

RESUMEN

Está bien establecido que a través de la modificación de la fracción grasa de la ración de pollos de carne, podemos alterar la composición lipídica de los diferentes tejidos. Además, conforme aumenta el grado de insaturación de la ración, a igual nivel de inclusión de grasa, se produce una disminución de la cantidad de grasa depositada. Estos resultados son sorprendentes sobre todo si se tiene en cuenta los valores de energía metabolizable aparente (EMA) de las grasas. Es bien conocido que los aceites vegetales tienen mayor EMA que las grasas de origen animal, por tanto parece lógico pensar que a medida que sustituimos la grasa saturada por insaturada (aunque mantengamos la misma energía bruta), el engrasamiento corporal de las aves se incrementa. Sin embargo, es todo lo contrario: la inclusión de fuentes grasas con un mayor grado de poliinsaturación, reduce el contenido lipídico de las aves, mientras que los mayores niveles de engrasamiento se observan en pollos que consumieron una fuente de grasa animal.

El objetivo del proyecto fue avanzar en la investigación del efecto del perfil en ácidos grasos de la ración sobre la cantidad y distribución de lípidos en los diferentes tejidos del animal, y estudiar las razones metabólicas por las cuales se producen estas diferencias de depósito cuando alimentamos a las aves con raciones ricas en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) comparados con raciones ricas en ácidos grasos saturados (AGS). Para ello se realizaron 5 trabajos experimentales.

En el primer trabajo experimental se estudió el efecto del perfil en ácidos grasos (AG) de la ración sobre los principales depósitos de grasa: piel (SK; incluyendo la grasa subcutánea) y grasa abdominal (GA). 144 pollos hembras fueron alimentados con una dieta baja en grasa (B; 0,5% de grasa añadida), o con raciones suplementadas con el 10% de: sebo (T), aceite de girasol rico en ácido oleico (SOO), aceite de girasol rico en ácido linoleico (SOL), aceite de linaza rico en ácido linolénico (LO) o una mezcla de grasas (M: 55% de T + 35% de LO + 10% SOL) que contenía la misma proporción en AGS, AG monoinsaturados, y AGPI. Se evaluó la digestibilidad del total de AG (AGT) y la energía metabolizable aparente (EMA) de los piensos experimentales. El día 42, las aves fueron sacrificadas determinándose el peso de la GA y la SK así como su perfil en AG. En cuanto a las raciones que contenían el 10% de grasa añadida, la más saturada (T) dio lugar a los valores más bajos de digestibilidad de AGT y de porcentaje de EMA.

Los animales alimentados con la ración más poliinsaturada, comparado con los alimentados con un pienso más saturado, registraron un menor depósito de SK tanto en valores absolutos (LO: 145 vs T: 159 y M: 168 g, $P < 0,001$) como relativos (LO: 6,94 vs T: 7,39 y M: 7,52 g / 100 g de peso vivo; $P < 0,001$). Además, el menor depósito de GA se observó en el tratamiento LO (LO: 26,3 g vs T: 37,6 y M: 39,9 g, $P < 0,001$). Los tratamientos con alto contenido en grasa dieron lugar a importantes modificaciones en el perfil en ácidos grasos de los tejidos estudiados, reflejando perfiles en AG similares a los piensos consumidos. Así, el consumo de piensos ricos en AGPI, en comparación con el consumo de piensos ricos en AGS, da lugar a una reducción de la cantidad de GA y SK de aproximadamente el 30% y el 9%, respectivamente.

En el segundo trabajo experimental se evaluó el efecto de la fuente y nivel de grasa de la ración sobre la retención de energía (ER) y grasa en el animal entero. 48 pollos hembras fueron distribuidos en 6 tratamientos que diferían en el nivel: 3, 6 y 9 % y tipo de grasa añadida: sebo (S) y linaza (L). Se realizó un balance *in vivo* con recogida total de la excreta y sacrificio inicial y final. Los resultados demuestran que conforme aumentamos el nivel de inclusión de grasa aumenta la cantidad ER depositada en el animal entero. Por el contrario, la retención de nitrógeno disminuye conforme aumenta el nivel de inclusión, independientemente del tipo de grasa añadida a la ración. Los animales que consumieron la dieta L, presentaron la menor ER (S: 1009 vs. L: 906 kJ/100 g de ganancia de peso vivo; $P = 0.006$), en paralelo, con el menor depósito de grasa corporal (S: 11.2 g vs. L: 8.99 g/100 g de ganancia de peso vivo; $P = 0.01$). En este sentido, la retención de grasa en el animal es menor si la grasa que incorporamos a la ración es poliinsaturada en comparación con grasa saturada (S: 1.05 vs. L: 0.73 g grasa retenida/g grasa absorbida), independientemente de su nivel de inclusión. Estos resultados indican que los pollos que consumieron las dietas altamente poliinsaturadas depositaron menos energía y esta disminución fue a causa de una menor retención de grasa, en concreto de los ácidos grasos poliinsaturados.

El objetivo del tercer trabajo fue evaluar el efecto del nivel de insaturación de los AG de la ración sobre algunos parámetros del metabolismo lipídico de pollos de carne. Para ello se determinaron las hormonas tiroideas (T3, T4) en suero, y la actividad de las enzimas lipoproteína lipasa (LPL), la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH), enzima málico (ME), y L-3-hydroxyacyl CoA deshidrogenasa (L3HOAD) en tejido

adiposo, hígado y corazón. Los piensos utilizados fueron constituidos por un pienso bajo en grasa (BS: 0,5 % de aceite de girasol) y dos piensos con el 10% de linaza (LO), rico en AGPI n-3, y el 10 % de sebo (TA), rico en AGS. El perfil en AG de los tejidos estudiados fue el reflejo del perfil AG de la ración. El pienso BS causó una menor actividad de LPL y, por consiguiente, una menor deposición de triglicéridos en la grasa abdominal en comparación con los piensos LO y TA. Los pollos alimentados con LO registraron un menor depósito de grasa abdominal, una mayor actividad de la L3HOAD (β -oxidación), y un aumento de la hormona T3 circulante comparados con las aves alimentadas con un pienso rico en AGS. Sin embargo, no hubo diferencias significativas en síntesis *de novo* de lípidos. Los resultados del experimento sugieren que la β -oxidación de AG, en lugar de la síntesis, puede ser la causa de las modificaciones en la deposición de grasa debida al consumo de ácidos grasos poliinsaturados n-3. El aumento de los niveles de T3 sugieren que esta hormona podría estar relacionada con la menor deposición de grasa causada por LO.

Se realizaron el cuarto y quinto experimento con el fin de determinar si los AGPI n-3 modifican la eficiencia de utilización de la energía metabolizable aparente (EMA) destinada a crecimiento (*kg*) en comparación con los AGS. En el Experimento 4 se utilizó el método de sacrificios comparados. A 1446 ± 6.4 g de peso y durante 21 días, 4 grupos de 8 pollos fueron alimentados *ad libitum* o restringido con 2 piensos que contenían el 9 % de sebo (AGPI/AGS, 0,32; dieta T, 10,5 % de grasa bruta) y el 9 % de aceite de linaza (AGPI/AGS, 5,19; dieta LO; 10,4 % de grasa bruta). La ER en el animal fue menor en LO ($P \leq 0.05$) en comparación con T (345 frente a 457 kJ/ave/día, $P = 0.007$), y en paralelo a la menor cantidad de ER en forma de grasa (255 vs 369 kJ/100 g de incremento de peso vivo; $P = 0.067$). Estas diferencias no fueron debidas al nivel de alimentación. La *kg*, calculado como la pendiente de la regresión lineal entre la energía metabolizable aparente ingerida (EMAI) y la ER, no fue diferente entre piensos, aunque la ordenada en origen fue mayor para los animales alimentados con sebo, lo que indica una mayor deposición de grasa independientemente de la cantidad de EMAI. En el experimento 5, se realizaron mediciones de intercambio gaseoso. Tres grupos de 8 aves fueron alimentadas *ad libitum* o restringido con un pienso control (C: 2,6 % de la grasa bruta), con un pienso con el 9 % de sebo (dieta T, 11,1 % de grasa bruta) o el 9 % de aceite de linaza (dieta LO, 11,0 % de grasa bruta). Entre los días 39 y 52 de edad la producción de calor (PC) de cada grupo de aves se midió dos veces por cada nivel de

alimentación mediante cámaras respirométricas durante 24 horas. Los pollos alimentados con LO presentaron menor grasa abdominal en comparación con los que consumieron T (32 vs 25 g; $P=0,005$). Sin embargo, la PC no fue diferente entre dietas. Los resultados de estos experimentos indican que los AGPI *n*-3 reducen la ER en comparación con los AGS, se alimente los animales *ad libitum* o restringido. Además, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las *kg* de las grasas. Por lo tanto, una mayor necesidad en energía de mantenimiento es infravalorada cuando se alimentan las aves con raciones ricas en AGPI *n*-3 comparados con las alimentadas con AGS. El tipo de grasa no afectó a la PC.

El efecto de los AGPI *n*-3 sobre la deposición de grasa podría tener aplicaciones prácticas en la formación de los depósitos lipídico del pollo de carne y, es de interés en futuros estudios en mamíferos.

ABSTRACT

It is well established that the modification of dietary fatty acid can changes the lipid composition in different tissues in broiler chickens. Moreover, for an equal level of dietary added fat, an increase in the degree of unsaturation decreases the amount of deposited fat. This result is surprisingly associated to a higher apparent metabolizable energy (EMA) of unsaturated fats. It is well known that vegetable oils have higher EMA contents than animal fats, therefore it seems logical to think that replace saturated with unsaturated fat at the same dietary gross energy, the body fat depots of birds increases. However, the consumption of polyunsaturated fat sources reduces lipid content of birds, while the highest levels of fat depots is observed in chickens that consume a source of animal fat.

This project aimed to better understand the effect of dietary fatty acid profile on the amount and distribution of lipids in different tissues of the animal and study the metabolic effects why those differences in fat depots occur when poultry is fed with diets rich in polyunsaturated fatty acids (PUFA) compared to diets rich in saturated fatty acids (SFA). Thus, five experiments were performed.

The aim of the first study was to determine the effect of different dietary fatty acid profiles on the main fat depots of broiler chickens: skin including subcutaneous fat (SK) and abdominal fat pad (AF). One-hundred forty-four female broiler chickens were fed a low fat diet (B; 0.5 % of added fat) or diets supplemented with 10 % of tallow (T), sunflower oil rich in oleic acid (SOO), sunflower oil rich in linoleic acid (SOL), linseed oil rich in linolenic acid (LO) or a mix of fats (M: 55 % of T + 35 % of LO + 10 % of SOL) that contained one-third each of saturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, and polyunsaturated fatty acids. The animals were housed in 36 cages and were randomly distributed into 6 dietary treatments with 6 replicates each. Experimental diets were evaluated for apparent total fatty acid availability and apparent metabolizable energy (AME). On d 42, birds were slaughtered in order to determine the weight of AF and SK and fatty acid profile. Regarding the diets containing 10% added fat, the highest saturated diet (T) resulted in the lowest values of apparent total fatty acid availability and percentage of AME. Animals fed the most polyunsaturated diet (LO) had a lower SK deposition than those fed saturated diet, on both an absolute (LO: 145 vs. T: 159 and M: 168 g; $P < 0.001$) and a relative basis (LO: 6.94 vs. T: 7.39 and M: 7.52 g/ 100 grams

of body weight; $P < 0.001$). Furthermore, the lowest AF depot was observed in LO diet (LO: 26.3 g vs. T: 37.6 and M: 39.9 g; $P < 0.001$). The added fat treatments caused significant but similar changes in fatty acid profile of both studied tissues. In conclusion, feeding broiler chickens polyunsaturated fatty acids, in comparison to dietary saturated fatty acids, reduced the amount of both AF and SK by approximately 30 % and 9 %, respectively.

The second experiment was conducted in broiler chickens to determine whether dietary fat source and dietary fat level modify the energy and body fat retention. Forty eight 1-d-old female broiler chickens were fed 6 diets differing in level of added fat (3, 6 and 9 % of added fat), and type (tallow (S) and linseed (L)). Between 1445 ± 11 and 2.596 ± 218 g of body weight, a comparative slaughter method was followed. The results show that when the level of dietary fat increases the whole animal retained energy (RE) increases. On another hand, retained nitrogen decreases when the level of inclusion increases independently of the source of dietary added fat. Between fats, birds fed L had lower RE (S: 1009 vs. L: 906 kJ/100 g of gain weight, $P = 0.006$) and lower body fat (S: 11.2 g vs. L: 8.99 g/100 g of body weight gain, $P = 0.01$) than those fed S. In addition, the retention efficiency of body fat was lower when the polyunsaturated fat was added compared to the saturated added fat (S: 1.05 vs. L: 0.73 g retained fat / g of absorbed fat) regardless of the level of inclusion. These results suggest that chickens fed diets with higher level of polyunsaturation retain lower energy and this decline is due to the lower retained fat, specifically due to the polyunsaturated fatty acids.

The aim of third experiment was study the effect of n-3 fatty acids (FA) on lipid metabolism. Serum thyroid hormones (T3, T4) and lipoprotein-lipase (LPL), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH), malic enzyme (ME), and L-3-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase (L3HOAD) activities were studied in chickens fed three diets: a basal diet low in fat and energy (BS) and two diets rich in n-3 poly-unsaturated FA (10% linseed oil; LO) or in saturated FA (10 % tallow; TA). Dietary FA profiles resulted in different profiles of FA in the tissues. The BS diet caused lower LPL activity and fat deposition compared to the other diets. Chickens fed the LO diet showed lower abdominal fat and higher L3HOAD activities (β -oxidation) and serum T3 levels than those fed the TA diet. There were no differences in lipid synthesis. Lipid β -oxidation may be more relevant than synthesis of FA in the lower fat deposition caused by n-3 FA

compared to saturated FA in chicken diets. Higher serum T3 suggests a role of this hormone in the lower fat deposition caused by LO.

The last two experiments were carried out in broiler chickens to determine whether n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) modify efficiency of utilization of apparent metabolizable energy (AME) for growth compared to saturated fatty acids (SFA). In experiment 4, the comparative slaughter method was followed. At 1446 ±6.4 g of weight and during 21-d, 4 groups of 8 birds were fed *ad libitum* or restricted two diets containing either 9 % of tallow (PUFA/SFA, 0.32; diet T, 10.5 % of ether extract (EE)) or 9 % of linseed oil (PUFA/SFA, 5.19; diet LO, 10.4 % of EE). Total retained energy (RE) was lower ($P \leq 0.05$) in LO compared to T (345 vs. 457 kJ/bird/d; $P = 0.007$), in parallel with a lower RE as fat (255 vs. 369 kJ/100g weight gain; $P = 0.067$). This difference was not affected by the dietary restriction. As a consequence, the efficiency of utilization of AME for growth (kg), calculated as the slope of the linear regression of RE on apparent metabolizable energy intake (AMEI), was not different between diets but intercept was higher for animals fed tallow, indicating a constant higher fat deposition independently of the AMEI. In Experiment 5, gaseous exchange measurements were performed. Three groups of 8 birds were fed *ad libitum* or restrictedly a control diet (C: 2.6 % of EE) or one of two diets containing 9 % of tallow (diet T, 11.1 % of EE) or 9 % of linseed oil (diet LO, 11.0 % of EE). Between days 39 and 52 of age heat production (HP) of each group was measured twice at each of the two levels of feeding in respirometric chambers for 24 hours. Chickens fed LO had lower abdominal fat pad than those T diet (32 vs. 25 g; $P = 0.005$). However, HP was not different between these two diets. The results of these experiments indicate that n-3 fatty acids reduce energy retention compared to saturated fatty acids when the animals are fed both, *ad libitum* or restricted, and there is no difference in the efficiency of utilization of the AMEI between the fats. Thus, a higher maintenance energy requirement is inferred for chickens fed n-3 FA vs. SFA.

These effects of n-3 FA in fat deposition could have applications in management of fat in chicken carcasses and points interesting conclusions to be studied in mammals in the future.