

Artículo Original

Inclusión de la cianobacteria *Arthrospira maxima* como fuente de carotenoides en la dieta de gallinas ponedoras y su evaluación sobre la calidad del huevo

Parra, José¹; Torres, Alexia²; Rojas-Tortolero, Diego^{*1}; Durazzi, Ermes³; Ineichen, Emilio²; Fernandez-Gómez, Rodolfo⁴

¹Fundación Instituto de Estudios Avanzados, Centro de Biotecnología. Carretera Nacional Hoyo de la Puerta, Valle de Sartenejas, Baruta, Estado Miranda, Caracas, Venezuela, Apartado 17606, ZP 1015-A
(*Autor de Correspondencia: drrojas@idea.gob.ve, drojas70@gmail.com)

²Universidad Simón Bolívar, Departamento de Procesos Biológicos y Bioquímicos, Venezuela

³Alimentos Schulz C. A., Departamento de Producción, Venezuela

⁴Programa Prometeo SENESCYT, Universidad de las Fuerzas Armadas (ESPE), Venezuela

Resumen

La cianobacteria *Arthrospira maxima* incluye en su composición un alto contenido de nutrientes, compuestos fenólicos y pigmentos (carotenoides, clorofila, ficocianina, entre otros), por lo cual se considera un alimento completo. Además, ha sido utilizada como un suplemento en la alimentación animal, observándose mejoras en la aceleración del crecimiento, maduración sexual y aumento de la fertilidad en bovinos y peces. Igualmente, se ha observado un incremento en la producción de huevos en aves de corral, y cambios en la coloración y contenido de la yema. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto (sobre la calidad nutricional y coloración de los huevos) de la suplementación con 3% de *Arthrospira* en la dieta de gallinas ponedoras. Se realizó un análisis proximal, minerales, vitaminas del complejo B y colesterol, así como la determinación de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante obteniendo un aumento en el contenido de proteínas (7,46%), potasio (35,07%), hierro (31,85%) y fósforo (16,77%). Asimismo, se observó una disminución en el contenido de lípidos en un 8,59% y de colesterol en 50,10%. También se obtuvo un incremento del 45,82% en el contenido de carotenoides de los huevos provenientes de gallinas alimentadas con la dieta suplementada con *Arthrospira*, aunque ambas dietas contenían inicialmente la misma concentración. El índice de coloración mejoró sustancialmente de acuerdo a la escala de La Roche. Se demostró que la incorporación de esta microalga en la dieta de gallinas ponedoras produce mejoras significativas en la calidad nutricional y funcional de los huevos.

Palabras clave: Huevos, Suplementación, *Spirulina*, valor nutricional, alimento funcional.

Abstract

Arthrospira maxima cyanobacterium includes in its composition a high content of nutrients, phenolic compounds and pigments (carotenoids, chlorophyll, phycocyanin); therefore, it is considered a complete food. It has also been used as a supplement in animal feed, showing improvements in acceleration of growth, sexual maturation and increased fertility in cattle and fish. Similarly, there has been an increase in egg production in poultry, and changes in the yolk's color and composition. This work aimed to evaluate the effects of supplementation with 3% *Arthrospira* in the diet of laying hens, on the nutritional quality and color of eggs. A proximal analysis and determinations of minerals, vitamin B complex, bioactive compounds was performed, as well as antioxidant capacity. Increases in protein content (7.46%), potassium (35.07%), iron (31.85%) and phosphorus (16.77%) were obtained. Moreover, a decrease in lipid (8.59%) and cholesterol (50.10%) contents was found. Egg carotenoid content was increased to 45.82 %, from hens fed with the *Arthrospira* supplemented diet, despite the fact that both diets contained the same initial concentration. Additionally, the coloration index improved substantially according to La Roche scale. It was shown that the incorporation of these cyanobacteria in the laying hens diet produces significant improvements in nutritional and functional quality of eggs.

Keywords: Eggs, Supplementation, Spirulina, nutritional value, functional food.

1. Introducción

Arthrospira maxima es una cianobacteria fotosintética filamentosa que crece en lagos bicarbonatados (pH básico), en las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Desde hace algún tiempo se vienen realizando estudios sobre los efectos que producen estas microalgas en humanos y animales. Su uso se ha relacionado también a lo que se suele denominar “Estrategias Limpias de Producción” (Olguín E. J., 2000). Algunos de los estudios realizados en humanos y animales, tanto *in vitro* como *in vivo*, han sido orientados a analizar la respuesta antioxidante y los efectos de inmunoregulación, anticancerígenos, antivirales, antialérgicos, antihiperlipidémico y antihiperlicémico (Belay y Houston, 2002). Las propiedades antes mencionadas están ligadas a la presencia de ciertas biomoléculas, entre las que podemos mencionar la ficocianina, los compuestos fenólicos, los ácidos grasos

poliinsaturados, los carotenoides y al polisacárido sulfatado hidrosoluble denominado Calcio Spirulan (Ca-SP) (Chamorro *et al.*, 1996). La pared celular de esta cianobacteria está formada por mucopolisacáridos, es decir, no posee celulosa, lo cual facilita su digestión, y así mismo, los estudios muestran que es inocua, tanto para el humano como los animales (Chamorro *et al.*, 1996).

En estudios recientes, en dietas suplementadas con la cianobacteria, gallinas ponedoras incrementaron la tasa de producción y peso de los huevos, lo cual fue significativo en comparación con el grupo control, además se cuantificaron aumentos en porcentaje de yema de huevo, como en la puntuación de color de la yema, de acuerdo a la puntuación de La Roche (Ávila & Cuca, 1974; Bezares, Arteaga, & Ávila, 1976). Así mismo, se demostró una reducción significativa del colesterol presente en la yema. En relación a las pruebas sensoriales

como intensidad de olor, sabor y gusto del huevo, en comparación con el grupo control, fueron estadísticamente insignificantes, razón por la cual, esta cianobacteria podría utilizarse de manera segura en dietas de gallinas ponedoras con efectos superiores en su desempeño productivo y reproductivo (Mariey, Samak, & Ibrahim, 2012).

Los huevos tienen un perfil nutricional excepcional, debido a los nutrientes que lo conforman, como son las proteínas de alta calidad, vitaminas y minerales esenciales. Así mismo, las investigaciones han demostrado que los huevos aportan cantidades importantes de carotenoides, los cuales desempeñan un rol en la prevención de enfermedades como la degeneración macular, la cual se ha asociado con un riesgo inferior de la extracción de cataratas, ya que estos carotenoides, en especial la luteína y la zeaxantina (estéreo-isómero de la luteína) se acumulan en la retina donde ejerce papel antioxidante (Applegate, 2000).

El huevo es el único alimento de origen animal que aporta luteína y zeaxantina, aunque su contenido es inferior al de algunas fuentes de origen vegetal cuya biodisponibilidad y poder antioxidante es superior. La luteína y la zeaxantina (xantofilas) son pigmentos carotenoides no provitamínicos que se encuentran en la porción lipídica de las lipoproteínas de yema del huevo, responsables del color amarillo-naranja característico. Estos biocompuestos provienen de los ingredientes usados en la dieta de las gallinas como son el maíz amarillo, la harina de alfalfa y la harina de gluten de maíz (Seuss-Baum, 2007).

Algunos pigmentos naturales como la clorofila y los carotenoides, son encontrados también en la cianobacteria *Arthrospira*. A pesar de que esta sea de color verde-azulado, contiene uno de los más altos niveles de carotenoides, la presencia de

estos pigmentos en este microorganismo ha promovido su uso para incrementar el color amarillo en la yema de huevo (Ávila & Cuca, 1974; Bezares et al., 1976).

Estudios realizados sobre el valor nutricional de la *Arthrospira maxima*, correspondientes a dietas isonitrogenadas, usada en codornices japonesas ponedoras, permitieron evidenciar que no hubo diferencias significativas en cuanto a la eficiencia de conversión del alimento. Sin embargo, incrementó el color de la yema, a medida que se aumentaba el contenido de la cianobacteria en la dieta, el cual fue superior para todos los tratamientos en comparación con el control (Ross & Dominy, 1990).

En la determinación de la composición y cuantificación de los pigmentos carotenoides presentes en cianobacteria liofilizada, en relación con la absorción de los carotenoides en las yemas de huevos de codornices japonesas, se encontró que la concentración óptima para la pigmentación de las yemas se lograba al 1% de inclusión en la dieta y la preservación de estos carotenoides (xantofilas), bajo este sistema secado, mostró que era el doble de la reportada en la bibliografía (D. W. Anderson, Tang, & Ross, 1991). Además, en codornices japonesas que consumieron dieta suplementada con *Arthrospira* fresca, en su equivalente al 1% en peso seco extruida con maíz, cebada y yuca, en comparación con *Arthrospira* liofilizada al 1%, el color de la yema aumentó en ambas dietas; siendo la *Arthrospira* liofilizada superior en comparación a la *Arthrospira* extruida, según la puntuación de La Roche. Sin embargo, ambas dietas fueron superiores a la dieta control (Ross, Puapong, Cepeda, & Patterson, 1994).

Por todas las propiedades antes mencionadas, tanto *Arthrospira*, como los huevos (por ejemplo, los ricos en ácidos grasos de tipo omega-3), pudiesen ser

considerados “alimentos funcionales”. A pesar de que no existe una definición universalmente aceptada, se han planteado algunas definiciones de tipo operacional, como la propuesta por la Comisión Europea de Acción Concertada sobre Bromatología Funcional en Europa (Functional Food Science in Europe, FUFLOSE) y el Instituto Internacional de Ciencias Biológicas (International Life Sciences Institute (ILSI) Europe). Para ellos, un alimento puede ser considerado como “funcional” si se demuestra satisfactoriamente que este afecta de forma benéfica, más allá de un mero efecto nutricional, al menos una función corporal. Lo anterior, bien sea mediante una mejora relevante del estado de bienestar y salud, y/o mediante la disminución del riesgo de contraer una enfermedad. Se advierte que los “alimentos funcionales” deben ser: alimentos naturales o alimentos a los que han sido añadidos o removidos componentes por vía tecnológica o biotecnológica. En este sentido, pueden ser alimentos en los cuales la naturaleza o biodisponibilidad, de uno o varios componentes se ha modificado, o combinaciones de estas posibilidades. Deben ser además alimentos que técnicamente sigan siendo alimentos que presenten sus efectos siendo ingeridos en las cantidades que se espera deben ser ingeridos de manera normal, en este sentido, las píldoras o cápsulas no son consideradas dentro de la categoría. Se pretende además que la “funcionalidad” del mismo pudiese ser dirigida a todos los miembros de una población o bien a un grupo que pudiese ser definido en términos de constitución genética o etaria (ILSI, 1999).

El presente trabajo planteó por objetivo evaluar la suplementación en la dieta de gallinas ponedoras con *Arthrospira*, como

sustituto de otras fuentes de carotenoides. Dicha evaluación se llevó a cabo midiendo la calidad nutricional y coloración de los huevos, y comparando con los resultados de una dieta testigo. Se discute también la posibilidad de que huevos así obtenidos pudiesen ser considerados “alimentos funcionales”.

2. Materiales y Métodos

El experimento se llevó a cabo con 40 gallinas ponedoras, de la raza White Leghorn, de 24 semanas de edad, repartidas aleatoriamente en dos grupos de veinte. Cada grupo contenía 10 jaulas con una capacidad de dos gallinas, las cuales recibieron alimento y agua hasta la saciedad. Para determinar la diferencia de los efectos de ambas dietas, se midieron variables como: consumo de alimentos, porcentaje de postura, peso de los huevos y el color de la yema del huevo, que fueron determinadas diariamente, por un período de tiempo de 25 días. Para la medición del color de la yema se optó por el uso de la escala La Roche, esto debido a que se ha demostrado su conveniencia frente a métodos que miden carotenoides expresados como contenido de β -caroteno (Bovšková, Míková, & Panovská, 2014). El alimento experimental desarrollado en este trabajo se formuló en base a dos dietas, a iguales concentraciones de pigmentos carotenoides, como se muestra en la Tabla 1, donde se puede observar una dieta a base del 3% de *Arthrospira maxima* y otra dieta testigo, la cual contiene Carophyll rojo 0,015% - Carophyll amarillo al 0,015%. Cabe destacar que en la dieta experimental se sustituyen estos últimos de forma total y en la dieta testigo se ha utilizado la cantidad usualmente utilizada.

Tabla 1. Fórmula base para la alimentación de las gallinas ponedoras.

Ingrediente (%)	Dieta <i>Arthrospira</i>	Dieta Testigo
Sorgo	32,47	32,47
Maíz amarillo	10,37	10,37
Soya	10,37	10,37
Harina de Arroz	6,87	6,87
Harina de Carne	12,12	12,12
Afrechillo de Trigo	9,39	12,36
Carbonato de Calcio grueso	10,87	10,87
Carbonato de Calcio fino	0,62	0,62
Fosfato Dicálcico	3,12	3,12
Sal común (Cloruro de Sodio)	0,25	0,25
<i>Arthrospira</i>	3,00	-
Carophyll Rojo – Amarillo	-	0,03
Metionina	0,13	0,13
Lisina	0,09	0,09
Colina	0,10	0,10
Vitaminas	0,13	0,13
Minerales	0,09	0,09
Oxitetraciclina	0,01	0,01

Los minerales y vitaminas son de C.A. Laboratorios Asociados CALA, Maracay, Estado Aragua.

La cepa *Arthrospira* sp. ('*platensis*') Lefevre 1963/M-132-1 de CICALA (Culture Collection of Algal Laboratory) de la República Checa, y reclasificada como *Arthrospira maxima*, fue la seleccionada para este trabajo de investigación. La biomasa se cultivó en Medio Spirulina SAG (Sammlung von Algenkulturen der Universität Göttingen) modificado por Schlösser (1994) proveniente del medio (Aiba & Ogawa, 1977; Schlösser, 1994), el cual se preparó combinando la Soluciones I y II que fueron esterilizadas por separado a 121 °C por 15 min las cuales se dejaron enfriar a temperatura ambiente antes de ser mezcladas según junto con 5 ml de Solución de Micronutrientes (Chen, Zhang, & Guo, 1996). Para el cultivo se agregó 1 mL de inóculo correspondiente a 1,3–1,6 mg de peso seco por litro de medio (Boussiba & Richmond, 1979). El medio inoculado así obtenido se mantuvo a una temperatura de 30 °C con burbujeo de aire de 2 L·min⁻¹ y una intensidad lumínica de 80 μE·m⁻²·s⁻¹ (Chen &

Zhang, 1997). Para la obtención de la biomasa para la formulación del alimento se inoculó 1 L de cultivo en fase de saturación a 5 litros de medio y se repitió este procedimiento hasta llegar 50 L y 500 L de medio de cultivo que proporcionaron biomasa necesaria en condiciones de invernadero. La biomasa obtenida después de filtración se extendió en una capa fina sobre bandejas, que se introdujeron en un secador por convección durante 24 horas, hasta alcanzar 7% de humedad.

Los huevos utilizados para los análisis que se detallan a continuación corresponden a los obtenidos en los últimos dos días del experimento, correspondientes al día 24 y 25, de estos se apartaron 30 huevos para cada una de las dietas preparadas (dieta testigo y experimental). Del total de huevos por dieta se tomaron 10 al azar de ambos grupos, los cuales fueron separados de su cáscara, homogenizados, liofilizados y utilizados en todos los análisis.

Las proteínas se determinaron mediante el método (AOAC 960.52, 2005). El contenido de grasa se determinó mediante el método (AOAC 920.39, 2005). Las cenizas se determinaron mediante el método (AOAC 923.03, 2005). La fibra dietética mediante el método (AOAC 991.43, 2005). La humedad mediante el método (AOAC 930.15, 2005).

Los carbohidratos fueron estimados diferencia, luego de determinados los porcentajes de agua, proteínas, grasa y cenizas. Los minerales como calcio, sodio, potasio, magnesio, zinc, cobre, manganeso y hierro se cuantificaron por espectroscopia de emisión atómica de plasma, a partir de una solución de cenizas mediante el método (AOAC 985.35, 2005). El fósforo se determinó por colorimetría producido por un complejo de fósforo y molibdato, según el método descrito por la norma (AOAC 965.17, 2005).

Los polifenoles totales se determinaron con el método descrito por Singleton y colaboradores, empleando una solución estándar de ácido gálico (Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventós, 1999). Los carotenoides totales, fueron determinados según los métodos (AOAC 941.15, 2005; AOAC 970.64, 2005), los cuales fueron modificadas por la empresa CYANOTECH.

La actividad antioxidante se midió utilizando el método de Poder Reductor Férrico (FRP) (Valcárcel & Lemus, 2004). Los contenidos de colesterol, grasa saturada, grasa monoinsaturada y poliinsaturada, fueron determinados por medio de la cromatografía de gases, según los métodos (AOAC 994.10, 2005; AOAC 994.15, 2005). La vitamina B₁ (tiamina), B₂ (riboflavina) y B₆ (piridoxina) se determinaron por medio de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), para la tiamina, la rivoflavina y la piridoxina, se utilizaron los métodos (AOAC 942.23, 2005), respectivamente. Todos los procedimientos y determinaciones se realizaron por triplicado, y

se expresaron los valores como promedios \pm la desviación estándar. Para determinar las diferencias entre los dos tipos de huevos, se realizó una prueba estadística t-Student, con un nivel de confianza de $\alpha = 0,05$ para cada uno de los parámetros evaluados.

3. Resultados y Discusión

La composición de la dieta experimental ensayada en este trabajo en comparación a la dieta testigo, se muestra en la Tabla 2, en donde se pueden observar incrementos significativos en los porcentajes de: proteínas (3,53%), grasas (8,59%), fibra soluble (31,62%) y fibra insoluble (6,95%). El contenido de carotenoides fue similar para ambas dietas. Las variaciones en la dieta suplementada con *Arthrospira* pueden ser explicadas, no sólo por el porcentaje de inclusión en la dieta, sino por el alto contenido de macronutrientes presentes en la cianobacteria, lo cual ha sido ampliamente reportado en la bibliografía (Ciferri, 1983).

En la Tabla 3, se puede apreciar que en la dieta suplementada con *Arthrospira*, se muestra un incremento en la producción de huevos (5,27%), en el peso del huevo (2,31%) y en la coloración de la yema (46,15%), en comparación a la dieta testigo, cuya tendencia coincide con los valores reportados por otros autores (Mariey *et al.*, 2012). Sin embargo, el patrón de consumo de alimento para los datos reportados en este trabajo, no presentó diferencia significativa entre ambos tipos de dieta. (Ross & Dominy, 1990) también encontraron que las dietas que contenían *Arthrospira* mejoraron el promedio de producción y el peso de huevos, así como la conversión alimenticia en comparación a los grupos controles. Esto puede deberse a que *Arthrospira* mejora la función inmune, la reproducción y crecimiento por su efecto inmunomodulador (Belay, Kato, & Ota, 1996).

Tabla 2. Composición proximal de las dietas experimentales.

Contenido	Dieta <i>Arthrospira</i>	Dieta Testigo
Proteínas (g/100g)	22,90±0,94 ^b	22,12±0,69 ^a
Grasas (g/100g)	8,85±0,18 ^b	8,15±0,37 ^a
Carbohidratos (g/100g)	36,81±2,32 ^a	39,21±1,85 ^b
Cenizas (g/100g)	22,67±0,86 ^a	22,59±0,59 ^a
Fibra Total (g/100g)	8,77±0,34 ^b	7,93±0,20 ^a
Fibra Soluble (g/100g)	1,54±0,15 ^b	1,17±0,02 ^a
Fibra Insoluble (g/100g)	7,23±0,19 ^b	6,76±0,18 ^a
Carotenoides (mg/100g)	669,75±22,80 ^a	641,20±36,68 ^a

Letras distintas entre columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

Tabla 3. Parámetros de producción de las gallinas ponedoras.

Parámetro	Dieta <i>Arthrospira</i>	Dieta Testigo
Consumo del alimento (g)	137,57±6,46 ^a	132,09±7,95 ^a
Producción de huevos (%)	99,73±0,14 ^b	94,74±1,18 ^a
Peso del huevo (g)	61,47±1,69 ^b	60,08±1,24 ^a
Coloración de la yema	9,50±0,34 ^b	6,50±0,33 ^a

Letras distintas entre columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

En la Figura 1 se muestra cómo evolucionó el proceso de coloración de la yema durante 25 días, correspondiente al período de estudios. Se aprecia que la saturación de dicha curva se alcanza rápidamente y prácticamente no varía a partir del séptimo día. La pigmentación de la yema se debe al alto contenido de carotenoides totales presentes en *Arthrospira*, siendo la zeaxantina el segundo carotenoide más importante en esta cianobacteria, lo cual representa un 20% del total de los pigmentos. A pesar de tener un color verde azulado, ésta cianobacteria contiene el más alto nivel de pigmentos que cualquier fuente natural (Belay, 2008). Como se señaló anteriormente, puede haber un efecto del procesamiento de secado (extrusión o por liofilización) de la cianobacteria, lo cual facilita la conservación de los pigmentos carotenoides, siendo la liofilización la que

mejor conserva los componentes y aporta un mejor color a la yema, según la puntuación de La Roche (D. W. Anderson et al., 1991; Ross et al., 1994).

En nuestro caso, la biomasa de *Arthrospira* utilizada en el experimento se ha secado con un secador por convección, por lo que podría disminuir un tanto el efecto de pigmentación sobre la yema.

El huevo aporta luteína y zeaxantina (xantofilas), estos son pigmentos carotenoides no provitamínicos que se encuentran en la porción lipídica de las lipoproteínas de la yema del huevo, responsables del característico color amarillo-naranja. Las investigaciones han demostrado que estos carotenoides, se acumulan en la retina donde ejercen un papel antioxidante, desempeñando un rol en la prevención de la pérdida macular (Applegate, 2000). Estudios realizados en

pacientes con este padecimiento, muestran que a medida que se incrementa la concentración de ingesta de luteína, zeaxantina y omega 3, se mejora significativamente la capacidad antioxidante en el plasma, los niveles circulantes de xantofila maculares, y la densidad óptica del pigmento macular (Arnold *et al.*, 2013). En éste sentido, los

huevos provenientes de gallinas alimentadas con *Arthrospira maxima*, podrían ser considerados como un “alimento funcional”, debido a que tendrían la capacidad de proporcionar un efecto beneficioso para la salud en las personas, más allá de su valor nutricional básico. Para ello sería conveniente, realizar las pruebas pertinentes y así, demostrar su efecto.

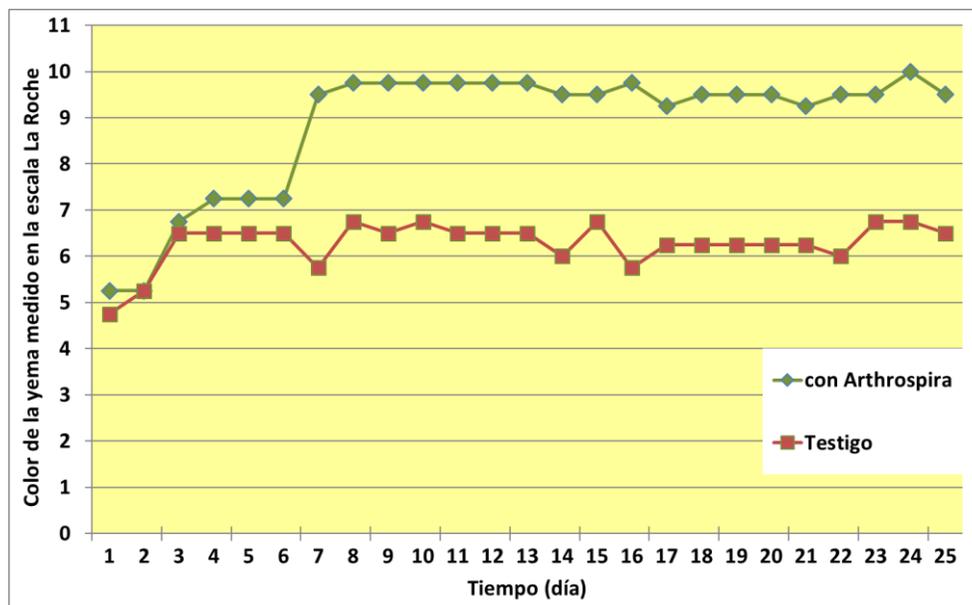


Figura 1. Evolución de la coloración de la yema durante el experimento.

En relación a la composición proximal de los huevos de gallinas, alimentadas con la dieta suplementada con *Arthrospira* y contrastada con la dieta testigo, en la Tabla 4 se observa una diferencia significativa en cuanto al contenido de proteínas, presentándose un incremento de 7,46% en

los huevos provenientes de gallinas alimentadas con la cianobacteria, en comparación con la dieta testigo. Sin embargo, en cuanto a los valores para el contenido de humedad, sólidos totales y cenizas, éstos se mantuvieron similares para ambas dietas.

Tabla 4. Composición proximal de los huevos de gallina.

Contenido (g/100g)	Dieta <i>Arthrospira</i>	Dieta Testigo
Humedad	73,99±0,39 ^a	74,36±0,46 ^a
Sólidos Totales	26,01±0,39 ^a	25,64±0,46 ^a
Proteínas	12,39±0,13 ^b	11,53±0,27 ^a
Grasa	11,44±0,11 ^a	12,38±0,13 ^b
Ceniza	0,98±0,05 ^a	0,99±0,44 ^a
Carbohidratos	1,20±0,06 ^b	0,74±0,04 ^a

Letras distintas entre columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

©The Author(s) 2017. This article is published with open access by Sociedad Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal.

Los trabajos realizados con gallinas ponedoras, en dietas suplementadas con *Arthrospira*, han reportado un incremento en el nivel de las proteínas totales, en aproximadamente un 27%. Así mismo, un aumento de un 8% de albúmina y de un 32% globulina en el plasma sanguíneo, lo cual está directamente relacionado con la cantidad y calidad de la proteína presente en la dieta alimentaria (Mariey *et al.*, 2012).

En cuanto al contenido de grasa, también se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambas dietas, observándose una disminución de 10,75% en los huevos de gallinas alimentadas con *Arthrospira*, en comparación con la dieta testigo. Estos resultados coinciden con otros trabajos, donde encontró disminución en la concentración, tanto de los triglicéridos en un 7,6%, como de lípidos totales en un 9,6%, para las gallinas alimentadas con una dieta que incluían *Arthrospira*. Esta reducción puede estar relacionada con los bajos niveles de estos compuestos en el

plasma sanguíneo de las gallinas (Mariey *et al.*, 2012). Otras investigaciones han concluido, que el metabolismo de los lípidos puede estar modulado favorablemente por el contenido del ácido graso γ -linolénico (GLA) y antioxidantes presentes en esta cianobacteria (Iyer, Dhruv, & Mani, 2008). En la Tabla 5 se presenta el perfil de minerales para los huevos de gallinas alimentadas con la dieta suplementada con *Arthrospira*, en comparación con la dieta testigo. Para los minerales calcio, sodio, magnesio, zinc, cobre y manganeso, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambas dietas. En cuanto al potasio, el hierro y el fósforo, mostraron un incremento del 35,07%, 31,85% y 16,77%, respectivamente. Esto podría ser explicado partiendo de que esta cianobacteria posee un alto contenido de estos minerales, cuyos valores se han reportado en 1660 mg/100g, 87,4 mg/100g 961 mg/100g, aproximadamente (Belay, 2008).

Tabla 5. Contenido de minerales y vitaminas en base seca en los huevos de gallina.

Elemento (mg/100 g)	Dieta <i>Arthrospira</i>	Dieta Testigo
Sodio	148,33±3,08 ^a	142,06±6,06 ^a
Potasio	189,12±12,32 ^b	140,02±4,57 ^a
Fósforo	291,35±12,10 ^b	249,50±7,46 ^a
Hierro	4,47±0,19 ^b	3,59±0,22 ^a
Calcio	76,57±1,46 ^a	70,26±4,51 ^a
Magnesio	10,82±0,63 ^a	11,58±0,44 ^a
Zinc	2,34±0,14 ^a	2,13±0,10 ^a
Cobre	0,083±0,004 ^a	0,078±0,005 ^a
Manganeso	0,010±0,002 ^a	0,008±0,001 ^a
B₁ (Tiamina)	0,11±0,02 ^a	0,10±0,02 ^a
B₂ (Riboflavina)	0,51±0,03 ^a	0,51±0,03 ^a
B₆ (Piroxidina)	0,23±0,01 ^a	0,24±0,01 ^a

Letras distintas entre columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

El hierro que contiene *Arthrospira* es biodisponible y se ha demostrado que puede ser fácilmente absorbido en el tracto gastrointestinal, hasta seis veces más que el sulfato ferroso (Johnson & Shubert, 1986). La formación de ferritina a partir de *Arthrospira*, expresada por microgramo de hierro, en un sistema por digestión de cultivo celular Caco-2 *in vitro*, ha mostrado ser 6,5 veces mayor que la carne y 7,5 veces más alta para el sulfato ferroso en presencia de ácido ascórbico (Puyfoulhoux *et al.*, 2001), lo que pudiese constituir una posible vía explicativa para el alto contenido de este mineral en los huevos obtenidos de gallinas alimentadas con la dieta suplementada con *Arthrospira* (ver Tabla 5).

Arthrospira no posee grupo hemo (hierro acomplejado por grupos porfirinas) que eleva la biodisponibilidad de este mineral (Monsen *et al.*, 1978). Esta cianobacteria contiene grupos tetrapirroles de cadena abierta llamados ficocianobilinas (grupos de porfirina abiertos), unidos a proteínas que conforman las ficocianinas, los cuales pueden formar complejos solubles con el hierro y otros minerales (Jassby, 1998). La elevada biodisponibilidad de este mineral, también ha sido explicada por estar asociado

en la superficie de proteínas por medio de enlaces iónicos, el cual puede ser liberado fácilmente en la digestión péptica (Richmond, 1989).

Lo anteriormente señalado, permite inferir que el hierro de la dieta suplementada con *Arthrospira*, fue mejor absorbido por las gallinas, y un mayor nivel de este mineral en las aves, implica un mayor contenido del mismo en los huevos, sin embargo, este es un mineral problemático en los huevos, debido a que está presente en la forma férrica, enlazado a proteínas como la ovotransferrina y fosfovitina, en consecuencia su disponibilidad es relativamente baja (Seuss-Baum, 2007).

En la Tabla 5 se puede observar también el perfil de vitaminas del grupo B (tiamina, piridoxina y riboflavina) las cuales no mostraron diferencias estadísticamente significativas para los huevos provenientes de ambas dietas.

En la Tabla 6 se muestra una disminución del 50,10% en el contenido de colesterol, lo cual es estadísticamente significativo, para los huevos de gallinas alimentadas con la dieta suplementada con *Arthrospira* en comparación con la dieta testigo.

Tabla 6. Contenido de colesterol en los huevos de gallina.

Parámetro (mg/100g)	Dieta <i>Arthrospira</i>	Dieta Testigo
Contenido Colesterol	282,21±6,08 ^a	565,62±10,04 ^b
Ácidos Grasos Saturados	6,42±0,06 ^b	5,95±0,05 ^a
Ácidos Grasos Monoinsaturados	6,59±0,05 ^a	7,14±0,07 ^b
Ácidos Grasos Polinsaturados	3,02±0,02 ^a	2,49±0,02 ^a

Letras distintas entre columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

(Torres-Durán *et al.*, 1998) han señalado que en gallinas alimentadas con dietas suplementadas al 0,2% de *Arthrospira*, hubo una tendencia a disminuir el contenido de colesterol en la yema de los huevos en un 24%, una disminución de un 6,7% en el

plasma de las gallinas y de 21% para los lípidos totales. Se ha encontrado que para el 5% de inclusión de *Arthrospira*, en dietas para ratas, los niveles de colesterol y triglicéridos en el hígado disminuyeron en un 11% y un 28%, respectivamente,

asociando estos efectos hepatoprotectores a la actividad antioxidante de esta cianobacteria. Esta reducción de colesterol y lípidos totales en la yema fue asociada a la disminución de los niveles de estos componentes en el plasma de las gallinas (Mariey *et al.*, 2012).

Se han propuesto varias hipótesis para identificar los mecanismos directos responsables del potencial hipocolesterolémico e hipolipidémico de *Arthrospira*. Una de esas hipótesis, se centra en el alto contenido de ácido γ -linolénico, ya que *Arthrospira* es una de las pocas fuentes de alimentación del reino vegetal que contiene este compuesto en grandes cantidades, reportando valores de 1080 mg/100g (Belay, 2008; Mühling, Belay, & Whitton, 2005). El ácido γ -linolénico es el precursor en el organismo de las prostaglandinas, las cuales son esenciales en la regulación de una variedad de funciones bioquímicas básicas como la presión sanguínea, la síntesis de colesterol, inflamación y la proliferación de células, de tal manera que el ácido γ -linolénico de *Arthrospira* puede regular los niveles de colesterol (Belay & Houston, 2002; Gershwin & Belay, 2008). Otra hipótesis hace énfasis en los efectos favorables de la composición de aminoácidos de alta calidad de las proteínas de las algas sobre las lipoproteínas séricas. Los estudios han demostrado que existe una alta relación del consumo de arginina con la disminución de los niveles de colesterol en plasma y el bajo consumo de metionina con una menor incidencia de enfermedades coronarias (Teixeira *et al.*, 2000). El análisis nutricional de las proteínas de *Arthrospira* ha revelado esta deseable composición de aminoácidos (4310 mg de arginina y 1170

mg de metionina por 100 g de *Arthrospira*) (Gershwin & Belay, 2008). Sin embargo, también es factible que las propiedades hipocolesterolémicas de *Arthrospira* puedan deberse a un efecto integrado de aminoácidos y los componentes no proteicos como fibra, fitonutrientes y antioxidantes (J. W. Anderson & Hanna, 1999).

Los principales responsables del aumento de los niveles de colesterol en sangre son las grasas saturadas y las parcialmente hidrogenadas. Aunque la mayor parte de los alimentos ricos en colesterol suelen ser también ricos en grasas saturadas, el huevo no lo es, debido al contenido de fosfolípidos que interfiere en la absorción del colesterol, razón por la cual tiene un bajo efecto sobre el colesterol sanguíneo. En concreto, se ha demostrado que no existe una asociación entre el consumo de huevos, con la aparición y desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Las recomendaciones nutricionales mantienen el máximo de 300 mg de colesterol por persona al día, pero en relación al consumo de huevos, han rectificado y no lo limitan (Applegate, 2000).

En la Tabla 7 se puede observar que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al contenido de polifenoles y al poder reductor férrico por parte de la suplementación con *Arthrospira* en comparación con la dieta testigo. Sin embargo, con respecto al contenido de carotenoides se encontró una diferencia estadísticamente significativa para los huevos de gallina alimentada con la dieta suplementada con *Arthrospira*, en los cuales se observó un incremento del 45,82% en comparación con los huevos de la dieta testigo.

Tabla 7. Composición de antioxidantes de los huevos de gallina.

Contenido	Dieta <i>Arthrospira</i>	Dieta Testigo
Carotenoides (mg/100g)	1940,54 ±61,11 ^b	1330,78±41,09 ^a
Polifenoles (mg EGA/100g)	10,25±0,52 ^a	9,89±0,63 ^a
Poder Reductor (mmol Fe ²⁺ /100g)	12,09±0,48 ^a	11,07±0,30 ^a

Letras distintas entre columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

Por los resultados expuestos, se puede observar que a partir de concentraciones de carotenoides iguales en las distintas formulaciones, la inclusión de *Arthrospira* induce más coloración que el sustituto sintético Carophyll® en la yema de huevo. Esto se debe a la amplia gama de carotenoides que posee *Arthrospira* y su alta biodisponibilidad en comparación al sustituto sintético Carophyll®. Los carotenoides de este último se encuentran de forma libre a diferencia de *Arthrospira*, en la cual, en su mayoría se encuentran esterificados con ácidos grasos esenciales, depositándose en mayor concentración en las membranas lipídicas de la yema del huevo. A pesar de haberse suministrado iguales cantidades de carotenoides, los provenientes de *Arthrospira* logran más coloración de la yema. Por tanto, las microalgas del género *Arthrospira* pueden ser usadas en la formulación de alimentos para gallinas ponedoras como fuente de carotenoides para la pigmentación de la yema de huevo.

4. Conclusiones

La suplementación del alimento de gallinas ponedoras con la cianobacteria *Arthrospira maxima*, generó incrementos significativos en la producción de huevos, así como también en sus características fisicoquímicas (peso, color de la yema, proteínas, minerales y compuestos bioactivos como los carotenoides). Por otra parte, produjo la disminución importante del

contenido de grasas y colesterol en los huevos e incrementó los niveles de proteínas y minerales como potasio, hierro y fósforo. Así mismo, el incremento de la luteína y zeaxantina en el huevo, producto del suplemento con esta cianobacteria, podría contribuir a mejorar las condiciones de las personas con deficiencia en niveles circulantes de xantofilas maculares, y de la densidad óptica del pigmento macular. En este sentido, se ha considerado que los huevos producidos a partir de la dieta suplementada con *Arthrospira* pudiesen considerarse un “alimento funcional”, al generar efectos favorables adicionales a su valor nutricional básico. No es menos cierto, que bajo esta premisa tanto *Arthrospira máxima*, como los huevos obtenidos usando el pienso suplementado, pueden ser considerados “alimentos funcionales”. Sin embargo, lo son de formas distintas, *Arthrospira* por poseer diversos efectos beneficiosos para la salud, como por ejemplo: antioxidantes, inmunoregulación, anticancerígenos, antivirales, antialérgicos, antihiperlipidémico y antihiperlipidémico. Los huevos, puesto que, producto de la suplementación del pienso con *Arthrospira* han visto incrementadas las cantidades de luteína y zeaxantina y, disminuidas las de grasas y el colesterol. Es producto de estos incrementos y disminuciones, que el huevo así obtenido, pudiese aportar efectos distintos a los ya conocidos. Es de hacer notar que la obtención de este “alimento funcional” se logra mediante una acción indirecta sobre las gallinas alimentadas con

el pienso suplementado. En realidad, los efectos antes mencionados por parte de *Arthrospira*, y que se creen redundan en la salud en general, pareciese en este caso que se han manifestado en las ponedoras y concomitantemente se reflejan en la calidad de sus huevos. Claro está que esta afirmación no puede ser probada con la experiencia que hemos realizado, pues solo se mide de forma indirecta. Para explorar esta posibilidad, se debería repetir la experiencia evaluando otros parámetros que den cuenta de la salud de las aves. Sin embargo, en este caso *Arthrospira*, cumple un papel fundamental en la inducción del resultado obtenido y es en nuestra opinión un caso interesante de Biotecnología algal, pues es gracias al alga que un alimento “común”, se transforma en lo que podría ser considerado uno “funcional”.

Los resultados obtenidos en este trabajo, tomados en conjunto, permiten considerar la inclusión de *Arthrospira* como un componente en la formulación de dietas animales, no solamente por sus efectos directos sobre los mismos, sino por los beneficios que *a posteriori* pudiese obtener el ser humano al consumir estos animales o sus subproductos.

5. Agradecimientos

Este trabajo de investigación fue financiado parcialmente por el Sub-proyecto BID-FONACIT N° 20006000537 “Desarrollo y optimización del cultivo de microalgas promisorias en la nutrición animal (aves, porcinos, peces y camarones) y creación de la Red Venezolana de Investigación en Microalgas”, Ministerio del Poder Popular para la Ciencia y la Tecnología de Venezuela.

Open Access: This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC-BY 4.0) which permits any use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and the source are credited.

6. Referencias

- Aiba, S., & Ogawa, T. (1977). Assessment of Growth Yield of a Blue-green Alga, *Spirulina platensis*, in Axenic and Continuous Culture. *Journal of General Microbiology*, 102(2), 179–182.
- Anderson, D. W., Tang, C. S., & Ross, E. (1991). The Xanthophylls of *Spirulina* and Their Effect on Egg Yolk Pigmentation. *Poultry Science*, 70(1), 103–114.
- Anderson, J. W., & Hanna, T. J. (1999). Impact of nondigestible carbohydrates on serum lipoproteins and risk for cardiovascular disease. *The Journal of Nutrition*, 129(7), 1457S–1466S.
- AOAC 920.39. (2005). Fat (Crude) or Ether Extract in Animal Feed. In W. Horwitz & G. W. Latimer (Eds.), *Official methods of analysis of AOAC international*.
- AOAC 923.03. (2005). Ash of Flour (Direct Method). In W. Horwitz & G. W. Latimer (Eds.), *Official methods of analysis of AOAC international*.
- AOAC 930.15. (2005). Loss on Drying (Moisture) for Feeds. In W. Horwitz & G. W. Latimer (Eds.), *Official methods of analysis of AOAC international*.

- AOAC 941.15. (2005). Carotene in Fresh Plant Materials and Silages. In W. Horwitz & G. W. Latimer (Eds.), *Official methods of analysis of AOAC international*.
- AOAC 942.23. (2005). Thiamine (Vitamin B1) in Human and Pet Foods. In W. Horwitz & G. W. Latimer (Eds.), *Official methods of analysis of AOAC international*.
- AOAC 960.52. (2005). Microchemical Determination of Nitrogen. In W. Horwitz & G. W. Latimer (Eds.), *Official methods of analysis of AOAC international*.
- AOAC 965.17. (2005). Phosphorus in Animal Feed and Pet Food. In W. Horwitz & G. W. Latimer (Eds.), *Official methods of analysis of AOAC international*.
- AOAC 970.64. (2005). Carotenes and Xanthophylls in Dried Plant Materials and Mixed Feeds. In W. Horwitz & G. W. Latimer (Eds.), *Official methods of analysis of AOAC international*.
- AOAC 985.35. (2005). Mineral in Infant Formula, Enteral Products, and Pet Foods. In W. Horwitz & G. W. Latimer (Eds.), *Official methods of analysis of AOAC international*.
- AOAC 991.43. (2005). Total, Soluble, and Insoluble Dietary Fiber in Foods. In W. Horwitz & G. W. Latimer (Eds.), *Official methods of analysis of AOAC international*.
- AOAC 994.10. (2005). Cholesterol in Foods. In W. Horwitz & G. W. Latimer (Eds.), *Official methods of analysis of AOAC international*.
- AOAC 994.15. (2005). Total cis- and trans-Octadecenoic Isomers and General Fatty Acid Composition in Hydrogenated Vegetable Oils and Animal Fats. In W. Horwitz & G. W. Latimer (Eds.), *Official methods of analysis of AOAC international*.
- Applegate, E. (2000). Introduction: Nutritional and Functional Roles of Eggs in the Diet. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(5), 495S–498S.
- Arnold, C., Winter, L., Fröhlich, K., Jentsch, S., Dawczynski, J., Jahreis, G., & Böhm, V. (2013). Macular xanthophylls and ω -3 long-chain polyunsaturated fatty acids in age-related macular degeneration: a randomized trial. *JAMA Ophthalmology*, 131(5), 564–572. <http://doi.org/10.1001/jamaophtho.1.2013.2851>
- Ávila, E., & Cuca, M. (1974). Efectividad de la alga *Spirulina geitleri* sobre la pigmentación de la yema de huevo. *Técnica Pecuaria En México*, 26(1), 47–48.
- Belay, A. (2008). Spirulina (Arthrospira): Production and Quality Assurance. In M. E. Gershwin & A. Belay (Eds.), *Spirulina in Human Nutrition and Health* (pp. 1–25). Boca Raton: CRC Press.
- Belay, A., & Houston, M. (2002). The Potential Application of Spirulina (Arthrospira) as a Nutritional and Therapeutic Supplement in Health Management. *The Journal of the*

- American Nutraceutical Association, 5(2), 27–48.
- Belay, A., Kato, T., & Ota, Y. (1996). Spirulina (Arthrospira): potential application as an animal feed supplement. *Journal of Applied Phycology*, 8(4–5), 303–311.
- Bezares, A., Arteaga, C., & Ávila, E. (1976). Valor pigmentante y nutritivo del alga espirulina en dietas para gallinas en postura. *Técnica Pecuaria En México*, 30(1), 30–34.
- Boussiba, S., & Richmond, A. E. (1979). Isolation and characterization of phycocyanins from the blue-green alga *Spirulina platensis*. *Archives of Microbiology*, 120(2), 155–159.
- Bovšková, H., Míková, K., & Panovská, Z. (2014). Evaluation of egg yolk colour. *Czech Journal of Food Sciences*, 32(3), 213–217.
- Chamorro, G., Salazar, M., Favila, L., & Bourges, H. (1996). Farmacología y Toxicología del alga Spirulina. *La Revista de Investigación Clínica*, 48(5), 389–399.
- Chen, F., & Zhang, Y. (1997). High cell density mixotrophic culture of *Spirulina platensis* on glucose for phycocyanin production using a fed-batch system. *Enzyme and Microbial Technology*, 20(3), 221–224.
- Chen, F., Zhang, Y., & Guo, S. (1996). Growth and phycocyanin formation of *Spirulina platensis* in photoheterotrophic culture. *Biotechnology Letters*, 18(5), 603–608.
- Ciferri, O. (1983). Spirulina, the Edible Microorganism. *Microbiological Reviews*, 47(4), 551–578.
- Gershwin, M. E., & Belay, A. (2008). *Spirulina in Human Nutrition and Health*. (M. E. Gershwin & A. Belay, Eds.). Boca Raton: CRC Press.
- ILSI. (1999). Scientific concepts of functional foods in Europe. Consensus document. *The British Journal of Nutrition*, 81(S1), 1–27.
- Iyer, U. M., Dhruv, S. A., & Mani, I. U. (2008). Therapeutic Implications as a Food Product. In M. E. Gershwin & A. Belay (Eds.), *Spirulina in Human Nutrition and Health* (pp. 51–70). Boca Raton: CRC Press.
- Jassby, A. (1998). Spirulina: a model for microalgae as human food. In C. A. Lembi & J. R. Waaland (Eds.), *Algae and Human Affairs* (pp. 149–179). Cambridge: Cambridge University Press.
- Johnson, P. E., & Shubert, L. E. (1986). Availability of iron to rats from spirulina, a blue-green alga. *Nutrition Research*, 6(1), 85–94.
- Mariey, Y. A., Samak, H. R., & Ibrahim, M. A. (2012). Effect of using *Spirulina platensis* algae as a feed additive for poultry diets: Productive and reproductive performance of local laying hens. *Egyptian Poultry Science Association*, 32(I), 201–215.
- Monsen, E. R., Hallberg, L., Layrisse, M., Hegsted, D. M., Cook, J. D., Mertz, W., & Finch, C. A. (1978). Estimation

- of available dietary iron. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 31(1), 134–141.
- Mühling, M., Belay, A., & Whitton, B. (2005). Variation in fatty acid composition of *Arthrospira* (*Spirulina*) strains. *Journal of Applied Phycology*, 17(2), 137–146.
- Olguín E. J. (2000). The cleaner production strategy applied to animal production. In E. J. Olguín, G. Sánchez, & E. Hernández (Eds.), *Environmental Biotechnology and Cleaner Bioprocesses* (pp. 227–243). Philadelphia: CRC Press.
- Puyfoulhoux, G., Rouanet, J.-M., Besançon, P., Baroux, B., Baccou, J. C., & Caporiccio, B. (2001). Iron availability from iron-fortified spirulina by an in vitro digestion/Caco-2 cell culture model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3), 1625–1629.
- Richmond, A. (1989). *Spirulina*. In M. A. Borowitzka & L. J. Borowitzka (Eds.), *Micro-Algal Biotechnology* (pp. 85–121). Sydney: Cambridge University Press.
- Ross, E., & Dominy, W. (1990). The Nutritional Value of Dehydrated, Blue-Green Algae (*Spirulina plantensis*) for Poultry. *Poultry Science*, 69(6), 794–800.
- Ross, E., Puapong, D. P., Cepeda, F. P., & Patterson, P. H. (1994). Comparison of Freeze-Dried and Extruded *Spirulina platensis* as Yolk Pigmenting Agents. *Poultry Science*, 73(8), 1282–1289.
- Schlösser, U. G. (1994). SAG-Sammlung von Algenkulturen at the University of Göttingen Catalogue of Strains 1994. *Botanica Acta*, 107(3), 111–186.
- Seuss-Baum, I. (2007). Nutritional Evaluation of Egg Compounds. In R. Huopalahti, R. López-Fandiño, M. Anton, & S. Rüdiger (Eds.), *Bioactive Egg Compounds* (pp. 117–144). Berlin Heidelberg: Springer.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, 299(Oxidants and Antioxidants Part A), 152–178.
- Teixeira, S. R., Potter, S. M., Weigel, R., Hannum, S., Erdman, J. W., & Hasler, C. M. (2000). Effects of feeding 4 levels of soy protein for 3 and 6 wk on blood lipids and apolipoproteins in moderately hypercholesterolemic men. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71(5), 1077–1084.
- Torres-Durán, P. V, Miranda-Zamora, R., Paredes-Carbajal, M. C., Mascher, D., Díaz-Zagoya, J. C., & Juárez-Oropeza, M. a. (1998). *Spirulina maxima* prevents induction of fatty liver by carbon tetrachloride in the rat. *Biochemistry and Molecular Biology International*, 44(4), 787–793.
- Valcárcel, P. B., & Lemus, Y. B. (2004). El Potencial Reductor Férrico (FRP). Un ensayo para evaluar la capacidad antioxidante en suero. *Correo Científico Médico de Holguín*, 8(4).