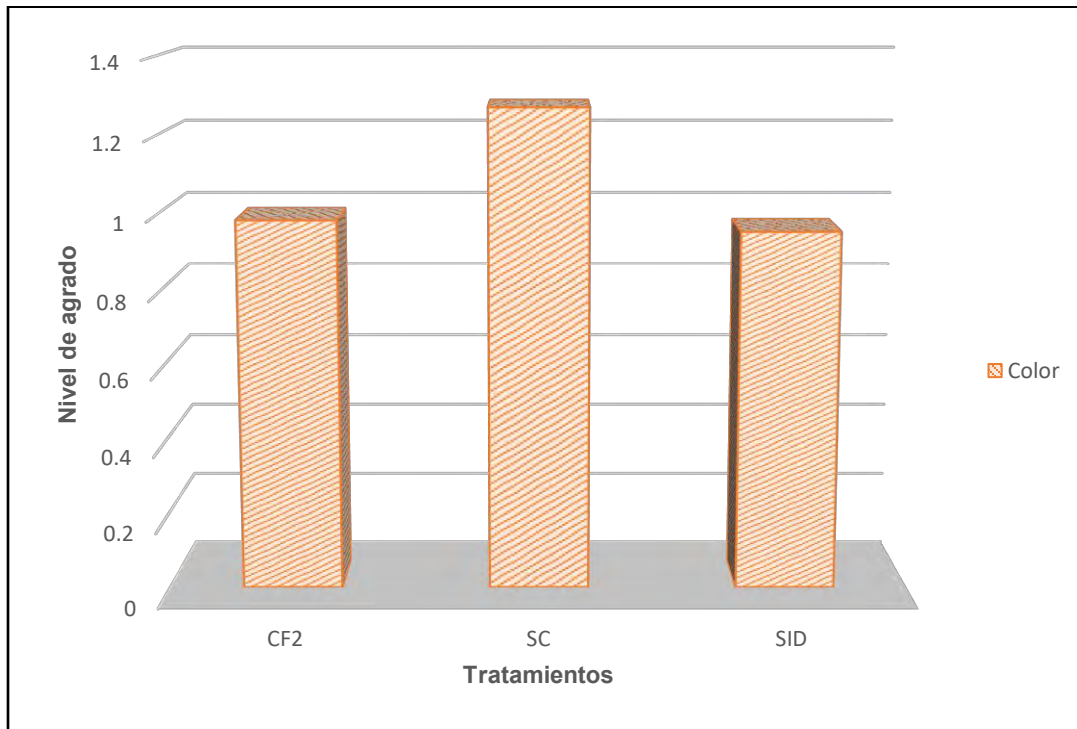
Esto se explica por el tipo de dieta y la concentración de aceite suministrada a las aves, ya que si estos factores no se controlan pueden generar cambios perceptibles en las características sensoriales de la carne y huevos producidos, en especial en el olor, sabor y textura (O'keefe *et al.*, 1995; Aguilar-Guggembuhl *et al.*, 2014; Martínez *et al.*, 2016).

6.5.3.2 Prueba de nivel de agrado

De acuerdo al ANOVA realizado a los resultados de la prueba de nivel de agrado, no hubo diferencia significativa entre las muestras de huevo crudo, cocido y revuelto provenientes de todos los grupos analizados con respecto a los atributos de color, olor, sabor y textura.

Huevo crudo

Con referencia al huevo crudo, el único atributo evaluado fue el color de la yema. No se encontraron diferencias significativas en el agrado mostrado por este atributo para las muestras provenientes de los tres tratamientos, aunque el color de la yema de los huevos obtenidos por suplementación con cápsulas mostró mayores valores de agrado (tendencia hacia “me gusta”) (Gráfica 5). Esto podría deberse a que el color de estas muestras era ligeramente más intenso comparado con el color de las otras muestras (amarillo pálido). Lo anterior podría explicarse por la presencia de colorante rojo en las cápsulas utilizadas para la suplementación.



Gráfica 5 . Nivel de agrado por el color de la yema en el huevo crudo de los diferentes tratamientos.

Nota: Control Fase 2 (CF2), aceite Salmón Ingesta Directa (SID), aceite Salmón Cápsula (SC).

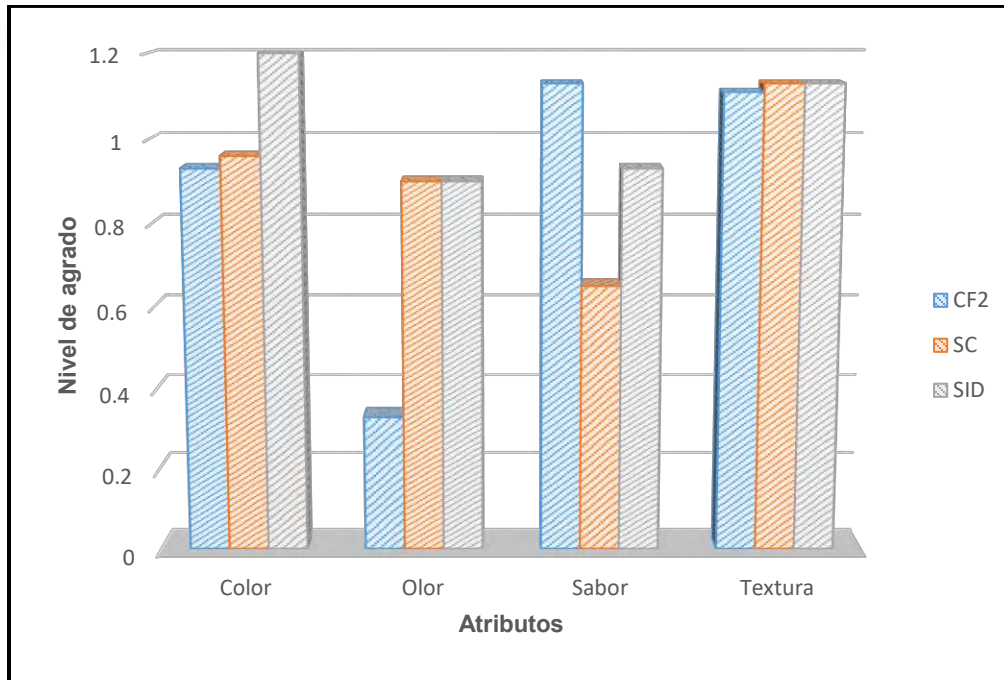
Estos resultados coinciden con lo reportado por Toyas (2016), quien tampoco observó diferencia entre el color de la yema cruda de huevos provenientes de aves alimentadas con dieta suplementada con pescado azul (macarela) y el grupo control. En ese estudio, los panelistas calificaron el color de las muestras utilizando

una escala (abanico DSM) donde un valor de 1 indica color amarillo pálido y el 15 a un color naranja intenso otorgando valores de 0 a 4.

Huevo cocido

Con respecto al agrado mostrado por los atributos evaluados en yema de huevo cocido (color, olor, sabor y textura), procedentes de todos los tratamientos, no se observó diferencia estadísticamente significativa entre ellos. Sin embargo, en cuanto al color, los participantes mostraron una tendencia hacia un mayor agrado por el color de la yema de los huevos procedentes de la suplementación con aceite de salmón por ingesta directa. Lo anterior puede estar relacionado con la percepción de la textura de dichas muestras pues, en general, fue calificada como “agradable” y “buena” de acuerdo a los comentarios de algunos de los participantes y se sabe que la percepción de la textura, sabor y apariencia de un alimento están relacionados (Anzaldúa-Morales, 1994). Hablando de la textura de las muestras provenientes de los tres tratamientos, este atributo agradó por igual a los panelistas (Gráfica 6).

Con referencia al olor, las muestras provenientes de los tratamientos fueron de mayor agrado respecto al control cuyas valoraciones tendieron a la indiferencia (“ni me gusta ni me disgusta”) de los participantes (Gráfica 6). Algunos de los comentarios respecto a este atributo en la muestra control fueron que el olor era desagradable.



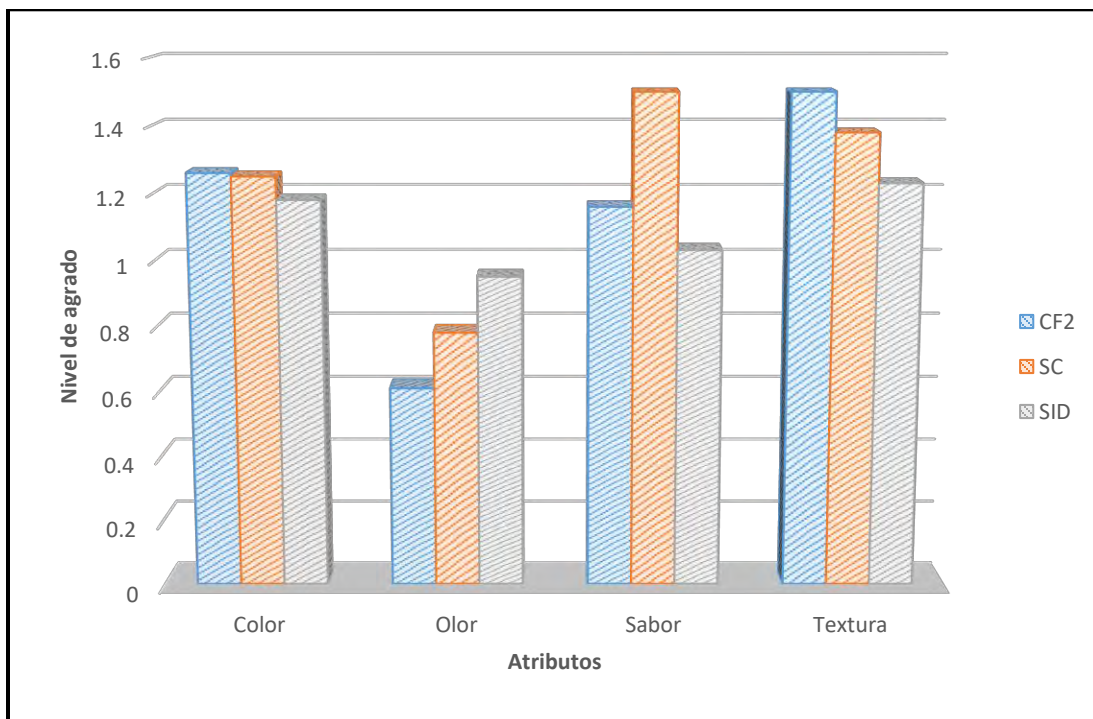
Gráfica 6 . Nivel de agrado de los diferentes atributos en el huevo cocido

En relación al sabor, se observó una mayor tendencia hacia valores de agrado en las muestras procedentes del grupo control. Esto puede deberse a que, de acuerdo con los comentarios de algunos panelistas, en las muestras procedentes de los grupos suplementados y en particular del suplementado con cápsulas, se percibían notas a pescado y una textura “pastosa” “desagradable” o “suave” lo cual influyó en la percepción del sabor.

Estos resultados coinciden con lo reportado por Huang *et al.*, (1990) quienes suplementaron la dieta de gallinas con hasta 3% de aceite de arenque sin afectar la aceptabilidad de los huevos y la carne producidos. Del mismo modo, Cornejo *et al.*, (2008) evaluaron la aceptabilidad de huevos procedentes de gallinas con dietas suplementadas con aceite de pescado. Dichos autores no encontraron aromas o sabores a pescado en las muestras analizadas, ellos reportan además, una aceptabilidad satisfactoria para las mismas. Del mismo modo, los datos obtenidos en la presente investigación concuerdan con los resultados de Maurice (1994), Marshall (1994) y Carranco *et al.*, (2011) quienes tampoco encontraron rechazos organolépticos en los huevos de gallinas alimentadas con productos marinos.

Huevo revuelto

Con respecto a la presentación de huevo revuelto, no se encontró diferencia significativa en el nivel de agrado mostrado hacia el color de los huevos revueltos provenientes de las gallinas alimentadas con dietas suplementadas y con dieta convencional. En la Gráfica 7 se observa que el agrado mostrado por el color del huevo revuelto de los tres tratamientos es muy similar, con una tendencia hacia la respuesta “me gusta ligeramente” para todas las muestras analizadas.



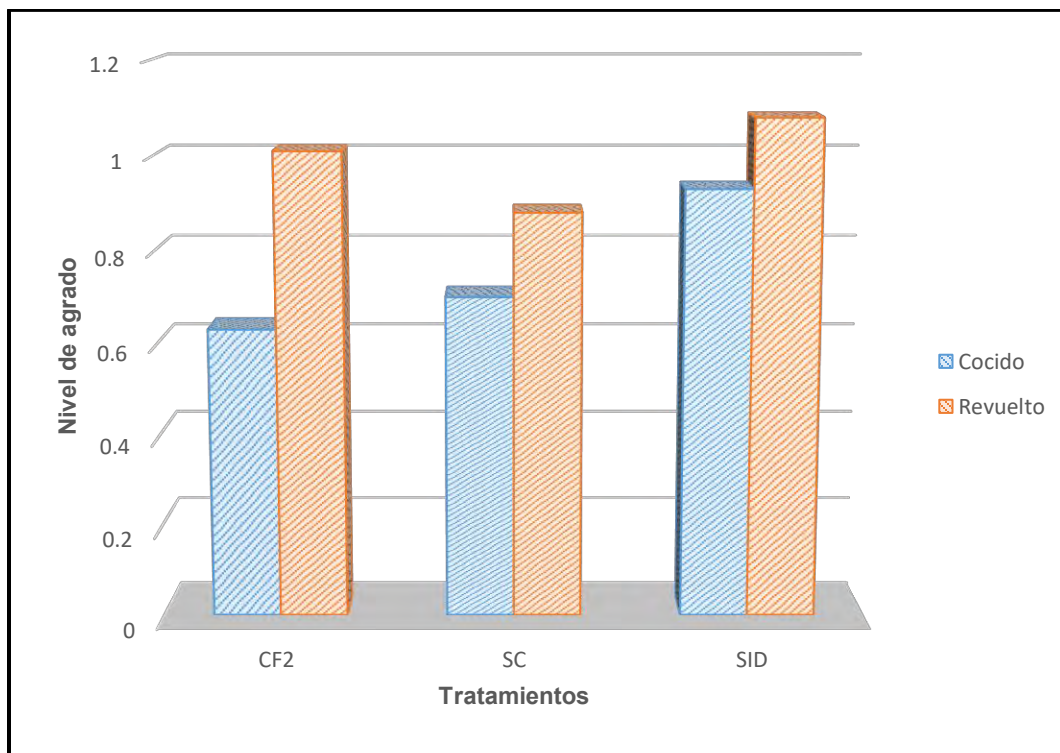
Gráfica 7. Nivel de agrado hacia los diferentes atributos evaluados en el huevo revuelto.

Acerca del olor, este fue el atributo con valores promedio de agrado más bajos para los tres tratamientos. Es posible que esto se deba a que ciertos jueces detectaron notas de olor a pescado en algunas de las muestras, sobre todo en las dietas suplementadas con cápsulas. A pesar de lo anterior, el nivel de agrado mostrado para el olor, fue significativamente similar entre las muestras de todos los tratamientos analizados. Respecto al sabor del huevo en esta presentación, se observó una tendencia hacia un mayor agrado por las muestras provenientes del grupo suplementado con aceite de salmón encapsulado, contrario a la textura,

donde la tendencia hacia un mayor agrado fue por las muestras de huevo revuelto del grupo control.

Estos datos coinciden con lo publicado por Cornejo *et al.*, (2008) quienes estudiaron el sabor, aroma, aceptabilidad y preferencia de huevos revueltos procedentes de gallinas con dietas suplementadas con aceites de pescado con distintos grados de refinación. Estos autores reportan que no hubo diferencia significativa en la aceptabilidad manifestada por los jueces hacia las muestras evaluadas.

De manera general, la presentación de huevo revuelto fue de mayor agrado que la presentación de huevo cocido (Gráfica 8), probablemente porque es una de las formas culinarias de preparación más comunes.



Gráfica 8 . Nivel de agrado general mostrado hacia los diferentes tratamientos

Los resultados obtenidos en esta investigación así como los hallazgos encontrados en la literatura, confirman que la dosis de la fuente de ácidos grasos omega 3 utilizada (producto marino o vegetal) en la suplementación juega un papel importante en la calidad sensorial final de los productos (carne y huevo) pues dosis

altas provocan la aparición de notas desagradables a pescado en atributos como el aroma, olor y sabor (Van Elswyk *et al.*, 1992).

En este trabajo, la dosis utilizada no afectó significativamente la calidad sensorial de los huevos producidos por las gallinas con dietas suplementadas. Sin embargo, trabajos posteriores son necesarios para ajustar parámetros, como el color y el olor, que podrían ser mejorados para aumentar la aceptabilidad mostrada por los consumidores.

De acuerdo a De Regil (2008), (citado por Mendoza *et al.*, 2016) la producción de huevos diferenciados (por ejemplo, ricos en ácidos grasos omega 3) es reciente en México, no obstante, va en aumento. Esta tendencia debe ser aprovechada por los avicultores mexicanos, considerando que diferentes estudios, incluido este trabajo de investigación, demuestran que el enriquecimiento de huevos con ácidos grasos omega 3 es viable y representa para los pequeños y medianos productores una estrategia económica y para el consumidor una fuente alternativa de consumo de estos nutrientes.



7. CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

- El alginato es una matriz adecuada para encapsular aceite de pescado e incorporarla en la dieta de gallinas ponedoras.
- La suplementación con aceite encapsulado tiene mayor influencia positiva en los parámetros productivos de las aves.
- Con la suplementación de aceite de salmón en la dieta de gallinas ponedoras se logra una mayor ganancia en peso y mejor incorporación de EPA y DHA en los huevos obtenidos.
- La suplementación de aceite de pescado permite mejorar la calidad nutricional y el perfil de ácidos grasos de los huevos obtenidos.
- La inclusión de aceite de pescado en la dieta de gallinas ponedoras no influye negativamente en las propiedades organolépticas de los huevos obtenidos.



8. Referencias

8. REFERENCIAS

- Aguilar-Guggembuhl, J., Mota-Rojas, D., Escalona-Buendía, H., Trujillo-Ortega, M. E., & Guerrero-Legarreta, I. (2014). Efecto de dietas con ácidos grasos poliinsaturados en las propiedades sensoriales de la carne de cerdo. *Agrociencia*, 48(8), 777-788.
- Anzaldúa-Morales, A. (1994). *La Evaluación Sensorial de los Alimentos en teoría y la práctica*. España: Acribia
- Añorve-Morga, J., Castañeda-Ovando, A., Cepeda-Saez, A., Archibold, A. D., Jaimez-Ordaz, J., Contreras-López, E., & Rodríguez-Rodríguez, J. L. (2015). Microextraction method of medium and long chain fatty acids from milk. *Food Chemistry*, 172, 456-461.
- AOAC. (16 ed.), (1995) *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.
- Arias, J. L., Fernandez, M. S., Laraia, V. J., Janicki, J., Heuer, A. H., & Caplan, A. I. (1990). The avian eggshell as a model of biomineralization. *MRS Online Proceedings Library Archive*, 218.
- Avendaño-Romero, G., López-Malo, A., & Paolu, E. (2013). Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 7(1), 87-96.
- Badui-Dergal, S., & Cejudo Gómez, H. R. T. (2006). *Química de los alimentos*. Mexico: Pearson.
- Baños, A. (2011). *Efecto de la suplementación con aceite de hígado de bacalao sobre gallinas criollas y sus productos*. (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo, México.
- Baños, G. (2018). *Incorporación de EPA y DHA en carne de pollo mediante suplementación con aceite de pescado encapsulado*. (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo, México.
- Barroeta, A. C. (2002). Formación del huevo. *Consejo Asesor del Instituto de Estudios del Huevo*, 45.
- Barroeta, A. C. (2008). El huevo y sus componentes como alimento funcional. *Revista de Nutrición Práctica*, (12), 28-33.

- Betancourt, L., & Díaz, G. (2009). Egg enrichment with omega-3 fatty acids by means of flaxseed supplement (*Linum usitatissimum*) in the diet. *Revista MVZ Córdoba*, 14(1), 1602-1610.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911-917.
- Burchard, H. (1885). *Chem.' Zentr.* 61 (1), 25.
- Carbajal, A. A. (2006). Calidad nutricional de los huevos y relación con la salud. *Revista de Nutrición Práctica*, (10), 73-76.
- Carranco, M. E., Calvo, C. C., Carrillo, D. S., Ramírez, C. R., Morales, B. E., Sanginés, G. L. & Pérez-Gil, R. F. (2011). Harina de crustáceos en raciones de gallinas ponedoras. Efecto en las variables productivas y evaluación sensorial de huevos almacenados en diferentes condiciones. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 45(2).
- Carrillo, S., Ávila, E., Vásquez, C., Calvo, C., Carranco, M. E., & Pérez-Gil, F. (2012). Modificación en la composición de ácidos grasos del huevo al incluir aceite de sardina y ácido linoleico conjugado en dietas para gallinas ponedoras. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 44(3), 243-251.
- Caso, M. A. (2016). *Generando valor agregado en la producción de huevos*. Bachelor's thesis.
- Castro, M. I., Maafs, A. G., & Galindo, C. (2013). Perfil de ácidos grasos de diversas especies de pescados consumidos en México. *Revista de Biología Tropical*, 61(4).
- Castro-González, M. I. (2002). Ácidos grasos omega 3: beneficios y fuentes. *Interciencia*, 27(3), 128-136.
- Church, D.C., Pond W. G. y Pond, K. R. (2006). *Fundamentos de nutrición y alimentación de animales*. México, Ciudad de México. Limusa.
- Congreso de avicultura. (2008). El huevo como aliado de la nutrición y la salud. *Revista Cubana de Alimentación y Nutricion*. 18(2 Supl 1), S1-S15.
- Cornejo, S., Hidalgo, H., Araya, J., & Pokniak, J. (2008). Suplementación de dietas de gallinas de postura comercial con aceites de pescado de diferentes grados

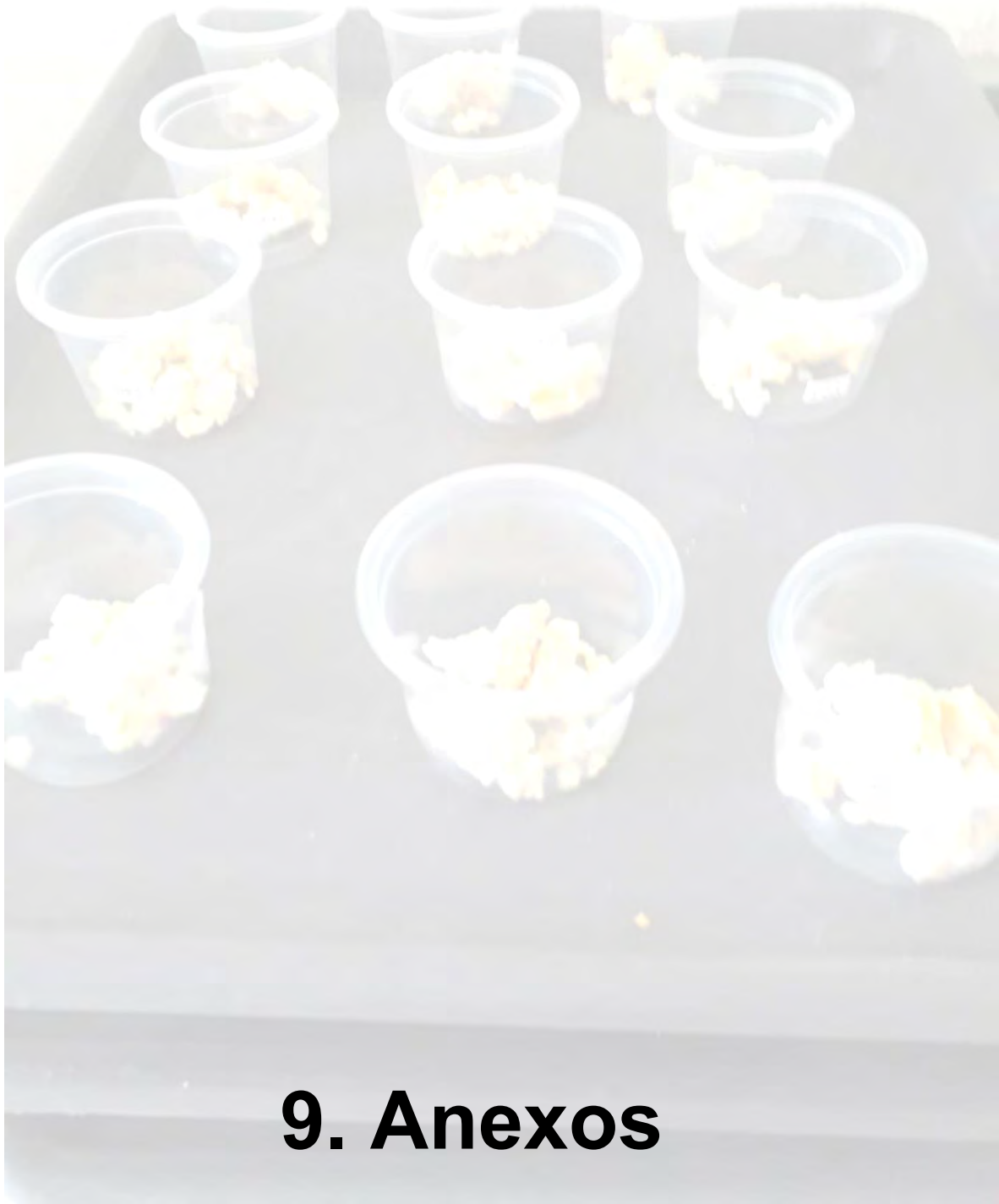
- de refinación: Efectos productivos en las aves y en la calidad organoléptica de los huevos. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 40(1), 45-50.
- Cruz, J. S. (2012). El mercado del huevo en México, 1965-2010. *Postgrado de Socioeconomía, Estadística e Informática. Economía*. Colegio de Postgraduados, Montecillos, Texcoco, Estado de México, 12-120.
- Environmental Protection Agency. (1996). Method 3052, SW-846.
- Eslaín, E. (1999). *Tablas de composiciones de alimentos*. Zaragoza: Acribia.
- FAO, (1995). *Manual para el personal auxiliar de sanidad animal primaria*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación Roma (Italia).
- Ferrier, L. K., Caston, L. J., Leeson, S., Squires, J., Weaver, B. J., & Holub, B. J. (1995). AlphaLinolenic acid and docosahexaenoic acid enriched eggs from hens fed flaxseed: influence on blood lipids and platelet phospholipid fatty acids in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 62(1), 81-86.
- Fundueanu, G., Nastruzzi, C., Carpov, A., Desbrieres, J., & Rinaudo, M. (1999). Physicochemical characterization of Ca-alginate microparticles produced with different methods. *Biomaterials*, 20(15), 1427-1435.
- Gil, A. (2010). *Nutrition Treatise: Composition and Nutritional Quality of Foods* (Vol. 2). Ed. Médica Panamericana.
- Gil, D. B., Bocourt, E. C., & Maqueira, Y. D. (2006). Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3, 5 dinitrosalicílico. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 40(2), 45-50.
- Gonzalez-Esquerria, R., & Leeson, S. (2001). Alternatives for enrichment of eggs and chicken meat with omega-3 fatty acids. *Canadian Journal of Animal Science*, 81(3), 295-305.
- Grobas, S., & Mateos, G. G. (1996). Influencia de la nutrición sobre la composición nutricional del huevo. *XII Curso de especialización FEDNA*, 25.
- Hernández, V. (2015). *Encapsulación de hierro hemínico en cápsulas de alginato de sodio como un suplemento oral para cerdos neonatos: estudios in vitro*

- (Proyecto inserción de capital humano avanzado en la academia).
Universidad De Chile. Santiago, Chile.
- Huang, Z., Leibovitz, H., Lee, C. M., & Millar, R. (1990). Effect of dietary fish oil on omega.-3 fatty acid levels in chicken eggs and thigh flesh. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(3), 743-747.
- Hustvedt, S. O., Olesen, P. H., Berge, G., & Klaveness, J. E. J. (2012). U.S. HUSTVEDT, Svein Olaf, et al. Compositions comprising a fatty acid oil mixture comprising Epa and Dha in free acid form and a surfactant, and methods and uses thereof. *Patent Application No. 13/255,587*.
- IFFO (International Fishmeal and Fish Oil Organisation). (2008). *La importancia de los ácidos grasos omega-3 EPA y DHA en la salud de humanos y animales*. Reino Unido: IFFO Ltd.
- Instituto del Huevo (2009). *El Gran Libro del Huevo*. España: Editorial Evergráficas, SL.
- Jackson, A. (2008). Guía de los ácidos grasos Omega-3 de cadena larga EPA Y DHA en el aceite de pescado. *Reino Unido: IFFO Ltda*.
- Juárez-Caratachea, A., & Alvarado, M. A. O. (2001). Estudio de la incubabilidad y crianza en aves criollas de traspatio. *Veterinaria México*, 32(1), 27-32.
- King' Ori, A. M. (2011). A review of the uses of poultry eggshells and shell membranes. *International Journal of Poultry Science*, 10(11), 908-912.
- Kosaraju, S. L., Weerakkody, R., & Augustin, M. A. (2009). In-vitro evaluation of hydrocolloid based encapsulated fish oil. *Food Hydrocolloids*, 23(5), 1413-1419.
- Liebermann, C., (1885). Ber. deut. Chem. Ges. 18, 1803
- López, O. D. (2010). Microencapsulación de sustancias oleosas mediante secado por aspersión. *Revista Cubana de Farmacia*, 44(3), 381-389.
- López, O. D., Turiño, L. W., & Nogueira, A. (2015). *Microencapsulación de sabores mediante secado por aspersión*. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos

- Marshall, A. C., Sams, A. R., & Elswyk, M. E. (1994). Oxidative stability and sensory quality of stored eggs from hens fed 1.5% menhaden oil. *Journal of Food Science*, 59(3), 561-563.
- Martinez, H. y Astiasarán, I. (2005). *Alimentos, composición y propiedades* (2da ed). España: Mc Graw Hill. 11-14 y 53-58
- Martinez, J. A., Alcorta, M. J., Romero, L. A., Domínguez, S. C., & Domínguez, R. M. (2016). Sustitución de aceite de soya por aceite de atún en la dieta de pollos como alternativa para enriquecer la carne con ácidos grasos omega-3. *Interciencia*, 41(12), 851-856.
- Mateos, G. G. (1981). Influencia del ácido linoleico sobre el tamaño del huevo: Estudio de necesidades. *Selecciones Avícolas*, 23(7), 0258-264.
- Mateos, G. Saldaña, B. Guzmán, P. Lázaro, R. y Cámara, L. (2015). Influencia de la nutrición sobre la productividad en ponedoras. *Nutrinews Nutricion Animal*.
- Maurice, D. (1994). Dietary fish oils: Feeding to produce designer eggs. *Feed Manag*, 45, 29-32.
- Mendoza, Y., Brambila, J. D., Arana, J., Sangerman-Jarquín, D. M., & Molina, J. N. (2016). El mercado de huevo en México: tendencia hacia la diferenciación en su consumo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(6).
- Menezes-Blackburn, D., Gabler, S., & Greiner, R. (2015). Performance of seven commercial phytases in an in vitro simulation of poultry digestive tract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(27), 6142-6149.
- Menge, H., Geis, E. G., James, P. E., & Frobish, L. T. (1977). Effect of vitamin D3 and calcium on the reproductive characteristics of the turkey hen. *Poultry Science*, 56(5), 1472-1480.
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. (S.F.). *La alimentación saludable*. Recuperado de [Huevo.org.es: http://www.huevo.org.es/huevo_salud_alimentacion_saludable.asp](http://www.huevo.org.es/huevo_salud_alimentacion_saludable.asp)
- Nieves, A. (2015). *Uf2170: Control y manejo de aves en la exploración avícola*. Espala. Elerarning.S.L.
- NOM-159-SSA1-1996, Bienes y servicios. Huevo, sus productos y derivados. Disposiciones y especificaciones sanitarias.

- O'keefe, S. F., Proudfoot, F. G., & Ackman, R. G. (1995). Lipid oxidation in meats of omega-3 fatty acid enriched broiler chickens. *Food Research International*, 28(4), 417-424.
- PESA-México, (2007). *Producción y manejo de aves de traspatio. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), SAGARPA*. Consultado en http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/AsistenciaCapacitacion/Documents/red%20del%20conocimiento/manuales%20pesa/manejo_aves.pdf.
- Profeco (2013). *Precios al consumidor de huevo por ciudad, tienda de autoservicio, marca comercial y presentación. 2011–marzo 2013*. Procuraduría Federal del Consumidor. México. <www.profeco.gob.mx>.
- Quintana, J. A. (1999). Avitecnia. Manejo de las aves domésticas más comunes. Ed. Trillas, SA de CV 3ª. México.
- Quishpe, G. (2006). *Factores que afectan el consumo de alimento en pollos de engorde y postura*. Bachelor's thesis, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana.
- Ramírez J., A. J. (2011). *Incorporación de ácidos grasos omega 3 en huevo de gallinas ponedoras a través de la suplementación con aceite de hígado de bacalao*. México Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Ravindran, V. (2013). Alimentos alternativos para su uso en formulaciones de alimentos para aves de corral. *Función de las aves de corral en la nutrición humana*, 77.
- Retting, M. K., & Ah-Hen, K. (2014). El color de los alimentos un criterio de calidad medible. *Agro Sur*, 42, 2-7.
- Sastre, A., Tortuero, F., Suárez, G., Vergara, G. y López, C. (2002). Instituto de Estudios de Huevo. *Lecciones sobre el huevo*. 1ª Edición. Madrid España
- Shutze, J. V., Jensen, L. S., & McGinnis, J. (1962). Accelerated increase in egg weight of young pullets fed practical diets supplemented with corn oil. *Poultry Science*, 41(6), 1846-1851.
- SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera) (2016). *Atlas agroalimentario*. SIAP/SAGARPA. México, D. F.

- Surai, P. F., & Sparks, N. H. C. (2001). Designer eggs: from improvement of egg composition to functional food. *Trends in Food Science & Technology*, 12(1), 7-16.
- Torre, M. M., Fonseca, P. M., & Quintana, L. J. (2012). *El huevo mitos, realidades y beneficios*. Trillas. México, DF, 9-104.
- Torres, E. (2010). *Evaluación de los parámetros productivos del pollo criollo vs pollo comercial*. (Tesis de licenciatura). Universidad Veracruzana.
- Toyes, E. (2016). *Aprovechamiento de subproductos marinos para la alimentación de camarón de cultivo y gallinas ponedoras*. (Tesis de doctorado). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz: Baja California Sur
- UNE 87006. (1992). *Sensory analysis. Methodology. Triangular test*. AENOR
- Valenzuela, R., Tapia, G., González, M., & Valenzuela, A. (2011). Ácidos grasos omega-3 (EPA y DHA) y su aplicación en diversas situaciones clínicas. *Revista Chilena de Nutrición*, 38(3), 356-367.
- Valladolid, J. V., Alcorta, M. G., Domínguez, S. C., Barrera, E. M., Domínguez, R. C., & Badillo, C. C. (2005). El aceite de atún como fuente de ácidos grasos w-3 en el huevo de gallina. *Grasas y Aceites*, 56(2), 153-159.
- Van Elswyk, M. E. (1997). Comparison of n-3 fatty acid sources in laying hen rations for improvement of whole egg nutritional quality: a review. *British Journal of Nutrition*, 78(1), S61-S69.
- Watts, B. M., Ylimaki, G. L., Jeffery, L. E., & Elías, L. G. (1992). *Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos*. CIID, Ottawa, ON, CA.
- Wells, R. G., & Belyawin, C. G. (1987). Egg quality-current problems and recent advances. *Poultry Science Symposium, series* (No. 636.513 W4).
- Whiteside, C. H., Fluckiger, H. B., & Sarett, H. P. (1965). Plasma and liver cholesterol levels in chicks fed medium chain triglycerides (MCT) and cholestyramine. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 118(1), 77-79.
- Williams, C. M. (2013). Revisión del desarrollo avícola. *FAO, Queensland, Australia*.



9. Anexos

9. ANEXOS

A.1. Ecuación de la recta para determinación de glucosa Método DNS

Ecuación de la recta. Método DNS		
Intersección	Pendiente	Coefficiente R²
0.090	0.0087	0.97

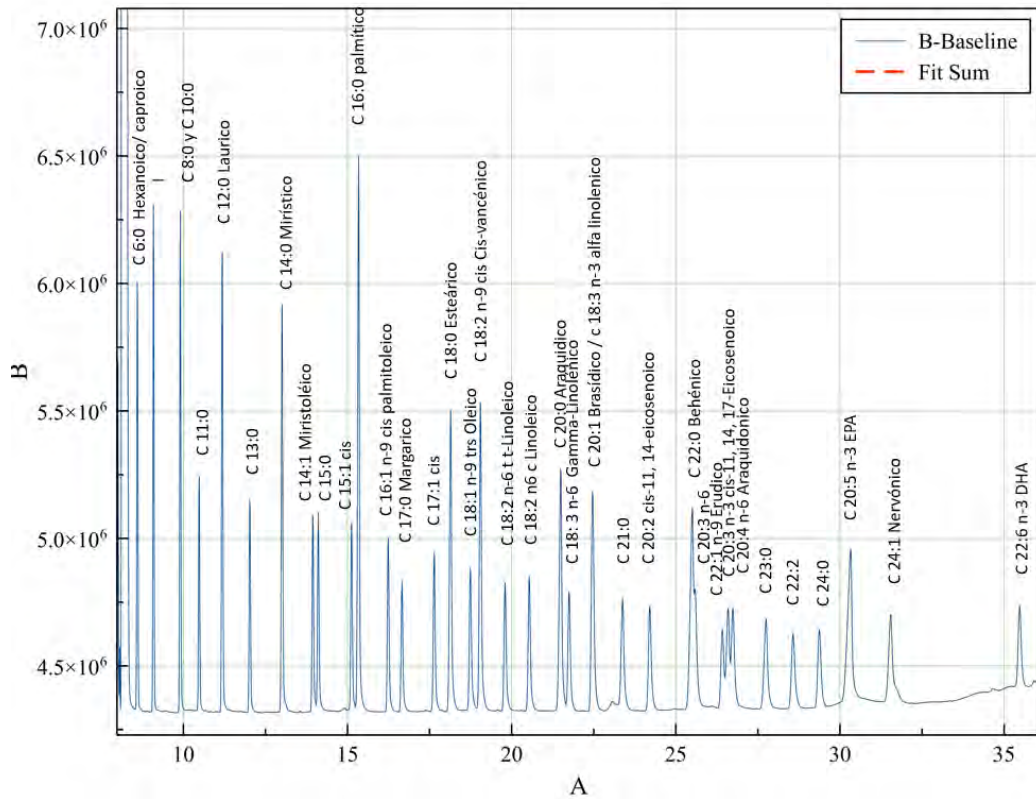
A.2. Ecuación de la recta para determinación de minerales

Ecuación de la recta de minerales			
Mineral	Interacción	pendiente	Coefficiente R²
Ca	1543.90	6761.11	0.98
Cu	3049.79	29090.84	0.99
Fe	299.13	7165.80	0.99
Mg	1056.04	52975.67	0.99
Mn	1238.11	54948.73	0.99
Ni	-28.70	3504.58	0.99
Se	20.60	220.04	0.99
Zn	61.45	2066.30	0.99
Na	49243.49	174793.41	0.98
P	110.24	277.92	0.99
K	-49958.26	151917.84	0.99

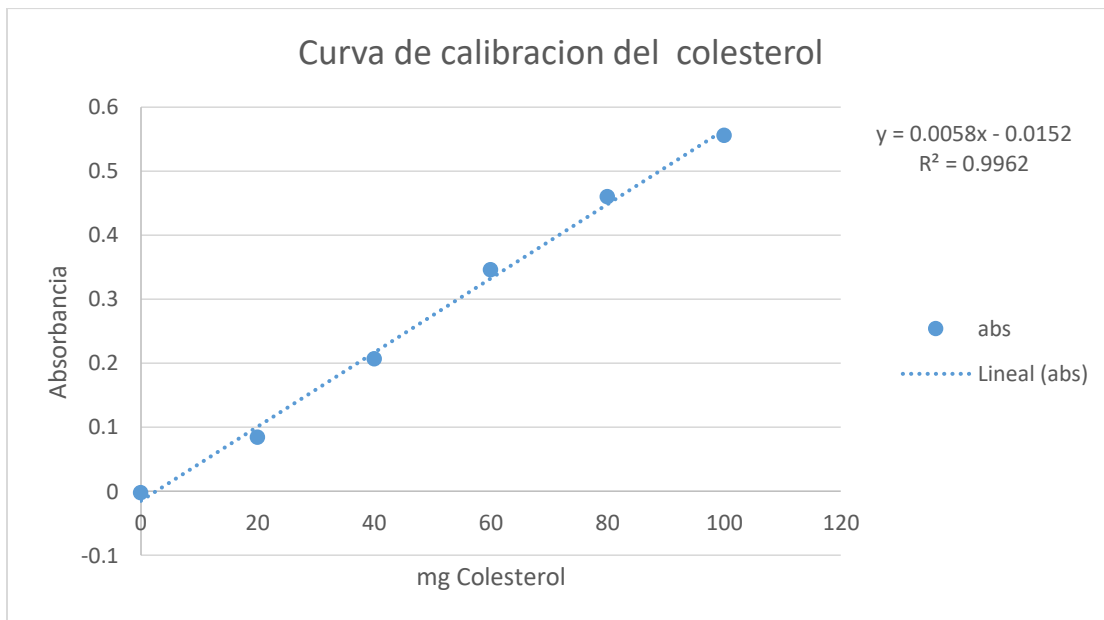
A.3. Ecuacion de la recta para determinación de acidos grasos

Ácido graso	Pendiente	Intersección	Coefficiente R ²
c:4	321.340824	6.36652714	0.99861711
I			
c6	475.21171	-1.45317569	0.99946786
c8	327.135604	4.68636419	0.99505987
c10	332.670893	4.68636419	0.99505987
c 11	696.572938	-3.06779033	0.99998969
c12	271.375647	-0.0680102	0.99942076
c13	567.955218	-1.60058574	0.99988373
c 14	684.265644	-4.23283503	0.9998404
c 14:1	522.712358	12.8935649	0.98821351
c15:0	928.243582	17.2853416	0.99174759
c 15:1 cis	551.645748	3.38510432	0.99726643
c 16	170.087513	13.1567847	0.98911756
c16:1	556.970842	7.30721784	0.99455594
c 17	661.038816	6.70754605	0.99487008
c17:1	559.704507	3.82671834	0.99666131
c18:0	565.30126	-1.16555998	0.99939773
c18:1 n9 trans	480.400754	9.27654796	0.9901268
c18:1 n9 cis	229.96742	8.91327763	0.98976237
c18:2 n6 trans	474.714732	8.89282704	0.98965358
c18:2 n6 cis	781.976613	10.6856533	0.99239792
c 20:0	289.707148	3.82658692	0.99709497
c 18: 3 n6	430.223478	0.99387568	0.9991342
c18:3 n3	428.209977	1.27834696	0.99880221
c20:1	423.080485	1.27834696	0.99880221
c 21:0	373.585837	4.41356032	0.99474385
cis 11, 14 c20:2	338.375812	0.2320285	0.99920389
c20:3 n6	558.430261	1.7192161	0.99888847
c 22:1 n9	1104.02606	1.7192161	0.99888847
c20:3 n3	1112.01091	3.11510702	0.99928562
c20:4 n6	1218.10997	3.11510702	0.99928562
c23	356.893461	3.77897055	0.99536214
c 20:4	334.282332	0.3749724	0.99918713
c22:2	485.191445	1.36497786	0.99859119
c 24	241.473001	2.53223035	0.99813939
c20:5 n3	260.7661	-0.13955291	0.99943822
c24	286.341177	-0.04716701	0.99944191
c 22:6 n3	0.45510294	1.63409567	0.99838363

A.4. Cromatograma del estándar de ácidos grasos



A.5. Ecuacion de la recta para determinación de colesterol



A.6. Fichas de cata utilizadas para la prueba Triangular



Ficha de cata prueba triangular



Nombre: _____ Edad: _____ Fecha: _____

Producto: **Huevo cocido**

Instrucciones: Ante usted hay tres muestras de huevo, dos de ellas son iguales entre sí. Pruebe de izquierda a derecha e indique con una **X** cuál es la muestra diferente.

MUESTRAS _____ _____ _____

¿Cuál de las muestras prefiere? _____

Comentarios _____

MUCHAS GRACIAS



Ficha de cata prueba triangular



Nombre: _____ Edad: _____ Fecha: _____

Producto: **Huevo revuelto**

Instrucciones: Ante usted hay tres muestras de huevo, dos de ellas son iguales entre sí. Pruebe de izquierda a derecha e indique con una **X** cuál es la muestra diferente.

MUESTRAS _____ _____ _____

¿Cuál de las muestras prefiere? _____

Comentarios _____

MUCHAS GRACIAS

A.7. Fichas de cata utilizadas para la prueba de nivel de agrado



Ficha de cata prueba de nivel de agrado



Nombre: _____ Edad: _____ Fecha: _____

Producto: **Huevo cocido**

Instrucciones: Observe y pruebe la muestra de huevo cocido que se le presenta e indique según la escala, su opinión sobre ella.

- | |
|--|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. Me gusta mucho 2. Me gusta 3. Me gusta ligeramente 4. Ni me gusta ni me disgusta 5. Me disgusta ligeramente 6. Me disgusta 7. Me disgusta mucho |
|--|

		Muestra
		Código
HUEVO	Características	
Crudo	Color de la yema	
Cocido	Color	
	Olor	
	Sabor	
	Textura	
En general, ¿Qué tanto te gusta o disgusta la muestra?		

Comentarios _____

MUCHAS GRACIAS



Ficha de cata prueba de nivel de agrado



Nombre: _____ Edad: _____ Fecha: _____

Producto: **Huevo revuelto**

Instrucciones: Observe y pruebe la muestra de huevo revuelto que se le presenta e indique según la escala, su opinión sobre ella.

1. Me gusta mucho
2. Me gusta
3. Me gusta ligeramente
4. Ni me gusta ni me disgusta
5. Me disgusta ligeramente
6. Me disgusta
7. Me disgusta mucho

		Muestra
		Código
HUEVO	Características	
Revuelto	Color	
	Olor	
	Sabor	
	Textura	
En general, ¿Qué tanto te gusta o disgusta la muestra?		

Comentarios _____

MUCHAS GRACIAS

A.8. Resultados de la prueba triangular

Número de aciertos obtenidos en la prueba triangular para huevo cocido				
	B		B'	
Juez	Sesión 1	Sesión 2	Sesión 1	Sesión 2
1	0	1	0	0
2	0	0	0	1
3	0	0	1	0
4	0	0	0	0
5	0	1	0	0
6	1	0	1	0
7	0	1	0	1
8	0	1	1	1
9	0	0	0	0
10	0	1	0	1
11	0	0	0	0
12	0	0	0	0
13	1	0	0	1
14	0	0	0	0
15	0	0	0	1
Respuestas correctas	2	5	3	6
Total Respuestas correctas	7		9	

Número de aciertos obtenidos en la prueba triangular para huevo revuelto				
	B		B'	
Juez	Sesión 1	Sesión 2	Sesión 1	Sesión 2
1	0	0	1	1
2	1	1	0	0
3	0	0	0	1
4	0	0	0	0
5	0	1	1	0
6	0	0	0	1
7	0	0	0	1
8	0	0	1	1
9	0	0	0	0
10	1	0	1	0
11	1	0	0	1
12	0	1	1	0
13	0	1	1	0
14	0	0	0	0
15	0	1	0	1
Respuestas correctas	3	5	6	7
Total Respuestas correctas	8		13	

A.9. Escala e interpretación de resultados prueba de nivel de agrado

Escala hedónica y sus valores para la interpretación de resultados		
Escala	Valores de fichas	Valores de interpretación
Me gusta mucho	1	+3
Me gusta	2	+2
Me gusta ligeramente	3	+1
Ni me gusta ni me disgusta	4	0
Me disgusta ligeramente	5	-1
Me disgusta	6	-2
Me disgusta mucho	7	-3

A.10. Resultados de la prueba de nivel de agrado

Resultados de la prueba hedónica de las diferentes presentaciones de huevo de los 3 tratamientos.				
Huevo	Característica	F_c	≥, =, ≤	F_t
Crudo	Color	1.71	<	19.48
Cocido	Color	1.14	<	
	Olor	1.67	<	
	Sabor	1.09	<	
	Textura	0.0015	<	
Revuelto	Color	0.13	<	
	Olor	1.53	<	
	Sabor	0.25	<	
	Textura	1.19	<	