
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

ETTORE TIBALDI

**Analisi gascromatografica degli acidi grassi durante
lo sviluppo embrionale del pollo (*Gallus gallus* L.)**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 44 (1968), n.6, p. 833–839.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1968_8_44_6_833_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)*

SIMAI & UMI

<http://www.bdim.eu/>

SEZIONE III

(Botanica, zoologia, fisiologia e patologia)

Zoologia. — *Analisi gascromatografica degli acidi grassi durante lo sviluppo embrionale del pollo (Gallus gallus L.)* (*). Nota di ETTORÈ TIBALDI, presentata(**) dal Corrisp. S. RANZI.

SUMMARY. — During the development of the chick egg the fatty acids were studied by means of gas-liquid chromatography. It was possible to place in evidence a series of quantitative changes which are especially evident starting from the 10th day. In this period the decrease of palmitic, linoleic and palmitoleic acid is particularly notable, whilst an increase of oleic acid is evident. The stearic acid increases from the 13th to 17th day. The stearic and oleic acids show a similar pattern which is perhaps due to the relationship of their structural analogy.

The significance of other quantitative changes noted during the development were also discussed.

Lo sviluppo embrionale del pollo è accompagnato da una serie di modificazioni a carico dei lipidi.

Romanoff ha riunito gran parte delle cognizioni attuali sulle modificazioni biochimiche dell'embrione di pollo durante lo sviluppo [7].

L'embrione di pollo utilizza selettivamente le differenti componenti lipidiche del tuorlo ed è facile concludere, dai dati della bibliografia [8, 10, 11], che una utilizzazione massiva ha luogo intorno al 10° giorno. Remotti [6] nel suo lavoro sulla assunzione delle riserve grasse durante lo sviluppo embrionale del pollo, ha messo in evidenza un notevole incremento della attività lipolitica nell'uovo fra il 5° ed il 15° giorno di sviluppo. In questo periodo secondo lo stesso autore, ha luogo una prima assunzione globale, cui fa seguito una utilizzazione selettiva.

Cigada [2] ha osservato trasformazioni a carico delle proteine del tuorlo, interpretandole come preparazione all'intensa attività proteolitica che ha luogo fra l'8° ed il 10° giorno.

Liebermann [4] ha identificato gran parte degli acidi grassi presenti nell'uovo di pollo, concludendo che il 40 % è rappresentato da acido oleico, il 38 % da acido palmitico ed il 15 % da acido stearico.

Sono state impiegate uova di pollo (*Gallus gallus L.*, razza livornese bianca) a differenti stadi di sviluppo. Gli embrioni, con tutti gli annessi, incluso il tuorlo, e privati degli involucri, albume compreso in cui i grassi sono praticamente assenti, sono stati omogeneizzati con cloro-

(*) Le presenti ricerche sono state eseguite nel Laboratorio di Zoologia all'Università statale di Milano.

(**) Nella seduta dell'8 giugno 1968.

formio, metanolo ed etere etilico in parti uguali, per estrarre i lipidi. L'estratto, filtrato, è stato evaporato a 30-40°C, sotto azoto. L'acqua residua nell'estratto è stata eliminata per azeotropia di benzene. Dopo saponificazione con potassa metanolica ed estrazione degli acidi grassi per acidificazione con HCl, sono stati preparati gli esteri metilici mediante una miscela di acido solforico e metanolo. Gli esteri metilici, estratti in imbuto separatore con etere etilico, sono stati sottoposti ad analisi gascromatografica.

È stato utilizzato un gascromatografo Fractovap, della Carlo Erba, sotto le seguenti condizioni operative: come gas trasportatore è stato impiegato azoto alla pressione di 0,80 - 0,70 Kg/cm²; temperatura della colonna 200°C; temperatura dell'evaporatore 180°C; colonna riempita con CEAS 20%, lunga due metri e con diametro di 3 mm; velocità della carta del registratore 1/2 pollice al minuto.

Gli acidi grassi sono stati identificati mediante il calcolo del tempo di ritenzione relativo all'acido palmitico, usato come standard, e mediante il calcolo della relazione lineare fra il logaritmo del tempo di ritenzione relativo all'acido palmitico ed il numero degli atomi di carbonio degli acidi grassi.

Le percentuali, in peso, degli acidi grassi, sono state calcolate, sulla base del metodo proposto da Carrol [1] e con l'impiego degli adatti fattori di correzione calcolati su una miscela di acidi grassi standard. Tale metodo è già stato impiegato in un precedente lavoro [9].

Per ottenere maggiori indicazioni sulla dinamica degli acidi grassi durante lo sviluppo i valori percentuali ottenuti sono stati rapportati alle variazioni quantitative dei lipidi totali durante lo sviluppo, tratte da Romanoff [7]. I dati, percentuali in peso ed i dati risultanti da tale rapporto sono riportati nella Tabella I. Nella fig. 1 sono indicate le variazioni percentuali durante lo sviluppo dell'acido palmitico, dell'acido palmitoleico, dell'acido stearico, dell'acido oleico e dell'acido linoleico. Nella fig. 2 sono indicate le variazioni ponderali dei diversi acidi grassi durante lo sviluppo come risultano dai dati percentuali interpolati in base a quelli di Romanoff [7].

Sui risultati ottenuti è possibile effettuare la seguente serie di considerazioni.

a) *Composizione in acidi grassi dell'uovo di pollo.* Le determinazioni sull'uovo di pollo non incubato sono in accordo con quelle riportate di Hilditch [3] e ne sono la conferma effettuata con metodi gascromatografici. È altresì confermato che la composizione in acidi grassi dell'uovo di pollo è molto simile a quella dei grassi di deposito ⁽¹⁾; questo aspetto presenta un notevole interesse: nei Mammiferi le differenze fra i diversi tessuti sono cospicue mentre negli Uccelli non esistono differenze di questo tipo, neppure in un deposito lipidico altamente specializzato quale è il deutoplasma dell'uovo (Hilditch [3]).

b) *Variazioni percentuali degli acidi grassi durante lo sviluppo.* I dati ottenuti mediante analisi gascromatografica, che sono riportati nella Tabella I, indicano che la maggior parte delle modificazioni a carico degli acidi grassi durante lo sviluppo ha inizio fra il 10° e l'11° giorno. In questo periodo l'acido palmitico e l'acido palmitoleico decrescono (fig. 1), l'acido oleico aumenta, per raggiungere immediatamente dopo un livello che resta stabile per alcuni giorni, l'acido linoleico decresce fino al 16° giorno ed al 17° giorno.

(1) Hilditch [3] riferisce alcuni dati riguardanti i lipidi del pollo di razza Sussex: acido palmitico 24,6 %, acido stearico 4,1 %, acido oleico 42 %, acido linoleico 20 %, acidi grassi insaturi con 20 atomi di carbonio 0,8 % circa.

TABELLA I.

Composizione percentuale ed in g degli acidi grassi di uova di pollo durante lo sviluppo ().*

Giorni di incubazione	Totale	16 : 0	16 : 1	18 : 0	18 : 1	18 : 2	18 : 3	20 : 0
0	6,3	(2,56) 1,61	(6,5) 0,41	(6,3) 0,40	(37,0) 2,33	(20,1) 1,26	(0,6) 0,03	(0,6) 0,03
1	6,3	(25,6) 1,61	(6,5) 0,41	(6,3) 0,40	(37,0) 2,33	(20,1) 1,26	(0,6) 0,03	(0,6) 0,03
2	6,3	(26,8) 1,68	(6,7) 0,41	(6,5) 0,40	(37,9) 2,38	(20,5) 1,26	(0,7) 0,03	(0,6) 0,03
3	6,3	(26,9) 1,68	(6,5) 0,42	(6,5) 0,41	(38,1) 2,38	(20,5) 1,29	(0,6) 0,04	(0,7) 0,03
4	6,3	(26,9) 1,68	(6,6) 0,42	(6,6) 0,41	(37,4) 2,35	(20,6) 1,29	(0,7) 0,04	(0,9) 0,05
5	6,3	(27,7) 1,74	(6,2) 0,39	(6,5) 0,41	(36,2) 2,28	(20,5) 1,29	(0,7) 0,04	(0,9) 0,05
6	6,3	(28,5) 1,79	(6,0) 0,37	(6,4) 0,40	(36,1) 2,27	(20,8) 1,31	(0,7) 0,04	(1,0) 0,06
7	6,1	(28,0) 1,75	(6,2) 0,39	(6,3) 0,39	(36,1) 2,25	(21,0) 1,31	(0,8) 0,05	(1,0) 0,06
8	6,2	(28,3) 1,75	(6,1) 0,37	(6,0) 0,37	(36,0) 2,23	(21,0) 1,30	(0,8) 0,05	(0,7) 0,04
9	6,1	(28,8) 1,77	(5,4) 0,33	(5,8) 0,35	(35,8) 2,20	(21,7) 1,33	(0,8) 0,05	(0,7) 0,04
10	6,0	(29,9) 1,79	(4,8) 0,28	(5,5) 0,33	(35,3) 2,18	(21,8) 1,30	(0,8) 0,05	(0,7) 0,04
11	5,9	(26,7) 1,58	(4,5) 0,26	(5,4) 0,32	(40,1) 2,38	(20,0) 1,19	n.s.	(1,1) (0,04)
12	5,8	(25,3) 1,48	(4,3) 0,25	(5,3) 0,31	(43,9) 2,56	(19,0) 1,11	n.s.	(1,2) 0,06
13	5,7	(25,4) 1,44	(4,2) 0,23	(5,3) 0,30	(44,1) 2,51	(19,0) 1,11	n.s.	(1,0) 0,07
14	5,6	(25,42) 1,42	(4,2) 0,23	(5,9) 0,33	(45,6) 2,55	(18,0) 1,00	n.s.	(1,1) 0,05
15	5,5	(25,5) 1,40	(3,8) 0,21	(5,8) 0,31	(46,1) 2,53	(14,3) 0,78	n.s.	(1,0) 0,06
16	5,3	(25,5) 1,36	(3,5) 0,18	(6,8) 0,36	(46,8) 2,50	(12,1) 0,64	n.s.	(1,0) 0,05
17	5,1	(25,6) 1,31	(2,5) 0,12	(7,8) 0,40	(47,6) 2,45	(12,5) 0,61	n.s.	(0,06) 0,03

Segue: TABELLA I.

Giorni di incubazione	Totale	16 : 0	16 : 1	18 : 0	18 : 1	18 : 2	18 : 3	20 : 0
18	4,9	(25,7) 1,25	(2,0) 0,09	(7,0) 0,34	(47,6) 2,33	(12,5) 0,61	n.s.	(0,7) 0,03
19	4,6	(25,7) 1,18	(2,5) 0,11	(6,4) 0,29	(47,7) 2,19	(12,5) 0,58	n.s.	(0,7) 0,03
20	4,1	(25,6) 1,04	(2,7) 0,11	(6,0) 0,24	(47,8) 1,95	(14,7) 0,60	n.s.	(0,6) 0,02
21	3,5	(26,7) 0,94	(2,9) 0,10	(5,4) 0,19	(47,8) 1,69	(15,3) 0,54	n.s.	(0,7) 0,02

(*) Tra parentesi sono indicate le percentuali ottenute dall'analisi gascromatografica, sotto ad ogni valore percentuale sono invece indicati i grammi derivati da questi per interpolazione con i dati di Romanoff sulle variazioni dei lipidi totali durante lo sviluppo. I dati di Romanoff sono indicati nella seconda colonna a sinistra, espressi in grammi. Nella abbreviazione degli acidi grassi la prima cifra indica il numero degli atomi di carbonio, la seconda cifra indica il numero di doppi legami: acido palmitico 16 : 0, acido stearico 18 : 0, acido arachidico 20 : 0, acido palmitoleico 16 : 1, acido oleico 18 : 1, acido linoleico 18 : 2, acido linolenico 18 : 3.

L'acido stearico inizia ad aumentare lievemente al 13° giorno. Altri acidi grassi (linoleico ed arachidico) rimangono praticamente costanti. I dati sopra riportati indicano, in accordo con Liebermann [4], che l'embrione nei primi stadi di sviluppo, praticamente fino al 10° giorno, non è in grado di desaturare gli acidi grassi. Viene altresì confermata l'importanza del periodo compreso fra il 9° e l'11° giorno in cui avviene la maggior parte delle modificazioni del comportamento dei lipidi (Remotti [6]) cui corrisponde quello delle proteine (Cigada [2]).

c) *Variazioni ponderali degli acidi grassi durante lo sviluppo.* I valori delle modificazioni ponderali cui vanno incontro gli acidi grassi durante lo sviluppo embrionale sono riportati nella Tabella I e nella fig. 2. Essi mettono ben in evidenza i cambiamenti che avvengono intorno al 10° giorno. Questo risultato è direttamente correlabile con la apparizione di goccioline di grasso nel tuorlo al 10° giorno (Virchow [10]), che è stato possibile osservare chiaramente anche durante la presente ricerca. In accordo con Liebermann [4] e con Remotti [6] si osserva un primo decremento selettivo a carico degli acidi di cui si è detto.

Sempre in accordo coi due Autori precedentemente citati ad una prima utilizzazione selettiva fa seguito una utilizzazione non selettiva. È possibile mettere in evidenza che l'acido stearico e l'acido oleico non decrescono uniformemente, ma aumentano rispettivamente dal 13° al 17° giorno e dal 10° al 12° giorno di sviluppo. Secondo Shorland [8] l'acido oleico costituisce il 58,4 % in peso dei gliceridi, questo fatto può spiegare, almeno in parte, il comportamento di questi due acidi grassi.

d) *Composizione in acidi grassi dell'embrione a termine.* L'uovo di pollo al 21° giorno di incubazione presenta caratteri peculiari per quanto concerne la composizione in acidi grassi; esso differisce infatti dall'uovo non incubato e da un pollo di 7 mesi di età, quale riportato da Hilditch [3]. In particolare possono essere messi in evidenza i seguenti fatti: 1) nell'uovo l'acido palmitico rappresenta il 25,6 % degli acidi grassi totali, nell'embrione

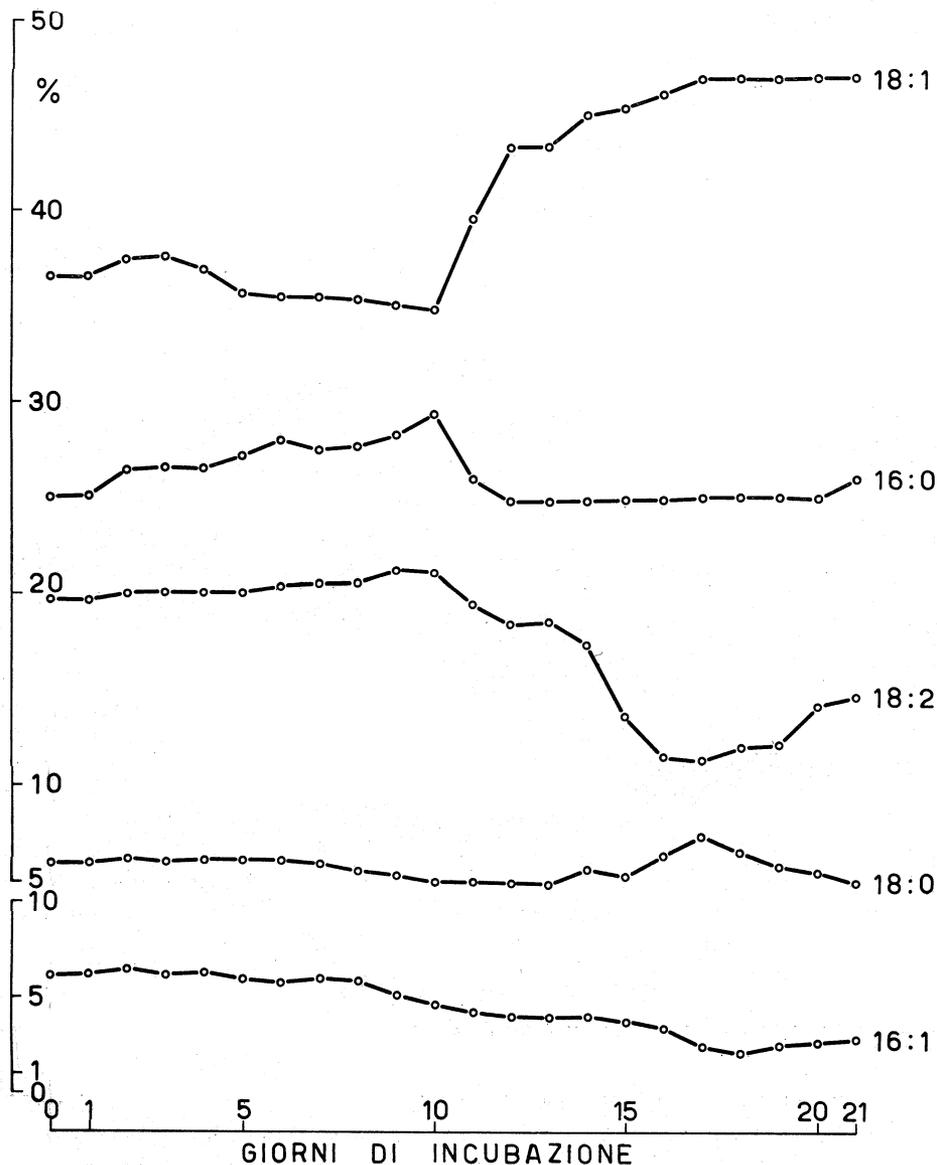


Fig. 1. - Variazioni percentuali degli acidi grassi 16:0 (acido palmitico), 16:1 (acido palmitoleico), 18:0 (acido stearico), 18:1 (acido oleico) e 18:2 (acido linoleico) durante lo sviluppo embrionale del pollo.

I valori percentuali sono stati calcolati mediante l'impiego di adatti fattori di correzione per esprimere il peso dei differenti acidi grassi. In ordinata sono indicati i valori percentuali ed in ascissa i giorni di sviluppo.

a termine il 26,7 % e nel pollo di 7 mesi il 25 % circa; 2) l'acido oleico è, nell'uovo, il 37,0 % degli acidi grassi totali, nell'embrione a termine il 47,0 % e nel pollo di 7 mesi il 42 %; 3) l'acido linoleico è, nell'uovo, il 20,1 %, nell'embrione a termine il 15,3 %, mentre nel pollo di 7 mesi rappresenta il 20 %

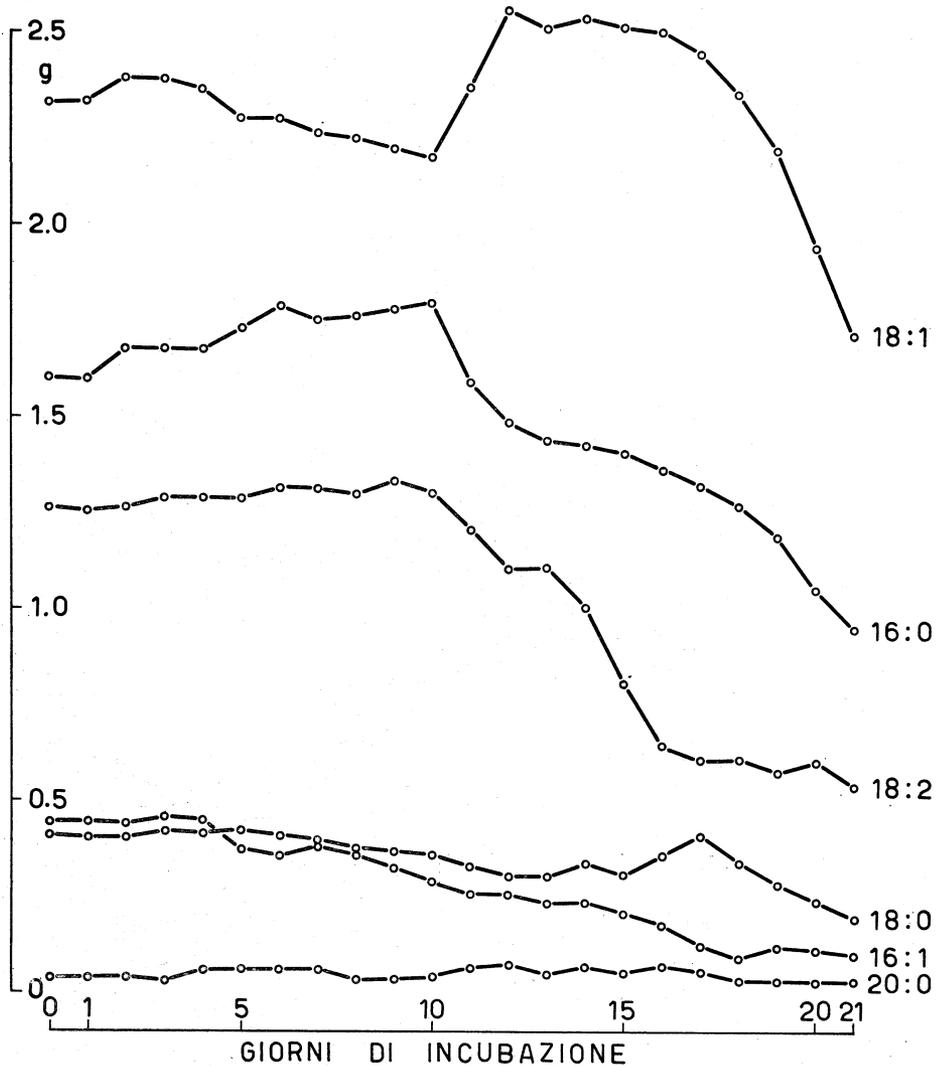


Fig. 2. - Variazioni quantitative degli acidi grassi durante lo sviluppo embrionale del pollo.

circa degli acidi grassi totali. Questi fatti indicano che, per quanto riguarda il metabolismo dei lipidi, lo stadio di embrione a termine è un episodio particolarissimo nel ciclo vitale di *Gallus gallus*. Questo è ben evidente se si ricorda che la composizione percentuale dei diversi acidi grassi del pollo adulto è simile a quella dell'uovo non incubato.

e) *Considerazioni generali*. I risultati ottenuti durante la presente ricerca ed i dati della bibliografia permettono di inquadrare, in uno schema

generale le modificazioni dei lipidi durante lo sviluppo embrionale dell'uovo di pollo. A partire dal 10° giorno è particolarmente sensibile la diminuzione dell'acido palmitico, palmitoleico e linoleico, mentre è evidente un aumento di acido oleico (fig. 2). Un'altra variazione notevole ha luogo fra il 15° ed il 17° giorno di incubazione a carico dell'acido stearico. È ragionevole supporre che l'acido oleico e stearico svolgano, in rapporto alla loro analogia strutturale, un ruolo particolarmente importante nel metabolismo dell'embrione prossimo alla schiusa.

Occorre notare che le variazioni quantitative degli acidi grassi, durante lo sviluppo del pollo, vanno interpretate con cautela. È possibile infatti che il catabolismo di un acido grasso esista, ma che sia mascherato da una sua sintesi.

La separazione, mediante metodi cromatografici, dei diversi acidi grassi ha tuttavia permesso, nella presente ricerca, di analizzare più profondamente il fenomeno della utilizzazione dei lipidi durante lo sviluppo.

LAVORI CITATI.

- [1] CARROL K. K., *Quantitative estimation of peak areas in GLC*, « Nature », 191, 377-378 (1961).
- [2] CIGADA M., *Le proteine nell'accrescimento embrionale di alcuni animali*, « Ist. Lombardo, Rend. Sc. », 86, 847-854 (1953).
- [3] HILDITCH T. P. e WILLIAMS P. N., *The chemical constitution of natural fats*, Chapman & Hall, London 1964.
- [4] LIEBERMANN J., citato da Needham J. (5) (1888).
- [5] NEEDHAM J., *Chemical embryology*, 2, Cambridge University Press 1931.
- [6] REMOTTI E., *Sull'assunzione delle riserve grasse durante lo sviluppo embrionale del pollo*, « Ric. Morf. », 10, 1-21 (1930).
- [7] ROMANOFF A. L., *Biochemistry of the avian embryo, a quantitative analysis of prenatal development*, Wiley, New York 1967.
- [8] SHORLAND F. B., citato da Hilditch (3) (1951).
- [9] TIBALDI E., *Ricerche preliminari sugli acidi grassi di alcune specie di Molluschi marini*, « Rend. Accad. Naz. Lincei, (Sc. Fis.) », 40, 921-925 (1966).
- [10] VIRCHOW R., citato da Needham (5) (1888).
- [11] WILLIAMS J., *Yolk utilization*, in: *The biochemistry of animal development*, 2, 341-382; R. Weber ed., Academic Press, New York and London 1967.