

Uso de aceites con distinta estructura molecular y distinta proporción glicerol: ácidos grasos en la alimentación de pollos de carne

E. VILARRASA^{1*}, A.P. ROLL² y A.C. BARROETA¹

¹Servei de Nutrició i Benestar Animal (SNiBA), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, España;

²Departamento de Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900 Pelotas, Brasil.

*E-mail: ester.vilarrasa@uab.cat

Partimos de la hipótesis de que suplementar la ración con glicerol (G) y aceite ácido de palma (AA) tendrá similar valor nutritivo que la utilización de un aceite previamente re-esterificado de palma (AR, obtenido mediante el proceso de esterificación de los ácidos grasos libres presentes en el AA con el G), ya que, a nivel intestinal, debido a la especificidad de la lipasa pancreática, los 1,3-diglicéridos y los 1(3)-monoglicéridos presentes en el AR pueden ser completamente hidrolizados a G y ácidos grasos libres. Por otro lado, se plantea si la modificación de la proporción glicerol:ácidos grasos (G:A) habitual de un aceite nativo (1:3), podría modificar el nivel de absorción de la grasa. Por consiguiente, el objetivo del presente estudio fue estudiar cómo afecta la estructura molecular y la proporción G:A de las grasas en su utilización por parte de los pollos de carne. Para ello, 192 pollos hembra Ross 308 de 1 día de vida, se distribuyeron al azar en 48 jaulas. Los 8 tratamientos utilizados presentaron una variación en la proporción G:A (de 0,16 a 0,67), gracias a la sustitución de ácidos grasos libres (AA) por glicerol, en base a dos estrategias distintas, incorporando glicerol libre (G) o bien mono- y diglicéridos (AR). Así pues, los piensos experimentales fueron el resultado de la formulación de un pienso base al que se incorporó un 6% de una de las siguientes mezclas: T1 - 100% aceite nativo de palma (control positivo; G:A = 0,33 mol/mol; 80% triglicéridos), T2 - 100% AR (G:A = 0,67 mol/mol; 45% diglicéridos y 41% monoglicéridos), T3 - 70% AR + 30% AA (G:A = 0,33 mol/mol), T4 - 40% AR + 60% AA (G:A = 0,16 mol/mol), T5 - 100% AA (control negativo; G:A = 0,04 mol/mol; 89% ácidos grasos libres), T6 - 4% G + 96% AA (G:A = 0,16 mol/mol), T7 - 8% G + 92% AA (G:A = 0,33 mol/mol) y T8 - 16% G + 84% AA (G:A = 0,67 mol/mol). En relación a la absorción aparente de los ácidos grasos, se pudo comprobar cómo la estructura molecular de las grasas sí influye. Así, manteniendo la relación G:A constante (0,33 mol/mol), el tratamiento con alto contenido en mono- y diglicéridos (T3) alcanzó mayores valores de digestibilidad de los ácidos grasos saturados que el tratamiento alto en triglicéridos (T1; $P = 0,028$) y éste, a su vez, que el tratamiento alto en ácidos grasos libres (T7; $P < 0,001$). Por otro lado, se pudo observar como el comportamiento de los aceites según su proporción G:A no era igual si el glicerol se encontraba en forma libre o esterificado formando parte de las moléculas de acilgliceroles. Así, se pudo observar como la adición de proporciones crecientes de G al AA ($T5 < T6 < T7 < T8$) no favorecía la absorción del total de ácidos grasos ($P > 0,05$), sino al contrario, incluso perjudicaba la absorción de los ácidos grasos mono- ($y = -5,05x + 91,3$; $R^2 = 0,42$; $P < 0,001$) y poliinsaturados ($y = -3,56x + 88,1$; $R^2 = 0,15$; $P = 0,035$). En cambio, la adición de proporciones crecientes de mono- y diglicéridos (AR) al AA ($T5 < T4 < T3 < T2$) sí favoreció la absorción del total de ácidos grasos ($y = 16,2x + 81,6$; $R^2 = 0,73$; $P < 0,001$), sobre todo debido al aumento de la absorción de los ácidos grasos saturados ($y = 34,7x + 70,8$; $R^2 = 0,77$; $P < 0,001$). Por todo ello, se concluye que el proceso de esterificación para la obtención de AR tiene sentido para dar valor añadido a los AA, alcanzando mayores valores de digestibilidad incluso que su correspondiente aceite nativo. Además, el aumento de la proporción G:A de un aceite favorece la absorción de los ácidos grasos, siempre que el glicerol se encuentre unido a las moléculas de acilgliceroles.

Palabras clave: absorción aparente de los ácidos grasos; aceite ácido; aceite nativo; aceite re-esterificado; glicerol

One of the hypothesis tested was that the mixture of glycerol (G) with palm acid oil (AO) could have a similar nutritive value than a re-esterified palm oil (RO, obtained by the chemical esterification of free fatty acids present in AO with G), since, in the gut, due to the specificity of pancreatic lipase, 1,3-diaclyglycerols and 1(3)-monoacylglycerols present in RO can be completely hydrolyzed to free fatty acids and G. On the other hand, changing the common glycerol:fatty acid ratio (G:FA) of a native oil (1:3), could also affect fat absorption. Therefore, the objective of this study was to assess how the fat molecular structure and its G:FA ratio affect fatty acid apparent absorption in broiler chickens. For this purpose, 192 one-day old female broiler chickens of the Ross 308 strain were randomly distributed in 48 cages. The 8 treatments used showed a variation in the G:FA ratio (from 0.16 to 0.67), through replacing free fatty acids (AO) by glycerol, based on two different strategies, either adding free glycerol (G) or mono- and diacylglycerols (RO). Thus, the experimental diets were the result of a basal diet supplemented with 6% of one of the following fat blends: T1) 100% native palm oil (positive control; G:FA = 0.33 mol/mol; 80% triacylglycerols), T2) 100% RO (G:FA = 0.67 mol/mol; 45% diacylglycerols and 41% monoacylglycerols), T3) 70% RO + 30% AO (G:FA = 0.33 mol/mol), T4) 40% RO + 60% AO (G:FA = 0.16 mol/mol), T5) 100% AO (negative control; G:FA = 0.04 mol/mol; 89% free fatty acids), T6) 4% G + 96% AO (G:FA = 0.16 mol/mol), T7) 8% G + 92% AO (G:FA = 0.33 mol/mol), and T8) 16% G + 84% AO (G:FA = 0.67 mol/mol). On the one hand, it was observed how the fat molecular structure was an important determinant of fat absorption. Thus, keeping the G:FA ratio constant (0.33 mol/mol), the treatment with a high mono- and diacylglycerol content (T3) achieved higher saturated fatty acid apparent absorption values than did the treatment with a high triacylglycerol content (T1; $P = 0.028$) and this, in turn, than did the treatment with a high free fatty acid content (T7; $P < 0,001$). On the other hand, it was observed how the behavior of oils with a certain G:FA ratio was not the same depending on whether glycerol was in free state or esterified as part of acylglycerol molecules. Thus, increasing amounts of G to AO (T5 < T6 < T7 < T8) did not enhance the total fatty acid apparent absorption ($P > 0.05$), but quite the opposite, even impaired the absorption of mono- ($y = -5.05x + 91.3$; $R^2 = 0.42$; $P < 0.001$) and polyunsaturated fatty acids ($y = -3.56x + 88.1$; $R^2 = 0.15$; $P = 0.035$). However, the addition of increasing amounts of mono- and diacylglycerols (RO) to AO (T5 < T4 < T3 < T2) did enhance the total fatty acid apparent absorption ($y = 16.2x + 81.6$; $R^2 = 0.73$; $P < 0.001$), primarily due to the increased absorption of saturated fatty acids ($y = 34.7x + 70.8$; $R^2 = 0.77$; $P < 0.001$). Taken together, it is concluded that the esterification process for obtaining RO makes sense to give added value to AO, achieving even greater digestibility values than its corresponding native oil. Furthermore, the increased G:FA ratio enhances the fatty acid apparent absorption, as long as glycerol is esterified as part of acylglycerol molecules.

Key words: acid oil; fatty acid apparent absorption; glycerol; native oil; re-esterified oil

Introducción

Las grasas utilizadas en alimentación animal están constituidas, mayoritariamente, por triglicéridos (aceites nativos; AN); es decir, una molécula de glicerol unida a tres ácidos grasos. Sin embargo, en la actualidad hay disponibles otras fuentes de grasa que tienen un relevante interés científico, económico y ambiental, ya que tienen la misma composición en ácidos grasos que su respectivo AN, pero presentan distinta estructura molecular, lo que puede modificar su valor nutritivo.

Por un lado, encontramos los aceites ácidos (AA), obtenidos del proceso de refinación de los aceites crudos y caracterizados por un elevado contenido en ácidos grasos libres (AGL: 40-90%). Estas fuentes de grasa son una alternativa muy interesante desde el punto de vista económico, pero presentan un menor valor nutritivo que los AN, debido a la falta de suficientes monoglicéridos para promover la absorción de los AGL. Está bien descrito que un elevado contenido en AGL dificulta el proceso de absorción de las grasas, principalmente cuando éstas son saturadas y sobre todo cuando se administran a animales jóvenes (Wiseman and Salvador, 1991).

Por otro lado, encontramos los aceites re-esterificados (AR) obtenidos a partir de la esterificación química de los AGL presentes en el AA con el glicerol (G; otro subproducto de la industria del biodiesel). Se ha visto que estas grasas técnicas presentan un mayor contenido en mono- y diglicéridos en comparación con su correspondiente AN (Vilarrasa et al., 2014), lo que puede favorecer los procesos de digestión y absorción de las grasas gracias a su capacidad emulgente (Garrett and Young, 1975). Sin embargo, debido a la especificidad de la lipasa pancreática, los 1,3-diglicéridos y los 1(3)-monoglicéridos presentes en el AR pueden ser completamente hidrolizados a G y AGL a nivel intestinal (Mattson and Beck, 1956). Es por este motivo que una de las hipótesis evaluadas fue que la incorporación de glicerol (G) al AA de palma podría tener el mismo efecto y similar valor nutritivo que un AR de palma, re-esterificado previamente. Por otro lado, es posible que la modificación de la proporción glicerol:ácidos grasos (G:A) habitual de un aceite nativo (1:3), también modifique el nivel de absorción de la grasa. Por consiguiente, el objetivo del presente estudio fue estudiar cómo afecta la estructura molecular y la proporción G:A de las grasas en su utilización por parte de los pollos de carne.

Material y métodos

Pienso y diseño experimental

Se siguió un plan de formulación en dos fases: iniciación (hasta los 21 días de edad, en forma de harina) y de crecimiento (de los 21 días hasta el final, en forma de granulado). Los piensos experimentales en base a trigo y harina de soja fueron formulados para satisfacer o exceder las necesidades señaladas en FEDNA (2008). A la dieta base se le añadió un 6% de una de las mezclas detalladas en la Tabla 1, obteniendo un total de 8 tratamientos con distinta proporción G:A y distinto grado de esterificación. La caracterización de los aceites utilizados en las mezclas de la anterior tabla aparece en la Tabla 2.

Tabla 1: Mezclas de aceites utilizadas en las dietas experimentales.

| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 |
|------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| <i>Glicerol:Ácidos grasos</i> | 0,33 | 0,67 | 0,33 | 0,16 | 0,04 | 0,16 | 0,33 | 0,67 |
| <i>Proporción en la mezcla (%)</i> | | | | | | | | |
| Aceite nativo (AN) | 100 | | | | | | | |
| Aceite re-esterificado (AR) | | 100 | 70 | 40 | | | | |
| Aceite ácido (AA) | | | 30 | 60 | 100 | 96 | 92 | 84 |
| Glicerol (G) | | | | | | 4 | 8 | 16 |

Tabla 2: Caracterización aceites experimentales utilizados en las mezclas.

| | Aceite nativo (AN) | Aceite re-esterificado (AR) | Aceite ácido (AA) |
|--|-----------------------|--------------------------------|----------------------|
| <i>Composición en ácidos grasos(%)</i> | | | |
| Ácidos grasos saturados | 49,2 | 55,1 | 52,1 |
| Ácidos grasos monoinsaturados | 39,9 | 39,8 | 38,5 |
| Ácidos grasos poliinsaturados | 11,0 | 5,14 | 9,44 |
| <i>Composición en acilglicerol(%)</i> | | | |
| Triglicéridos | 79,7 | 12,9 | 6,67 |
| Diglicéridos | 11,6 | 45,7 | 4,68 |
| Monoglicéridos | 1,19 | 41,4 | 0,00 |
| Ácidos grasos libres | 7,48 | 0,00 | 88,6 |

Animales e instalaciones

Un total de 192 pollos hembra de la estirpe Ross 308 (Pondex, S.A.U. Juneda, España) de un día de edad, se distribuyeron al azar en los 8 tratamientos experimentales, a razón de 4 aves por jaula y 6 réplicas por tratamiento. El ensayo se llevó a cabo en la granja experimental del *Servei de Granges i Camps Experimentals* de la *Universitat Autònoma de Barcelona* y fue aprobado por el Comité de Ética de la misma institución.

Recogida de muestras y determinaciones analíticas

Entre los 37-39 días de vida se llevó a cabo un balance de digestibilidad siguiendo el método de la recogida total y se procedió a la liofilización de una muestra representativa de las excretas. Los piensos y las excretas fueron analizados mediante el método de Sukhija and Palmquist (1988) para determinar su contenido en ácidos grasos. Los valores de digestibilidad se calcularon a partir de la diferencia entre la cantidad ingerida y la cantidad excretada, expresada como porcentaje de la cantidad ingerida.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el procedimiento GLM del SAS (versión 9.2, SAS Institute Inc.; Cary, NC). Cuando el test F fue significativo a $P \leq 0,05$, las medias se compararon mediante el test de Tukey. Para el análisis de regresión lineal simple se utilizó el procedimiento REG del mismo paquete estadístico. En todos los casos, se consideraron significativos *P*-valores menores de 0,05.

Resultados y discusión

Los valores de absorción aparente de los ácidos grasos en función de la estructura molecular y la proporción G:A de las grasas utilizadas se pueden observar en la Tabla 3.

Tabla 3: Absorción aparente de los ácidos grasos en función de la estructura molecular y la proporción G:A de las grasas utilizada.

| | Tratamientos dietéticos | | | | | | | | RMSE | <i>P</i> -valores |
|----------|-------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|------|-------------------|
| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 | | |
| | Glicerol:AG | | | | | | | | | |
| Total AG | 0,33 | 0,67 | 0,33 | 0,16 | 0,04 | 0,16 | 0,33 | 0,67 | 2,59 | <0,001 |
| AGS | 85,5 ^b | 91,2 ^a | 89,3 ^{ab} | 85,2 ^b | 80,2 ^c | 76,3 ^c | 76,9 ^c | 75,7 ^c | 4,43 | <0,001 |
| AGMI | 78,3 ^b | 91,4 ^a | 87,1 ^a | 78,6 ^b | 67,8 ^c | 62,2 ^c | 63,7 ^c | 60,4 ^c | 1,12 | <0,001 |
| AGPI | 92,9 ^a | 93,4 ^a | 93,1 ^a | 91,9 ^a | 91,6 ^{ab} | 89,7 ^{bc} | 89,7 ^{bc} | 88,0 ^c | 1,56 | 0,021 |

AG: ácidos grasos; AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; NS: no significativo

En general, se pudo observar como la absorción aparente de los ácidos grasos era mayor para los ácidos grasos insaturados que para los ácidos grasos saturados, como ya ha sido bien establecido por otros autores (Renner and Hill, 1961). Además, se pudo comprobar cómo la estructura molecular de las grasas sí influye en la absorción de la grasa. Así, manteniendo la relación G:A constante (0,33 mol/mol), el tratamiento con alto contenido en mono- y diglicéridos (T3) alcanzó mayores valores de digestibilidad de los ácidos grasos saturados que el tratamiento alto en triglicéridos (T1; $P = 0,028$) y éste, a su vez, que el tratamiento alto en ácidos grasos libres (T7; $P < 0,001$).

La baja absorción de ácidos grasos observada cuando los animales son alimentados con AGL en lugar de triglicéridos es debido a la insuficiente disponibilidad de monoglicéridos en la luz intestinal, lo que conlleva una menor formación de micelas. Los triglicéridos son hidrolizados a AGL y 2-monoglicéridos por acción de la lipasa pancreática (Mattson and Beck, 1956). Los 2-monoglicéridos resultantes favorecen la solubilización y, por lo tanto, la absorción de los ácidos grasos gracias a la formación de micelas mixtas junto con las sales biliares (Hofmann, 1963). Este efecto se ha demostrado en pollitos con los conductos pancreáticos ligados, a los que se les ofreció ácido palmítico con o sin monoglicéridos (Garrett and Young, 1975).

Por otro lado, se pudo observar como el comportamiento de los aceites, según su proporción G:A, no es igual si el glicerol se encuentra en forma libre o esterificado formando parte de las moléculas de acilglicerol (Figura 1).

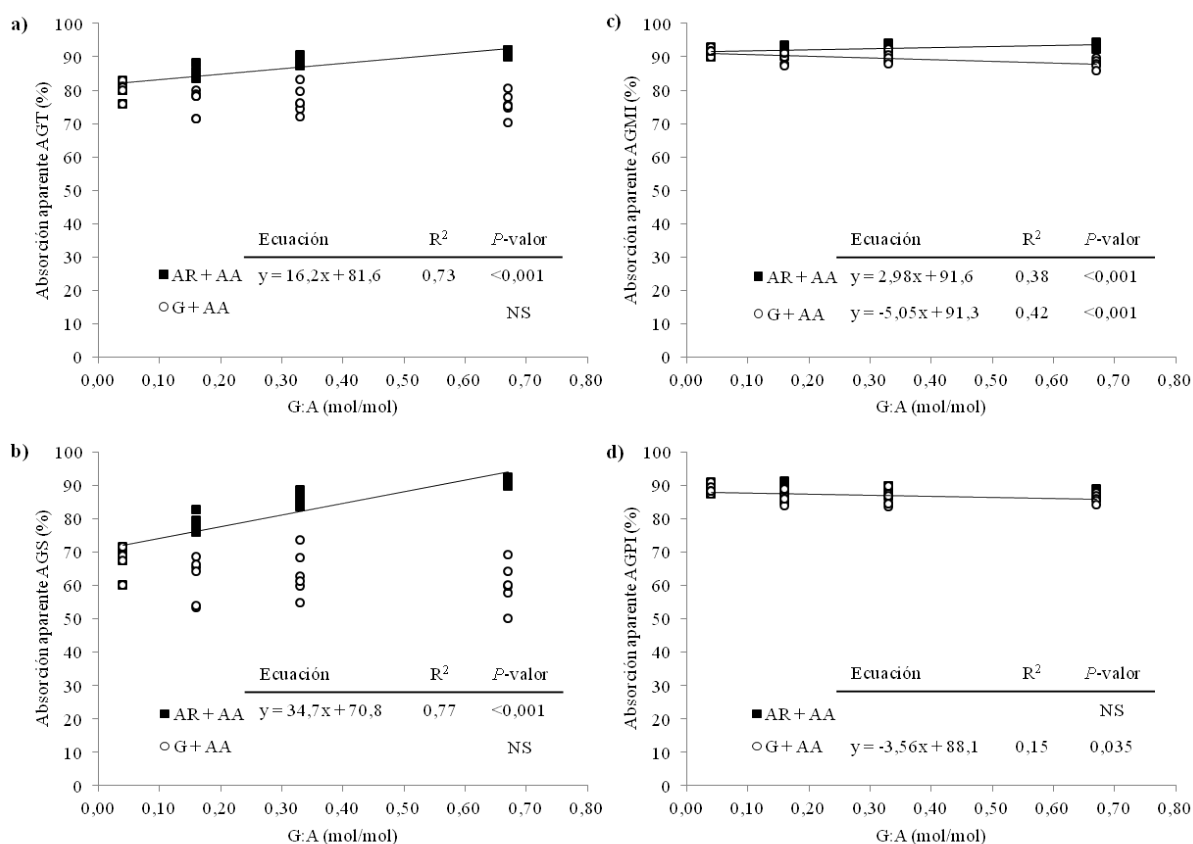


Figura 1: Absorción aparente de los a) ácidos grasos totales (AGT), b) ácidos grasos saturados (AGS), c) ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y d) ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) según la relación glicerol:ácidos grasos (G:A) conseguida mediante mezclas de aceite re-esterificado con aceite ácido (AR + AA) o glicerol con aceite ácido (G + AA).

Así, se pudo observar como la adición de proporciones crecientes de G al AA ($T5 < T6 < T7 < T8$) no favorecía la absorción del total de ácidos grasos ($P > 0,05$), sino al contrario, incluso perjudicaba la absorción de los ácidos grasos mono- ($y = -5,05x + 91,3$; $R^2 = 0,42$; $P < 0,001$) y poliinsaturados ($y = -3,56x + 88,1$; $R^2 = 0,15$; $P = 0,035$). En este sentido, Mattson and Volpenhein (1964) observaron como el glicerol libre casi no se incorporaba en las moléculas de acilglicerol (5%), debido a la insolubilidad del glicerol con la grasa de la dieta. Por el contrario, Sklan (1979) observó como los pollitos a los que se les había ofrecido AGL con G presentaban una mayor absorción de grasa en comparación con los que sólo se les había ofrecido AGL, ya que la adición de glicerol favoreció la síntesis de monoglicéridos.

En cambio, la adición de proporciones crecientes de mono- y diglicéridos (AR) al AA ($T5 < T4 < T3 < T2$) sí favoreció la absorción del total de ácidos grasos ($y = 16,2x + 81,6$; $R^2 = 0,73$; $P < 0,001$), sobre todo debido al aumento de la absorción de los ácidos grasos saturados ($y = 34,7x + 70,8$; $R^2 = 0,77$; $P < 0,001$). Así, los mono- y diglicéridos del AR ejercieron un efecto emulgente, favoreciendo la absorción de la grasa, aunque un 96% de los monoglicéridos y un 75% de los diglicéridos correspondieron a sus isómeros posicionales 1(3)-monoglicéridos y 1,3-diglicéridos, respectivamente. En este sentido, Mattson and Volpenhein (1964) también comprobaron que los 1(3)-monoglicéridos y los 1,3-diglicéridos no son completamente hidrolizados a glicerol y AGL, sino que gracias a su rápida absorción, los 1(3)-monoglicéridos consiguen escapar de la acción hidrolítica que ejerce la lipasa pancreática en las posiciones externas de las moléculas de acilglicerol.

Con todo, se concluye que el proceso de esterificación para la obtención de AR tiene sentido para dar valor añadido a los AA, alcanzando mayores valores de digestibilidad incluso que su correspondiente aceite nativo. Además, el aumento de la proporción G:A de un aceite favorece la

absorción de los ácidos grasos, siempre que el glicerol se encuentre unido a las moléculas de acilgliceroles.

Agradecimientos

El presente estudio ha sido financiado, en parte, por una beca de investigación de la *Generalitat de Catalunya* (FI-DGR), otra beca PDSE (18357-12-1) otorgada por la CAPES-Brasil y por el proyecto AGL2010-22008-C02 concedido por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología de España.

Referencias

- FEDNA** (2008) *Necesidades nutricionales para avicultura*. Eds: R. Lázaro y G.G. Mateos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid, España.
- GARRETT, R. L., and YOUNG, J.** (1975) Effect of micelle formation on the absorption of neutral fat and fatty acids by the chicken. *The Journal of Nutrition* **105**: 827–838.
- HOFMANN, A. F.** (1963) The behavior and solubility of monoglycerides in dilute, micellar bile-salt solution. *Biochimica et Biophysica Acta* **70**: 306–316.
- MATTSON, F. H., and BECK, L. W.** (1956) The specificity of pancreatic lipase for the primary hydroxyl groups of glycerides. *Journal of Biological Chemistry* **219**: 735–740.
- MATTSON, F. H., and VOLPENHEIN, R. A.** (1964) The digestion and absorption of triglycerides. *Journal of Biological Chemistry* **239**: 2772–2776.
- RENNER, R., and HILL, F. W.** (1961) Utilization of fatty acids by the chicken. *The Journal of Nutrition* **74**: 259–264.
- SKLAN, D.** (1979) Digestion and absorption of lipids in chicks fed triglycerides or free fatty acids: synthesis of monoglycerides in the intestine. *Poultry Science* **58**: 885–889.
- SUKHIJA, P. S., and PALMQUIST, D. L.** (1988) Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **36**: 1202–1206.
- VILARRASA, E., TRES, A., BAYÉS-GARCÍA, L., PARELLA, T., ESTEVE-GARCIA, E., and BARROETA, A. C.** (2014) Re-esterified palm oils, compared to native palm oil, do not alter fat absorption, postprandial lipemia or growth performance in broiler chicks. *Lipids* **49**: 795–805.
- WISEMAN, J., and SALVADOR, F.** (1991) The influence of free fatty acid content and degree of saturation on the apparent metabolizable energy value of fats fed to broilers. *Poultry Science* **70**: 573–582.