

Efecto del aceite esencial de *Lippia origanoides* Kunth en la estabilidad oxidativa de huevos almacenados

Ortiz, R.E.¹; Vásquez, D.¹; Afanador, G.² y Ariza, C.¹

¹Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – CORPOICA. Mosquera, Cundinamarca. Colombia.

²Departamento de Producción Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Colombia.

RESUMEN

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Ácidos grasos poliinsaturados.
Antioxidante.
Malonaldehído.
Ponedoras.
Timol.

El objetivo de este estudio fue evaluar la inclusión de aceite esencial de orégano (AEO) *Lippia origanoides* Kunth en dietas enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) sobre la estabilidad de huevos durante el almacenamiento. Un total de 216 ponedoras fueron aleatorizadas a uno de seis tratamientos (dietas): 1) Dieta basal con 2% de aceite de *Elaeis guineensis* (CONTP), 2) Dieta basal con 2% de aceite de pescado (CONT), 3) Dieta basal con aceite de pescado y 200 g/t de vitamina E (VITE), 4) Dieta basal con aceite de pescado y 100 g/t AEO (O100), 5) Dieta basal con aceite de pescado y 150 g/t AEO (O150), 6) Dieta basal con aceite de pescado y 200 g/t AEO (O200). Al final del periodo de alimentación, se colectaron 14 huevos de cada una de las réplicas, para un total de 504 huevos. Setenta y dos huevos fueron usados para evaluar el estado inicial de oxidación lipídica y los huevos restantes fueron almacenados a 4°C y -10°C, para realizar el análisis del contenido de malonaldehído MDA en la yema a los 15, 30 y 60 días de almacenamiento. Los datos fueron analizados como un diseño completamente al azar con arreglo factorial 6 x 2; Factor A dieta, Factor B temperatura (4°C y -10°C) con arreglo de medidas repetidas en el tiempo por el día de almacenamiento (15, 30 60 días). La prueba de Tukey fue usada para comparar diferencias entre medias ($p < 0,05$). Por efecto de la temperatura de almacenamiento se encontró que el almacenamiento a -10°C mostró un valor más bajo de MDA comparado con los huevos a 4°C. En las dos temperaturas, el grupo CONTP tuvo la menor concentración de MDA (24,1 and 28,4 ng de MDA/g de yema, respectivamente). A 4°C, los huevos de los tratamientos VITE, O150 y O200 (38,7, 41,4, 38,6 ng MDA/g de yema, respectivamente) mostraron similar ($p > 0,05$) concentración de MDA en la yema, mostrando una mejor estabilidad oxidativa ($p < 0,05$) en comparación con CONT y O100 (50,6 y 48,3 ng MDA/g de yema, respectivamente). En la yema de los huevos frescos y almacenados por 60 días a 4°C se presentó una relación inversa entre el AEO en la dieta y la concentración de MDA en la yema de huevo ($Y = 60,5 - 0,08AEO$; $R^2 = 0,7028$; $p < 0,0001$ y $Y = 47,3 - 0,09 AEO$; $R^2 = 0,8569$; $p < 0,0001$, respectivamente). Se puede concluir que hay un efecto claro del AEO suplementado en dietas enriquecidas con ácidos grasos $\omega-3$ sobre la estabilidad oxidativa de huevos durante su almacenamiento.

Effect of *Lippia origanoides* Kunth essential oil on the oxidative stability of eggs during storage

ADDITIONAL KEYWORDS

Polysaturated fatty acids.
Antioxidant.
Malonaldehyde.
Layers hens.
Thymol.

SUMMARY

The aim of this work was to evaluate the inclusion of oregano essential oil (OEO) *Lippia origanoides* Kunth in diets enriched with polyunsaturated fatty acids (PUFA) on oxidative stability of eggs during storage. A total of 216 layer hens were randomly assigned of one of six treatments: 1) Basal diet with 2% of (*Elaeis guineensis*) palm oil (CONTP), 2) Basal diet with 2% of fish oil (CONT), 3) Basal diet with fish oil and 200 g/t of vitamin E (VITE), 4) Basal diet with fish oil and 100 g/t AEO (O100), 5) Basal diet with fish oil and 150 g/t AEO (O150), 6) Basal diet with fish oil and 200 g/t AEO (O200). At the end of the period, 14 freshly eggs from each replicate were collated, totaling 504 eggs. Seventy-two eggs were used to evaluate the initial state of the lipid oxidation and the remaining were storage at 4°C and -10°C, and analyzed for malondialdehyde (MDA) levels in yolk at 15, 30 and 60 days of storage. Data were analyzed as a completely randomized factorial design 6 x 2; Factor A dietary treatment, Factor B temperature (4°C and -10°C) with repeated measures of days of storage (15, 30 60 days). Tukey method was used to compared means ($p < 0,05$). The effect of storage temperature showed that the MDA value was lower in the eggs stored at -10°C compared to 4°C. In both temperatures, the CONTP group exhibited the lower MDA value (24.1 and 28.4 ng de MDA/g of yolk, respectively). At 4°C, the treatments VITE, O150 O200 (38.7, 41.4, 38.6 ng MDA/g of yolk, respectively) showed similar ($p > 0,05$) MDA value in egg yolk, showing better oxidative stability ($p < 0,05$) compared to CONT and O100 (50.6 y 48.3 ng MDA/g of yolk, respectively). In the yolk of fresh eggs and stored during 60 days at 4°C, there was an inverse relationship between level of OEO in the diet and MDA concentration in the egg yolk ($Y = 60.5 - 0.08 OEO$; $R^2 = 0.7028$; $p < 0.0001$ and $Y = 47.3 - 0.09 OEO$; $R^2 = 0.8569$; $p < 0.0001$, respectively). It can be concluded that there is a clear oxidative stability effect of OEO supplementation in n-3 fatty acids enriched eggs during storage.

INFORMACIÓN

Cronología del artículo.
Recibido/Received: 03.02.2015
Aceptado/Accepted: 09.09.2016
On-line: 15.01.2017
Correspondencia a los autores/Contact e-mail:
rortiz@corpoica.org.co

INTRODUCCIÓN

El huevo es considerado uno de los alimentos naturales más completos por su equilibrada proporción de proteínas, carbohidratos, grasa, minerales y vitaminas (Lozano, 2012); sin embargo, el consumo de este alimento se ha visto afectado por la asociación que se ha dado entre el consumo excesivo de grasas saturadas y colesterol con el riesgo de padecer enfermedades coronarias y el desarrollo de algunas formas de cáncer (Hargis *et al.*, 1991; Simopoulos, 2000). Por su función biológica un huevo alcanza entre 200 a 250 mg de colesterol por unidad y los intentos por modificar su concentración no han sido exitosos sin ocasionar efectos negativos sobre los parámetros productivos de las ponedoras, especialmente en el tamaño del huevo (Leeson y Zubair, 1996). El enriquecimiento de huevos con nutrientes específicos como los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) a través de la dieta ofrecida a las ponedoras se ha implementado como una estrategia de reducción de la imagen negativa ante los consumidores respecto a los ácidos grasos (AG). Se ha buscado promover el incremento de los contenidos de AGPI de las familias ω -6 y ω -3, considerados como ácidos esenciales, ya que no pueden ser sintetizados por el cuerpo humano y desempeñan funciones vitales del organismo (FAO, 1997), razón por la cual deben ser suministrados en la dieta (Castro, 2002). Los AGPI de cadena larga como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) son de importancia en el desarrollo del cerebro y la retina durante la gestación y en los primeros años de vida de los niños, tienen propiedades hipocolesterolemicas y ayudan en la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares, inmunológicas, diabetes, enfermedades del sistema nervioso, cáncer de colon y reducen los procesos inflamatorios entre otras. Los compuestos sintetizados a partir de las familias ω -6 y ω -3 tienen efectos opuestos: el ácido araquidónico (ARA) y linoleico (LA), principales representantes de la serie ω -6, son precursores de prostaglandinas y tromboxanos de la serie 2 y de leucotrienos de la serie 4, potentes vasoconstrictores y favorecen la formación de trombos, procesos inflamatorios y adherencias plaquetarias, mientras que el EPA (ω -3) es precursor de prostaglandinas y tromboxanos de la serie 3, que tienen efecto vasodilatador y reducen la formación de trombos (Castro, 2000; FAO, 1997).

En dietas de ponedoras se ha empleado la inclusión de aceites de pescado y vegetales como fuente de enriquecimiento de los huevos con AGPI. Hargis *et al.*, (1991) reportaron que el perfil lipídico de los huevos de gallinas alimentadas con 3% de aceite de pescado fue diferente que el de aves suplementadas con aceite de lino, observándose incrementos de 3,5 y 0,52%, de los ácidos DHA y EPA, respectivamente con el uso de pescado. Sin embargo, el aumento en el contenido de AGPI en la yema de huevo promueve la susceptibilidad a la oxidación lipídica, razón por la cual, en la industria de alimentos balanceados los antioxidantes sintéticos o de origen natural se han considerado para retardar el efecto degradativo de este fenómeno sobre alimentos enriquecidos (Yannakopoulos *et al.*, 2005). Por la relación que han mostrado los compuestos sintéticos con procesos cancerígenos (Hirose *et al.*, 1986)

los extractos vegetales particularmente de la familia *Labiatae* como romero, tomillo y orégano han cobrado interés como sustitutos de este tipo de antioxidantes (Baratta *et al.*, 1998; Botsoglou *et al.*, 2002; Botsoglou *et al.*, 2005; Radwan *et al.*, 2008).

En modelos *in vitro* (Dorman y Deans, 2000) e *in vivo* (Young *et al.*, 2003) el aceite esencial de orégano (AEO) demostró su efectividad como antioxidante natural al compararse con los sintéticos. Economou *et al.*, (1991) reportaron que comparado con los aceites esenciales de tomillo, el AEO mejoró la estabilidad del sebo almacenado. En ensayos con animales, el orégano (*Origanum spp.*), como aceite esencial o material vegetal seco, se ha usado en dietas de pollo de engorde (Botsoglou *et al.*, 2003), pavos (Florou-Paneri *et al.*, 2005b) y ponedoras (Cabuk *et al.*, 2006; Florou-Paneri *et al.*, 2005a; Orhan y Eren, 2011; Radwan *et al.*, 2008), sin efecto negativo sobre el desempeño productivo de los animales suplementados con inclusiones hasta de 200 mg de AEO/kg o 1% de la dieta en hojas secas. Bernal *et al.*, (2003) evaluaron la estabilidad oxidativa en huevos de ponedoras alimentadas con dietas que tenían semilla de linaza molida como fuente de enriquecimiento con AGPI y que incluían una mezcla de antioxidantes sintéticos (Inclusión de 100 mg/kg de Butilhidroxianisol – BHA y 100 mg/kg de Butilhidroxitolueno – BHT), o una de dos posibilidades de antioxidante natural, orégano (200 mg/kg) o romero (200 mg/kg), ellos reportaron que el uso de antioxidantes sintéticos o naturales, disminuyeron la concentración de malonaldehído (MDA) como indicador del grado de peroxidación lipídica, sugirieron una relación directa entre el aumento del contenido de MDA en yema de huevo y el tiempo de almacenamiento en huevos enriquecidos con AGPI, sin importar el tipo de antioxidante empleado en la dieta. Botsoglou *et al.*, (2005), compararon dietas con acetato α -tocoferol basal y suplementadas con acetato de α -tocoferol adicional (200 mg/kg) y material vegetal seco molido a 2 mm de romero (5 g/kg), orégano (5 g/kg) y azafrán (20 mg/kg), ellos encontraron diferencias significativas por efecto del tratamiento, donde el grupo control presentó la menor estabilidad oxidativa, mientras que las dietas con α -tocoferol presentaron la menor concentración de MDA en yema, seguidas del azafrán, los grupos con orégano y romero no mostraron diferencias significativas entre ellos y presentaron una concentración de MDA mayor comparado con α -tocoferol y azafrán. Florou-Paneri *et al.* (2005), realizaron un trabajo similar, ellos trabajaron en gallinas de 32 semanas de edad alimentadas por 60 días con una dieta control, una dieta suplementada con 200 mg/kg de vitamina E y dos niveles de suplementación con aceite esencial de orégano (50 y 100 mg/kg), encontrando diferencias significativas para la estabilidad oxidativa por efecto del tratamiento, el grupo control presentó una mayor oxidación en comparación con la dosis más baja de orégano, que a su vez presentó un mayor grado de oxidación lipídica respecto a la dosis más alta, la vitamina E presentó el menor contenido de MDA en comparación con los otros tratamientos, de estos resultados, ellos sugirieron que el AEO ejerce una actividad antioxidante dependiente de la dosis en la dieta. Radwan *et al.* (2008) evaluaron dietas experimentales con cuatro tipos de hierbas (Orégano, romero,

tomillo y cúrcuma) como antioxidantes naturales en dos niveles (0,5% y 1%) y las compararon con dietas suplementadas con 100 y 200 mg/kg de vitamina E y una dieta control sin vitamina E, concluyendo que la adición de 1% de orégano o romero o 0,5% y 1% de cúrcuma redujeron en forma significativa la formación de MDA en la yema de huevo y mostraron un efecto positivo sobre la estabilidad oxidativa de los huevos en almacenamiento. El AEO (*Lippia origanoides* Kunth) proveniente del Alto Patía, de los departamentos de Nariño y Cauca en Colombia, es característico respecto a otros quimiotipos de orégano, ya que su composición es predominante en timol (entre 67,2% y 78,7%) y baja en carvacrol (entre 0,9% y 1,2%) (Ariza *et al.*, 2011). El timol se caracteriza por tener mayor impedimento estérico comparado con el carvacrol (Yanishlieva *et al.*, 1999), razón por la cual, el aceite esencial proveniente de *Lippia origanoides* Kunth, presenta una mayor capacidad antioxidante; sin embargo, se desconocen los efectos del mismo sobre la estabilidad oxidativa de huevos enriquecidos. Por este motivo el objetivo del presente trabajo fue la evaluación del AEO (*Lippia origanoides* Kunth) en dietas enriquecidas con AGPI sobre la estabilidad oxidativa de huevos en almacenamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

UBICACIÓN

El estudio se realizó en la unidad de Avicultura del Centro de Investigación Tibaitatá de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA), ubicado en el kilómetro 14 vía Mosquera en el occidente de la sabana del departamento de Cundinamarca, a 2516 metros sobre el nivel del mar, la temperatura promedio se ubica entre 12°C y 14°C.

ANIMALES Y DIETAS

Se utilizaron 216 ponedoras de la línea Babcock Brown de 47 semanas de edad alojadas individualmente en jaulas de postura. Las ponedoras se asignaron aleatoriamente a uno de seis tratamientos, con seis réplicas por tratamiento y seis ponedoras por réplica. Atendiendo a los requerimientos nutricionales reportados por Rostagno (2005) para ponedoras en producción, se usó la herramienta Solver de Excel® para formular dos dietas basales con la inclusión de aceite de *Elaeis guineensis* como fuente de ácidos grasos saturados (AGS) o pescado como fuente de AGPI (tabla I). Desde las dietas basales, se definieron los siguientes tratamientos: 1) Dieta basal con 2% de aceite de *Elaeis guineensis* (CONTP), como control absoluto; 2) Dieta basal con 2% de aceite de pescado (CONT), como control negativo a la per oxidación lipídica; 3) Dieta basal con aceite de pescado más 200 g/t de vitamina E (VITE), como aditivo de referencia por efecto antioxidante y para determinar el efecto del AEO sobre la reducción del proceso de per oxidación lipídica se usaron las siguientes dietas con tres niveles diferentes del aceite esencial *Lippia origanoides* Kunt, 4) Dieta basal con aceite de pescado con la adición de 100 g de AEO/t (O100); 5) Dieta basal con aceite de pescado y la inclusión de 150 g de AEO/t (O150) y 6) Dieta basal con aceite de pescado con la inclusión de 200 g de AEO/t (O200). Diariamente

se ofrecieron 120 g de dieta a cada ave, en forma de harina y 2 g de carbonato de calcio grueso en el comedero. Durante el ensayo el suministro de agua fue a voluntad.

RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

El experimento se realizó durante ocho semanas. En la última semana se pesaron y clasificaron los huevos producidos; de ellos se seleccionaron de forma homogénea por peso, 14 huevos por réplica, lo que representó un total de 504 huevos (27,6% del total de huevos de la última semana del experimento). Para valorar el estado inicial de la oxidación lipídica, de los huevos recogidos, se tomaron dos huevos por réplica, las yemas frescas se separaron y almacenaron a -20°C hasta la realización de los análisis de estabilidad oxidativa previa liofilización. Los huevos restantes fueron empleados para valorar la estabilidad oxidativa en el almacenamiento a 4°C y -10°C durante 15, 30 y 60 días, las temperaturas se definieron como referencia a las condiciones usualmente empleadas en el almacenamiento de los huevos y los tiempos se establecieron para estimar el potencial de los antioxidantes considerados para retardar los procesos oxidativos con tiempos prolongados de almacenamiento. Para cada tiempo de almacenamiento se repitió el procedimiento de separación y almacenamiento de la yema de dos huevos por réplica realizada con los huevos iniciales.

Determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs) en la yema de huevo: El MDA es un producto secundario de la degradación lipídica usado como indicador del grado oxidativo de muestras biológicas. Su cuantificación se fundamenta en la reacción con ácido tiobabítúrico (TBA). Para la realización de este procedimiento se siguió el protocolo para la determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs) adaptado por el laboratorio de nutrición animal de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA). Para este procedimiento se tomó un gramo de yema liofilizada, se homogenizó en tubos falcón de 50 ml con nueve mililitros de solución TCA (ácido tricloroacético) al 5% y cinco mililitros de solución de butilhidroxitolueno (BHT) al 0,8%. El homogenizado se centrifugó por cinco minutos a 3000 revoluciones por minuto y se descartó la fase hexano, en un tubo de ensayo se tomó una alícuota de 2,5 ml de la fase acuosa y se le adicionó 1,5 ml de TBA al 0,8%, se llevó a vórtex por 10 segundos y luego se realizó la incubación por 30 minutos a 70°C. Finalmente se realizó un baño con agua de la llave para detener la reacción química, las muestras se agitaron en vórtex para posterior lectura a una longitud de onda de 532 nm (Lector de microplacas Sinergy HT).

Análisis estadístico: La evaluación de la estabilidad oxidativa se realizó mediante un diseño completo al azar con arreglo factorial 6x2 (Seis dietas y dos temperaturas de almacenamiento) con arreglo de medidas repetidas en el tiempo debidas al almacenamiento. El modelo utilizado fue el siguiente:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \rho_j + \theta_k + (\tau_i \cdot \rho_j) + (\tau_i \cdot \theta_k) + (\rho_j \cdot \theta_k) + (\tau_i \cdot \rho_j \cdot \theta_k) + o_{ij} + e_{ij}$$

y_{ij} = MDA en la yema de huevo (ng/g de yema).

μ = media general.

τ_i = efecto del tratamiento.

ρ_j = efecto de la temperatura de almacenamiento (4-1°C).

θ_k = efecto del tiempo de almacenamiento (15, 30 y 60 días).

$(\tau_i \cdot \rho_j); (\tau_i \cdot \theta_k); (\rho_j \cdot \theta_k); (\tau_i \cdot \rho_j \cdot \theta_k)$ = efecto de las interacciones.

o_{ij} = error aleatorio entre aves (réplicas).

e_{ij} = error aleatorio dentro de aves (medidas repetidas).

Para la selección de la estructura varianza/covarianza que mejor se ajustó a los datos se evaluaron las estructuras Simetría compuesta – CS, Simetría compuesta heterogénea – CSH, ANTE(1), Sin estructura – UN. La definición de los factores significativos del modelo se realizó con el algoritmo de máxima verosimilitud restringida (REML). La comparación de medias se realizó por la prueba de comparación múltiple de Tukey ($p < 0,05$). Los análisis estadísticos se realizaron con el procedimiento GLIMMIX del paquete estadístico SAS (SAS versión 9.3, 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados registrados en la **tabla II**, se puede establecer que hubo efecto del tratamiento, la temperatura de almacenamiento, la interacción Tratamiento x Temperatura y Temperatura x Día sobre la concentración de MDA como indicador de la estabilidad oxidativa en la yema de huevos de gallina. El comportamiento de la estabilidad oxidativa de huevos almacenados por efecto de la interacción entre el tratamiento y la temperatura de almacenamiento se muestra en la **figura 1**. Los huevos almacenados a -10°C presentaron menor concentración de MDA (29,8 ng/g de yema de huevo) en comparación con los almacenados a 4°C (40,9), excepto para el tratamiento con aceite de palma que presentó un valor similar a los valores obtenidos en los huevos almacenados a la temperatura más baja.

La concentración de MDA en las yemas de los huevos almacenados a -10°C mostró un comportamiento complejo en función de los diferentes tratamientos suministrados a las gallinas en el experimento. No se presentaron diferencias significativas entre CONT (30,6 ng de MDA/g de yema), VITE (30,5 ng de MDA/g de yema), O100 (30,3 ng de MDA/g de yema) y O150 (33,2 ng de MDA/g de yema) y entre CONT, O100 y O200 (24,1 ng de MDA/g de yema), pero sí entre CONTP (24,1 ng de MDA/g de yema), que presentó el menor valor de MDA en la yema respecto a los demás tratamientos y entre VITE, O150 y O200 (30 ng de MDA/g de yema). A esta temperatura, se observó que la única diferencia que se identificó en los valores promedio para las yemas de los tratamientos que tuvieron AEO, fue entre O150 y O200.

A 4°C persiste el nivel de complejidad del comportamiento de la concentración de MDA en las yemas de huevos de las gallinas que recibieron los diferentes tratamientos. A esta temperatura no hubo diferencias

Tabla I. Composición centesimal y nutricional de las dietas basales con aceite de palma y de pescado (Centesimal and nutritional composition of diets with *Elaeis guineensis* oil and fish oil).

Ingrediente	Dieta basal con aceite de palma	Dieta basal con aceite de pescado
Maíz	53,06	53,06
Harina de arroz	6,0	6,0
Torta soya – 49%	21,0	21,0
Soya extruida	5,0	5,0
Harina pescado	1,0	1,0
Aceite	2,0	2,0
Carbonato de calcio	9,0	9,0
Fosfato tricálcico	1,61	1,61
Cloruro de sodio	0,3	0,3
Bicarbonato de sodio	0,5	0,5
DL – Metionina	0,16	0,16
Cloruro colina – 60%	0,07	0,07
Premezcla minerales y vitaminas	0,30	0,30
Análisis estimado		
EMAn (Mcal/kg) ¹	2,80	2,80
Proteína cruda (%) ²	18,79	18,90
Extracto Etéreo (%) ²	8,44	7,60
Calcio (%)	4,20	4,20
Fósforo Disponible (%)	0,49	0,49
Extracto Etéreo digestible (%)	3,65	3,65
Mirístico (%)	0,03	0,17
Palmítico (%)	1,2	1,58
Palmitoleico (%)	0,01	0,19
Esteárico (%)	0,18	0,28
Oleico (%)	1,56	1,88
Linoleico (%)	1,84	1,88
Linolénico (%)	0,11	0,13
C>20 (%)	0,04	0,46
Saturados (%)	1,41	2,03
Monoinsaturados (%)	1,57	2,07
Polinsaturados (%)	1,99	2,47

¹Energía Metabolizable Aparente corregida por nitrógeno; ²Determinación realizada mediante espectrofotometría de infrarrojo cercano (NIRS); ³Perfil de ácidos grasos expresado como porcentaje del extracto etéreo digestible.

significativas entre los tratamientos CONT (50,6 ng MDA/g de yema) y O100 (48,3 ng MDA/g de yema), que mostraron las concentraciones más altas de MDA y entre VITE (38,7 ng MDA/g de yema), O150 (41,4 ng MDA/g de yema) y O200 (38,6 ng MDA/g de yema), tratamientos que tuvieron una concentración mayor de MDA por gramo de yema en comparación con el tratamiento CONTP. Al comparar los tratamientos que incluyeron AEO, las gallinas que recibieron 100 g/t produjeron huevos con mayores concentraciones de MDA que con 150 y 200 g/t, pero no parece ser que en 150 y 200 g/t se haya afectado esta concentración. Hubo

diferencia general entre CONTP (28,4 ng MDA/g de yema) con todos los tratamientos y diferencias específicas entre CONT con VITE, O150 y O200.

En la yema de huevos frescos ($Y = 60,5 - 0,08AEO$; $R^2 = 0,7028$; $p < 0,0001$) y almacenados a 4°C por 60 días ($Y = 47,3 - 0,09AEO$; $R^2 = 0,8569$; $p < 0,0001$) se encontró respuesta lineal inversa y significativa entre el nivel de AEO en la dieta y la concentración de MDA. En ambos casos se puede establecer la reducción de 0,08 y 0,09 ng de MDA por cada gramo de AEO incluido en la dieta.

Los resultados de la concentración de MDA para la interacción Temperatura x Día de almacenamiento a las dos temperaturas evaluadas, se muestran en la figura 2. A -10°C fue mayor (31,8 ng) la concentración de MDA a los 15 días, reduciéndose a los 30 (28,7 ng) y 60 (29 ng) días sin que se haya presentado diferencia en estos dos últimos tiempos de almacenamiento. A 4°C fue diferente el comportamiento de la concentración de MDA, en los dos primeros tiempos de almacenamiento

Tabla II. Efecto del tratamiento, la temperatura, el tiempo de almacenamiento y las interacciones entre estos factores sobre el contenido de malonaldehído (Valores expresados en ng de MDA/g de yema de huevo de gallina) (Effect of treatment, temperature, storage time and interactions between factors on the malonaldehyde concentration (Expressed in ng of MDA/g of yolk egg).

Efecto	Contenido de MDA
Tratamiento ¹	
CONTP	26,20
CONT	40,60
VITE	34,40
O100	39,50
O150	35,80
O200	34,40
ESM ²	0,8362
Valor-P	<0,0001
Temperatura (°C)	
4	40,90
-10	29,80
ESM	0,5173
Valor-P	<0,0001
Tiempo (Días)	
15	34,80
30	34,50
60	36,90
ESM	0,6446
Valor-P	0,0111
Interacciones	
Tratamiento*Temperatura	<0,0001
Tratamiento*Día	0,0868
Temperatura*Día	<0,0001

CONTP: Dieta control con inclusión de 2% de aceite *Elaeis guineensis*; CONT: Dieta control con inclusión de 2% de aceite de pescado; VITE: Dieta control con 2% de aceite pescado + 200 g/t de vitamina E; O100: Dieta control con 2% de aceite pescado + 100 g/t de AEO; O150: Dieta control con 2% de aceite pescado + 150 g/t de AEO; O200: Dieta control con 2% de aceite pescado + 200 g/t de AEO.
ESM: Error estándar de la media.

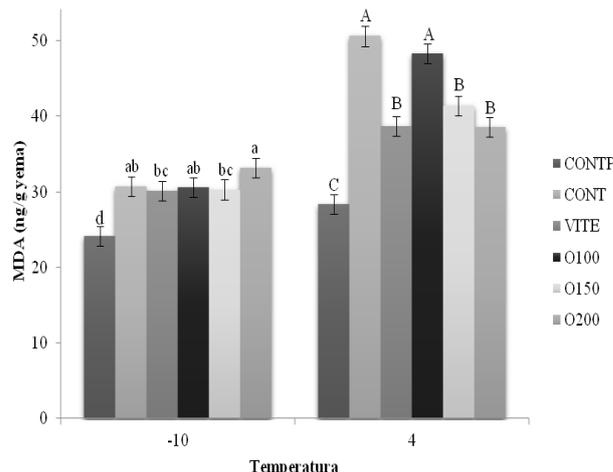


Figura 1. Efecto de la interacción Tratamiento*Temperatura sobre la cantidad de malonaldehído como indicador de la estabilidad oxidativa de huevos frescos (Efecto separado por temperatura, $p < 0,0001$; Letras minúsculas diferentes indican diferencias entre medias a -10°C y letras mayúsculas diferentes indican diferencias entre medias a 4°C). CONT: Dieta control con inclusión de 2% de aceite de pescado; VITE: Dieta control con 2% de aceite pescado + 200 g/t de vitamina E; O100: Dieta control con 2% de aceite pescado + 100 g/t de AEO; O150: Dieta control con 2% de aceite pescado + 150 g/t de AEO; O200: Dieta control con 2% de aceite pescado + 200 g/t de AEO; ESM: Error estándar de la media (Effect of the interaction treatment*temperature on the malonaldehyde level as reference of oxidative stability of fresh eggs (Separate effect by temperature, $p < 0,0001$; Different lowercase letters shows differences between means to -10°C and different capital letters shows differences between means to 4°C). CONTP: Basal diet with 2% of palm oil; CONT: Basal diet with 2% of fish oil; VITE: Basal diet with fish oil and 200 g/t of vitamin E; O100: Basal diet with fish oil and 100 g/t AEO; O150: Basal diet with fish oil and 150 g/t AEO; O200: Basal diet with fish oil and 200 g/t AEO).

no hubo diferencia (37,8 y 40,2 ng), pero a los 60 días se obtuvo el nivel más alto (45 ng; $p < 0,05$).

En la revisión de la documentación para este trabajo no se encontraron reportes en los que se haya evaluado el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la concentración de MDA en la yema de huevo de ponedoras alimentadas con dietas enriquecidas con AGPI y AEO como fuente antioxidante. En este trabajo las diferencias encontradas en las dos temperaturas usadas pueden ser el resultado de la relación existente entre la temperatura y las reacciones bioquímicas, puesto que los procesos biológicos son retardados en la medida que la temperatura es más baja. Por efecto del almacenamiento, a 4°C se observaron resultados contrastantes con los de Botsoglou *et al.*, (2005), Florou-Paneri *et al.*, (2005a) y Radwan *et al.*, (2008), quienes no encontraron diferencias significativas por efecto del almacenamiento hasta por 60 días; estas diferencias pueden ser el resultado de las dietas empleadas. En los estudios mencionados no se incluyó en la dieta alimentos ricos en AGPI, se trabajaron dietas comerciales maíz-soya, aspecto que pudo favorecer la estabilidad oxidativa en el almacenamiento de los huevos al tener menor posibilidad de presentar altas concentraciones de AGPI en la yema. En cuanto al efecto de los tratamientos, los

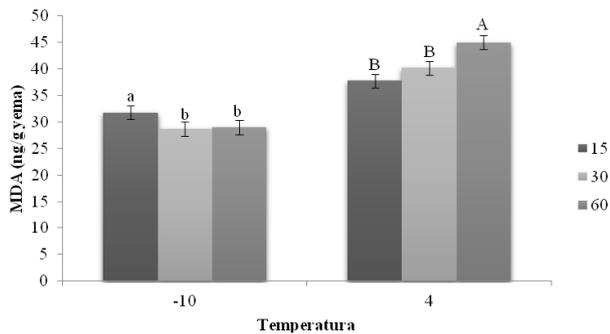


Figura 2. Efecto de la interacción Temperatura*Día sobre la cantidad de malonaldehído como indicador de la estabilidad oxidativa de huevos frescos (Efecto separado por temperatura, $p < 0,0001$; Letras minúsculas diferentes indican diferencias entre medias a -10°C y letras mayúsculas diferentes indican diferencias entre medias a 4°C) (Effect of the interaction temperature*day on the malonaldehyde level as reference of oxidative stability of fresh eggs (Separate effect by temperature, $p < 0,0001$; Different lowercase letters shows differences between means to -10°C and different capital letters shows differences between means to 4°C).

resultados concuerdan con los reportes de los mismos autores quienes registraron diferencias significativas por efecto de los tratamientos empleados. Los huevos de aves alimentadas con dietas sin la inclusión de aditivos antioxidantes presentaron menor estabilidad oxidativa, mientras que la mayor eficiencia de protección a la oxidación de la matriz lipídica se encontró en las dietas con Vitamina E (α -tocoferol) en niveles de inclusión hasta 200 g/t de alimento, respecto a los tratamientos con uso de hierbas secas o aceites esenciales de orégano. A 4°C los resultados de los autores citados difirieron de los obtenidos en este trabajo. Los niveles de 150 y 200 g de AEO/t mostraron una capacidad antioxidante similar al tratamiento con aceite de pescado y 200 g de vitamina E/t. En cuanto al efecto del nivel de AEO Radwan *et al.*, (2008) sugirieron mayor efectividad del AEO en niveles de 1% en la dieta comparado con 0,5% de inclusión; resultado similar fue expuesto por Florou-Paneri *et al.*, (2005a) quienes encontraron menor concentración de MDA en los tratamientos con 100 g/t en comparación con dosis de 50 g/t de alimento. Estos últimos resultados estarían de acuerdo con los observados en este trabajo, puesto que se identificó una dependencia de la concentración de MDA en función del nivel de AEO, mostrando reducción en la oxidación lipídica de la yema con los niveles más altos de AEO. Las diferencias en los resultados entre vitamina E y AEO de los estudios mencionados y el presente trabajo pueden ser atribuidas principalmente a la especie de orégano usada para la obtención del aceite esencial, ya que el aceite usado en los estudios anteriores se obtuvo del orégano griego (*Origanum vulgare* Hirtum), caracterizado por presentar mayor proporción de carvacrol respecto a timol, mientras que el orégano *Lippia organoides* Kunth empleado en este estudio presenta el timol como compuesto predominante (Ariza *et al.*, 2011), el cual presenta mayor potencial antioxidante

debido a la ubicación del grupo fenólico respecto a su isómero carvacrol (Yanishlieva *et al.*, 1999).

CONCLUSIONES

La concentración de MDA en la yema de huevo mostró un comportamiento dependiente de la cantidad de AEO incluido en la dieta, alcanzando una reducción hasta de un 20,7% con inclusiones de 200 g/t de alimento, por tanto, la inclusión de AEO puede favorecer la estabilidad oxidativa de los huevos frescos y almacenados hasta por 60 días. Los resultados del efecto del AEO en niveles entre 150 y 200 g/t sobre la estabilidad oxidativa de huevos enriquecidos con AGPI fueron similares a los resultados obtenidos con vitamina E (200 g/t).

A -10°C de almacenamiento la única diferencia que se identificó en los valores promedio para las yemas de los tratamientos que tuvieron AEO fue entre O150 y O200, mientras que, a 4°C las gallinas que recibieron 100 g de AEO/t produjeron huevos con mayores concentraciones de MDA que con 150 y 200 g/t.

En la yema de huevos frescos y en los almacenados a 4°C por 60 días se encontró una respuesta lineal inversa y significativa entre el nivel de AEO en la dieta y la concentración de MDA. En ambos casos se puede establecer la reducción de 0,08 y 0,09 ng de MDA por cada gramo de AEO incluido en la dieta.

La concentración de MDA en la yema de huevo aumento con el tiempo de almacenamiento hasta los 60 días, sin embargo, es necesario resaltar que la inclusión de AEO en las dosis empleadas en este trabajo retardo el proceso de oxidación de la matriz lipídica de huevos enriquecidos mediante el uso de aceite de pescado como fuente de enriquecimiento con ácidos grasos poliinsaturados en la dieta de las ponedoras.

El almacenamiento a -10°C mantuvo la estabilidad oxidativa de los huevos hasta por 60 días, este efecto puede ser favorecido por el uso de AEO en la dieta de ponedoras, ya que el efecto antioxidante de este aceite esencial puede favorecer tiempos de almacenamiento de mayor duración, aspecto que cobraría gran importancia en la conservación de huevos sin cascara destinados principalmente a procesos de panadería.

AGRADECIMIENTOS

Al equipo de trabajo de la unidad de Avicultura y el personal de apoyo del laboratorio de nutrición animal de Corpoica

FINANCIACIÓN

A Colciencias por la financiación mediante la convocatoria 521-2010 Banco de Proyectos de Investigación Científica o Tecnológica - año 2010

BIBLIOGRAFÍA

Ariza, C.; Afanador, G.; Betancourt, L.; Hurtado A.; Arango, O. y Toro, I. 2011. Caracterización de los aceites esenciales del cordón panamericano del alto patía. En: Aceites esenciales de orégano: un

- aditivo funcional con amplio potencial de uso en la industria avícola. *Produmedios*, Bogotá, Colombia. pp. 12-17.
- Baratta, M.T.; Dorman, H.J.D.; Deas, S.G.; Figueredo, A.C. and Ruberto, G. 1998. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour Frag J*, 104: 286-292.
- Botsoglou, N.; Florou-Paneri, P.; Botsoglou, E.; Dots, V.; Giannenas, I.; Koidis, A. and Mitrakos, P. 2005. The effect of feeding rosemary, oregano, saffron and α -tocopheryl acetate on hen performance and oxidative stability of eggs. *S Afr J Anim Sci*, 35: 143-151.
- Botsoglou, N.A.; Fletouris, D.J.; Florou-Paneri, P.; Christaki, E. and Spais, A.B. 2003. Inhibition of lipid oxidation in long-term frozen stored chicken meat by dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate supplementation. *Food Res Int*, 36: 207-213.
- Botsoglou, N.A.; Christaki, E.; Fletouris, D.J.; Florou-Paneri, P. and Spais, A.B. 2002. The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. *Meat Science*, 62: 259-265.
- Cabuk, M.; Bozkurt, M.; Alcicek, A.; Cath, A.U. and Baser, K.H.C. 2006. Effect of a dietary essential oil mixture on performance of laying hens in the summer season. *S Afr J Anim Sci*, 36: 215-221.
- Castro, M.I. 2002. Ácidos grasos omega 3: beneficios y fuentes. *Inter-ciencia*, 27: 36-128.
- Dorman, H.J. and Deans, S.G. 2000. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol*, 88: 308-316.
- Economou, K.D.; Oreopoulou, V. and Thomopoulos, C. 1991. Antioxidant properties of some plant extracts of the Labiatae family. *J Am Oil Chem Soc*, 68: 109-113.
- FAO – Departamento de agricultura. 1997. Grasas y aceites en la nutrición humana. Consulta FAO/OMS de expertos (Estudio FAO alimentación y nutrición-57). Roma 19-26 de Octubre de 1993. Italia. <http://www.fao.org/documents/search/es/?sel=ZmRyX2pvYl9udW1iZXI6llyONzAwlg%3D%3D>. (9/10/2015).
- Florou-Paneri, P.; Nikolakakis, I.; Giannenas, I.; Koidis, A.; Botsoglou, E.; Dots, V. and Mitsopoulos, I. 2005a. Hen performance and egg quality as affected by dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate supplementation. *Int J Poultry Sci*, 4: 449-454.
- Florou-Paneri, P.; Palatos, G.; Govaris, A.; Botsoglou, D.; Giannenas, I. and Ambrosiadis, I. 2005b. Oregano herb versus oregano essential oil as feed supplements to increase the oxidative stability of turkey meat. *Int J Poultry Sci*, 4: 866-871.
- Hargis, P.S.; Van Elswyk, M.E. and Hargis, B.M. 1991. Abstract: Dietary modification of yolk lipid with menhaden oil. *Poultry Sci*, 70: 874-883.
- Hirose, M.; Hagiwara, A.; Hasui, T.; Inoue, K. and Ito, N. 1986. Combined effects of BHA and other antioxidants in induction of forestomach lesions in rats. *Cancer Lett*, 30: 169-174.
- Leeson, S. y Zubair, A.K. 1996. Efectos sobre la salud del consumo de huevos enriquecidos en ácidos grasos omega-3 y vitaminas. En: XII Curso de Especialización FEDNA: Avances en Nutrición y Alimentación Animal. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. España. 327 pp. http://www.fundacionfedna.org/publicaciones_1996 (05/05/2013).
- Lozano, S.A.M. 2012. Análisis de la norma colombiana sobre huevos frescos y ovoproductos para la armonización con la norma internacional. Proyecto final de graduación para optar al título de master en Gerencia de Programas Sanitarios y de Inocuidad de Alimentos. Universidad para la Cooperación Internacional. Costa Rica. <http://www.uci.ac.cr/Biblioteca/Tesis/PFGMIA110.pdf> (22/02/2015).
- Orhan, F. and Eren, M. 2011. Effect of the herbal mixture supplementation to fish oiled layer diets on lipid oxidation of egg yolk, hen performance and egg quality. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 58: 33-39.
- Radwan, N.L.; Hassan, R.A.; Qota, E.M. and Fayek, H.M. 2008. Effect of natural antioxidant on oxidative stability of eggs and productive and reproductive performance of laying hens. *Int J Poultry Sci*, 7: 134-150.
- Rostagno, H.S. 2005. Tablas Brasileñas para aves y cerdos. 2ª edición. Brasil.
- SAS. SAS/STAT. 2008. User's guide: Statistics. SAS Inst. Inc. Cary, NC.
- Simopoulos, A.P. 2000. Symposium: Role of poultry products in enriching the human diet with n-3 PUFA. *Poultry Sci*, 79: 961-970.
- Yanishlieva, N.V.; Marinova, E.M.; Gordon, M.H. and Raneva, V.G. 1999. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chem*, 64: 59-66.
- Yannakopoulos, A.; Tserveni-Gousi, A. and Christaki, E. 2005. Enhanced egg production in practice: the case of bio-omega-3 egg. *Int J Poultry Sci*, 4: 531-535.
- Young, J.F.; Stagsted, J.; Jensen, S.K.; Karlsson, A.H. and Henckel, P. 2003. Ascorbic acid, alpha-tocopherol, and oregano supplements reduce stress-induced deterioration of chicken meat quality. *Poultry Sci*, 82: 1343-1351.