



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

TESIS

**ESTUDIO COMPARATIVO SOBRE LA RELACION DE
XANTOFILAS EN SUERO, COMPARATIVAMENTE
CONTRA LA PIGMENTACION REAL EN POLLOS DE
ENGORDA.**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUÍMICO EN ALIMENTOS

PRESENTAN:

JUANA IRMA ARELLANO MARTIN

REYNA MARIA DEL CARMEN LUNA CARDENAS

DIRECTOR DE TESIS: Q. en A. A. Gilberto Ramírez León.

QUERÉTARO, QRO; 1995.

BIBLIOTECA CENTRAL

No. Adm.

55680

No. Título

Clas.

589.486

A 678e

BIBLIOTECA CENTRAL

DEDICATORIAS

Dedico esta tesis:

Al ser que me ha brindado todo, Vida, Salud y Razón para alcanzar y lograr mis sueños, Dios.

A mis padres: por su comprensión, confianza y por motivarme siempre hacia la superación, dándome la oportunidad de culminar con esta meta.

A mis hermanos, por su cariño de todos estos años.

Gracias.

Juana Irma Arellano Martín.

Dedico esta tesis:

A Dios, por permitirme terminar una etapa más en mi vida.

A mis padres, Juan y Esther, por apoyarme en todo momento de desvelo, preocupación y alegría y sobre todo por esperar con paciencia este lindo momento.

A mis hermanos

Angeles
Agustín
Mireya
Ricardo - Angélica
Juan
Gerardo
Karina
Pilar

con cariño y gratitud por darme ánimos para continuar.

A Gilberto, con todo mi amor. Por estar siempre cerca de mí.

Gracias.

Reyna María del Carmen Luna Cárdenas.

AGRADECIMIENTOS

Para la realización de este trabajo intervinieron varias personas y empresas a las cuales deseamos expresar nuestro agradecimiento:

Q. en A. A. Gilberto Ramírez León.

M. en C. Jorge Alvarez Domínguez.

MVZ Rigoberto Pineda Estrada.

MVZ Juan León López.

MVZ Ernesto Serrano.

MVZ Jesús Reynoso González.

IBQ Rigoberto Piña Piña.

Personal de la Granja Avícola Peñuela de la Compañía **Pilgrim's Pride, S.A. de C.V.**

A las empresas:

Laboratorios Bioquímex, S.A. de C.V.,

Productos Roche, S.A. de C.V.,

Industrias Kemin,

Y muy especialmente a la compañía **Pilgrim's Pride, S.A. de C.V.** por el financiamiento recibido para la realización de ésta tesis.

INDICE

Pág.

INDICE DE CUADROS	2
INDICE DE FIGURAS	3
RÉSUMEN	4
INTRODUCCION	8
ANTECEDENTES	12
IMPORTANCIA DEL TRABAJO	49
OBJETIVO E HIPOTESIS	51
MATERIAL Y METODOLOGIA	53
TECNICAS DE ANALISIS	59
RESULTADOS	67
CONCLUSIONES	92
BIBLIOGRAFIA	95

INDICE DE CUADROS

	Pág.
PRODUCCION ACTUAL DE XANTOFILAS	9
DEMANDA DEL MERCADO	10
CLASIFICACION DE CAROTENOIDES	15
CAROTENOIDES PIGMENTANTES	16
CAROTENOIDES PRINCIPALES DE IMPORTANCIA PIGMENTANTE	18
LOCALIZACION DE CAROTENOIDES	19
INFLUENCIA DE LA LONGITUD DE CADENA Y SATURACION DE ACIDOS GRASOS Y GRASAS SOBRE LA ABSORCION DE LUTEINA.....	34
INFLUENCIA DE AFLATOXINAS SOBRE EL CONTENIDO DE CAROTENOIDES EN EL PLASMA SANGUINEO	36
RUTA CRITICA	56-57

INDICE DE FIGURAS

Pág.

BETA-CAROTENO Y CAROTENOIDES PIGMENTANTES	17
CONCEPTO SOBRE PIGMENTACION EN POLLO	28
FACTORES QUE INFLUYEN EN LA PIGMENTACION	31

RESUMEN

Con el objeto de conocer la relación de xantofilas en suero contra la comparación real del pollo, se realizó un experimento conforme a un diseño completamente al azar, el cual se llevo a cabo con una parvada de pollos de raza Arbor Acres de una granja comercial.

Se utilizó como fuente de xantofilas una dieta formulada para aves que incluyen ingredientes ricos en xantofilas de alta calidad y disponibilidad, como la harina de flor de cempasuchil (*Tagetes erecta*).

Se seleccionó al azar una caseta de la granja y se eligieron 15 pollos para ser muestreados, el muestreo consistió en puncionar cada pollo ya sea del corazón o del ala hasta obtener aproximadamente 1 ml. de sangre y también se tomaron muestras de alimento que se encontraba en la caseta el día del muestreo. Se pesó cada ave y se evaluó su color mediante el abanico de Roche y el colorímetro de reflectancia.

La información obtenida de xantofilas fué evaluada estadísticamente considerando las variaciones que se presentaron durante el experimento para llegar al objetivo principal de la investigación.

Los pigmentos usados son los de color amarillo o amarillo-naranja llamadas xantofilas u oxicarotenoides. Asimismo están los de color rojo llamados carofiles.

Los principales compuestos que encontramos en los pigmentos amarillos son la luteína y la zeaxantina, en los rojos la cantaxantina.

Los pigmentos amarillos son extraídos de la flor de cempasuchil y se les da un tratamiento químico de saponificación para hacerlos más biodisponibles. Los rojos son obtenidos por síntesis química a nivel industrial; esto debido a que no hay fuentes naturales que los contengan en cantidades suficientes para que sea costeable su extracción a nivel industrial.

Las xantofilas son metabolizadas y absorbidas a través del torrente sanguíneo para ser depositadas en el tejido adiposo del ave. Es por ello que el color lo observamos en toda la piel y en las partes donde hay mayor acumulación de grasa el color amarillo es más intenso.

El uso de grasa de buena calidad es muy importante para lograr una adecuada deposición de pigmento en los tejidos grasos del pollo.

La importancia de dar un uso adecuado a los pigmentos, radica en que se gasta aproximadamente el 12% del costo de producción de pollo en su pigmentación. Esto es elevado si consideramos que no tiene ningún elemento nutricional. El uso y la evaluación de los pigmentos debe ser muy precisa y eficiente para no elevar el costo de producción.

Los resultados obtenidos durante las diferentes etapas del experimento hasta el término del mismo fueron:

- A los 28 días (4 semanas) no se detecta color en el abanico de Roche, coincidiendo con la concentración de xantofilas en sangre.
- A los 35 días (5 semanas) se observan valores en el abanico de Roche y obteniéndose un pequeño incremento en la concentración de xantofilas en sangre, siendo esto continuo en la siguiente semana.
- A los 45 días se presentó un problema de coccidia afectando los intestinos de los pollos disminuyendo la absorción de nutrientes y sustancias al torrente sanguíneo, provocando un estancamiento en los valores del abanico de roche y el colorímetro de reflectancia. Este cuadro fué de 5 días.
- A los 49 días solo hubo un ligero incremento en la concentración de xantofilas en sangre mientras que el color en la piel prácticamente no se modificó.
- A los 56 días se observa que continuaron estancados los valores del abanico de Roche y un ligero incremento en la concentración de xantofilas en sangre, así como en las lecturas del colorímetro de reflectancia.
- A los 58 días las aves fueron sacrificadas y su color en piel evaluado una vez que éstas fueron procesadas, observándose una mejoría en los valores de amarillamiento y una disminución en la concentración de xantofilas en sangre previa al sacrificio.

Se manejó una proporción de 53% machos y 47% hembras.

Los resultados fueron analizados y evaluados estadísticamente por medio de la regresión lineal de Pearson con las variables y posibles combinaciones entre las diferentes determinaciones.

Se presentó un incremento de xantofilas totales en sangre y un amarillamiento en cada una de las semanas en las que el ave consumió pigmento presentándose incrementos irregulares mostrando una pobre relación entre las variables (Roche vs. xantofilas, Roche vs. a*, Roche vs. b*, xantofilas vs. a*, xantofilas vs. b* y a* vs. b*).

Se obtiene una mejor correlación en la quinta, octava semana y rastro con Roche y xantofilas de un promedio de 0.75, lo anterior indica que no se puede establecer una relación entre los diferentes métodos. No quitando validez alguna a los diferentes métodos utilizados en este experimento para evaluar el color de los pollos.

Los métodos utilizados en este experimento se recomienda su uso individual dependiendo de las necesidades en la evaluación del color del pollo tanto en campo como en rastro no así la combinación entre ellos mismos pues la evaluación final resultaría difícil y con una alta variabilidad.

INTRODUCCION

En México se le ha dado mucha importancia al color amarillo o amarillo naranja en la piel y tarsos en el pollo de engorda. Esto se debe a que el consumidor elige los alimentos por su apariencia (forma, color, etc.), por su textura y sabor relacionándolos con un valor nutritivo.

Por lo anterior, en las dietas avícolas es necesario añadir fuentes pigmentantes, debido a que los ingredientes más utilizados como el sorgo, soya, harina de pescado, de hueso y de sangre, etc. no contienen pigmentos, a diferencia de lo que sucede con las dietas de las granjas a nivel familiar, a base de maíz, alfalfa e inclusive pastos que son ricos en pigmentos, sin embargo los productos anteriores son desplazados, el maíz por considerarse para el consumo humano, y la alfalfa y pastos por la necesidad de dietas ricas en energía, que restringe su uso por el alto contenido en fibras. (36)

Por lo tanto, las dietas formuladas para las aves deben incluir ingredientes ricos en xantofilas de alta calidad y disponibilidad, como la harina de flor de cempasuchil o flor de muerto (Tagetes erecta) que es una fuente concentrada de xantofilas, las cuales pigmentan perfectamente los tarsos y la piel de pollo.

La producción actual de xantofilas derivadas de cempasuchil es de 200 millones de gramos y la distribución es así:

PAIS	CANTIDAD EN GRAMOS
Perú	56 millones
Colombia-Ecuador	6 millones
México	136 millones
Tailandia	2 millones
TOTAL	200 millones de grs.= 200,000 Kgs.

Y la demanda del mercado actual es de:

PAIS**CANTIDAD EN GRAMOS**

México	110 millones
Europa	18 millones
Sudamérica	6 millones
Estados Unidos	40 millones
Asia-Pacífico	26 millones
TOTAL	200 millones de grs.= 200,000 Kgs.

(18)

En la pigmentación, sólo las xantofilas, también llamadas oxicarotenoides, merecen cierto interés. Entre ellas, las dos fracciones más importantes son la Luteína y la Zeaxantina. Estos dos productos representan del 75 al 80% de las xantofilas del maíz, de la alfalfa, del gluten de maíz y la flor de cempasuchil.

Los extractos saponificados de la flor del cempasuchil en la actualidad son los que se usan en vez de la flor deshidratada, ya que estos extractos tienen el doble de actividad biológica.

En el pollo de engorda se considera que con un nivel de 0.05-0.06 grs. de xantofilas activas por cada Kg. de alimento proporcionado durante las últimas 4 semanas de engorda, se logra una excelente pigmentación. Sin embargo, algunas veces la demanda obliga a agregar hasta 80 mg. = 0.08 gr. de xantofilas. (30)

Los métodos desarrollados para la evaluación de la pigmentación en la piel de pollos se pueden dividir en subjetivos y objetivos:

SUBJETIVOS: Los abanicos colorimétricos de ROCHE, PURINA Y BASF.

OBJETIVOS: Técnicas de colorimetría de reflectancia basados en el empleo de espectrofotómetros de reflectancia especializados que usan una fuente lumínica y un detector constante. Son precisos, fáciles de aplicar y se desempeñan bien en superficies homogéneas. Son objetivos y el área que cubren es muy reducida. (7)

En este experimento se utilizó el abanico de ROCHE y el colorímetro de reflectancia. Hay que recordar que al utilizar pigmento en la dieta avícola no contribuyen con ningún valor nutritivo adicional al producto.

Una vez que el pollo consume las xantofilas, éstas siguen un proceso digestivo similar al de las grasas, para ser absorbidas, metabolizadas y depositadas en tejido adiposo en piel del ave, donde proporcionan color a dichos tejidos. Para evaluar este color existen distintos métodos que se dividen en directos e indirectos.

La industria dedicada a la obtención de pigmentos naturales y sintéticos deben considerar que la adición del producto a la dieta avícola debe tener las siguientes propiedades:

- 1.- Que sean fácilmente absorbibles.
- 2.- No metabolizables en vitamina A.
- 3.- De rápido depósito en tejido graso.
- 4.- Que sean estables.
- 5.- No tóxico y no cancerígeno al nivel de usos múltiples.
- 6.- Sus características deben ser uniformes y deben tener la capacidad de ser medidas en la forma concentrada y en los alimentos por técnicas analíticas. (30)

ANTECEDENTES

El término pigmento se denomina a la sustancia que se encuentra en estado natural, responsable del color de los tejidos tanto animales como vegetales, así como de diversos microorganismos. (2)

Los carotenoides o lipocromos son un grupo de pigmentos que se encuentran en el reino animal y vegetal. Reciben el nombre de lipocromos por su solubilidad en las grasas o en los disolventes de éstas. Se trata de hidrocarburos o de productos de oxidación de alto peso molecular conteniendo un elevado número de dobles enlaces. Este último carácter determina su intensa coloración, sus espectros de absorción y su afinidad con el oxígeno. (5)

Están formados generalmente por ocho unidades de isopreno, es decir, constituyen una estructura de 40 C; en el centro de la cadena se invierte el arreglo de las moléculas de isopreno. Se han dividido en dos grandes grupos: los carotenos, que son hidrocarburos solubles en éter de petróleo y poco en etanol, y las xantofilas, que son derivados oxigenados de los carotenos con características de alcohol, aldehído o ácido, soluble en etanol y éter de petróleo.

La pérdida de estos pigmentos se debe fundamentalmente a reacciones de oxidación, sea por oxígeno o por enzimas como la lipoxigenasa, se presenta generalmente durante el secado de fruta y vegetales. (2)

NATURALEZA QUIMICA

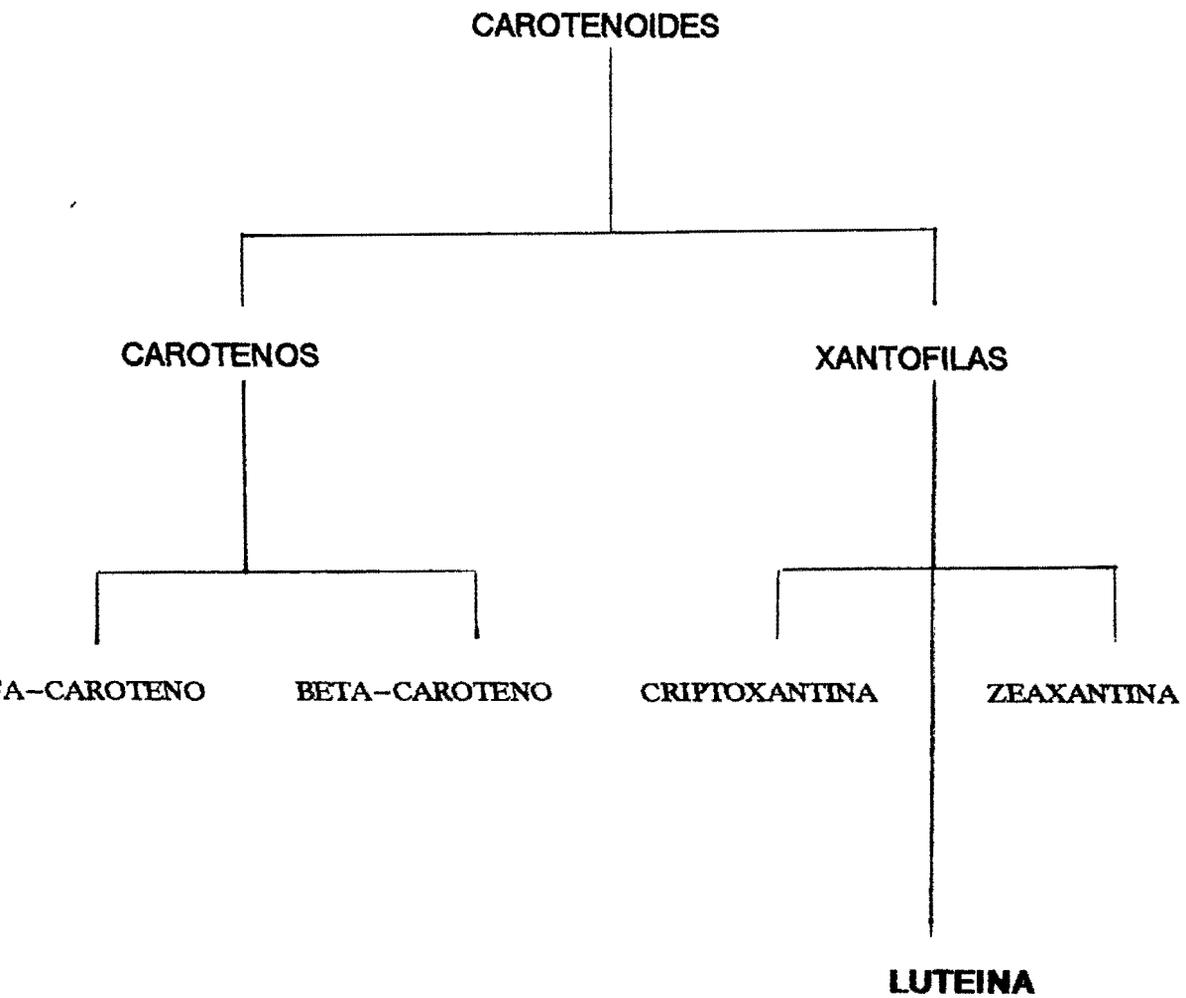
La brillantez del color de los carotenoides se debe al cromoforo de la molécula el cual consiste en una cadena de dobles enlaces conjugados, con capacidad para seleccionar absorción de protones en la región visible de el espectro entre 320 y 550 nm. Una reducción en la conjugación da formas amarillas, mientras una oxidación da formas rojas. (10)

Los carotenoides son largas moléculas poliisoprenoides que poseen dobles enlaces conjugados, cada extremo de las moléculas contiene un anillo de ciclohexeno sustituido insaturado. (16)

Existen dos clases principales de pigmentos carotenoides en los cloroplastos, los CAROTENOS, que son hidrocarburos isoprenoides y no contienen oxígeno y las XANTOFILAS que son muy semejantes en su estructura con los carotenos, pero contienen oxígeno en sus anillos terminales. (10)

Normalmente las xantofilas se encuentran asociadas con los carotenos y sus estructuras son muy parecidas a las del beta-caroteno, con la única diferencia de que tienen un hidroxilo en el segundo anillo que puede esterificarse con varios ácidos grasos. Algunos otros pigmentos de la familia de los carotenoides se encuentran formando diferentes complejos químicos, como la luteína que está esterificada con varios ácidos grasos y que es el principal pigmento de la flor mexicana cempasuchil (*Tagetes erecta*) deshidratadas éstas flores se utilizan en la alimentación avícola para dar color amarillo a la piel de las aves. (33)

CLASIFICACION DE CAROTENOIDES



CLASIFICACION

Los carotenoides se clasifican de acuerdo a su estructura química como **hidroxicarotenoides, cetocarotenoides y productos de degradación de Beta-Caroteno.** (3)

Por su función química se clasifican en:

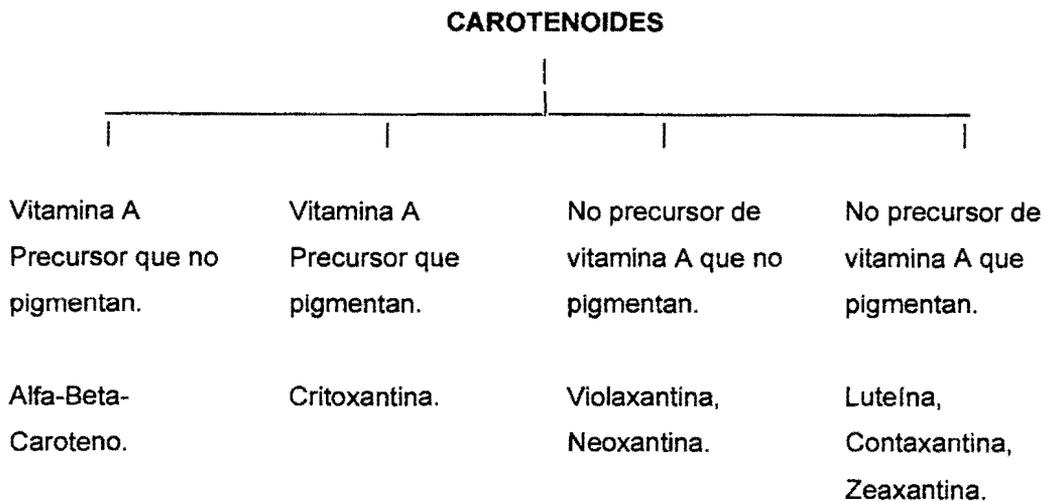
Hidrocarburos: ejem: alfa, beta y gamma caroteno, licopeno.

Alcoholes: ejem: criptoxantina, luteína, zeaxantina, flavoxantina.

Acidos: ejem: bixina, crocentina, azafrina.

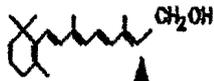
Cetonas: ejem: capsantina, rodoxantina, capsorubina. (10)

Desde el punto de vista funcional como pigmentantes de los tejidos de las aves, los carotenoides han sido clasificados como:

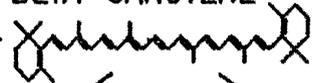


(21)

VITAMIN A-Alcohol

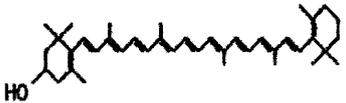


BETA-CAROTENE

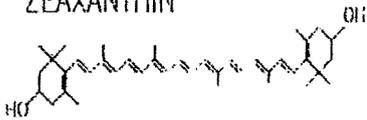


HYDROXY-CAROTENOIDS

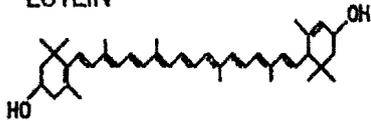
CRYPTOXANTHIN



ZEAXANTHIN

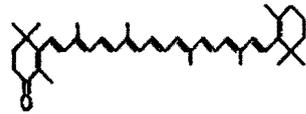


LUTEIN

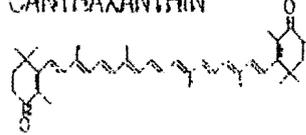


KETO-CAROTENOIDS

ECHINENONE

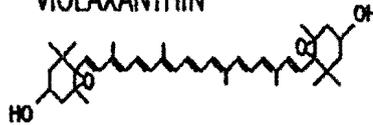


CANTHAXANTHIN

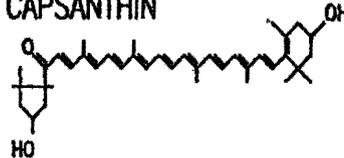


Intermediate Forms

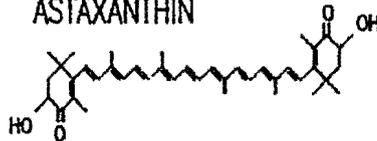
VIOLAXANTHIN



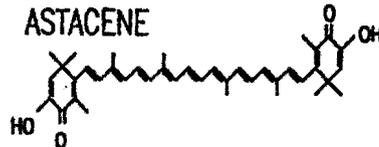
CAPSANTHIN



ASTAXANTHIN

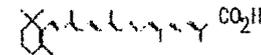


ASTACENE

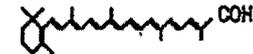


Degradation
Compounds of
BETA-CAROTENE

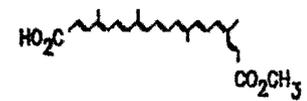
β -APO-8'-CAROTENOIC ACID



β -APO-8'-CAROTENAL



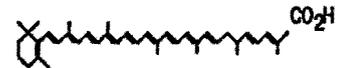
BIXIN



CITRANAXANTHIN



TORULARHODIN



CAROTENOIDES PRINCIPALES DE IMPORTANCIA PIGMENTANTE

CAROTENOIDE DEL QUE DERIVAN	DERIVADO OXIGENADO	ORIGEN
Lycopeno	Licoxantina	Tomate
Alfa caroteno	Luteína	Hojas verdes y flores
Beta caroteno	Criptoxantina Zeaxantina Cantaxantina Astaxantina	Maíz amarillo Maíz amarillo Corynebacterium Algas verdes
Gama caroteno	Rubixantina	Flores

(10)

LOCALIZACION DE LOS CAROTENOIDES

NOMBRE	LOCALIZACION EN LA NATURALEZA
Luteina	Alfalfa, pasto, maíz, flor de Cempasuchil.
Zeaxantina	Maíz, Gluten de maíz.
Cantaxantina	Hongos, algas, flamencos.
Capsantina/ Capsorubina	Pimentón.
Astaxantina	Peces, crustáceos.

(25)

MATERIAS PRIMAS PIGMENTANTES

PRODUCTO	CONTENIDO DE XANTOFILAS
1.- Maíz amarillo	7-40
2.- Maíz plata	22-50
3.- Gluten de maíz (25% p.c.)	25-60
4.- Gluten de maíz (60% p.c.)	150-280
5.- Harina de alfalfa (16% p.c.)	80-270
6.- Harina de alfalfa (21% p.c.)	130-420
7.- Harina de pasto	120-450
8.- Harina de algas	2000-4000
9.- Harina de flor de cempasuchil	6000-14000

(18)

ESTABILIDAD DE LOS CAROTENOIDES

Los carotenoides demuestran poca estabilidad y alta sensibilidad a una variedad de factores como la luz, oxígeno, ácidos, bases y calor. Bajo estas condiciones, los carotenoides son altamente sensibles a la variedad de conversión oxidativa y procesos de degradación, o de isomerización. Como pigmentos, sin embargo, ellos puede ser protegidos por formulaciones apropiadas y aditivos, aunque los esteres y particularmente los complejos proteína-carotenoide son considerados más estables. (35)

FUENTES NATURALES DE PIGMENTOS

MAIZ AMARILLO:

El contenido de oxicarotenoides varía de acuerdo a la variedad del maíz ya que este está controlado por factores genéticos. Reconocido por su eficacia, el maíz es un ingrediente rico en luteína, aunque con una tasa de zeaxantina relativamente elevada; proporciona un tinte amarillo cálido a dorado oscuro. (4)

HARINA DE GLUTEN DE MAIZ

El contenido de oxicarotenoides en harina de gluten de maíz es relacionada al contenido de proteína, y una harina de 41% de proteína se promedia 0.132 gr/Kg. y una harina con un 60% de proteína se promedia 0.264 gr/Kg. aproximadamente, el contenido de oxicarotenoides está relacionado con el contenido de oxicarotenoides del maíz que se usa en la fabricación del gluten. El perfil de oxicarotenoides en harina de gluten es la siguiente:

Luteína 53%, zeaxantina 29%, criptoxantina 10%, zeinoxantina 5%.

El gluten de maíz (o más exactamente, la proteína de maíz), posee un contenido de oxicarotenoides muy variables. Las diferencias se explican por la riqueza relativa del maíz tratado, por las condiciones de extracción y las modalidades de conservación. Sea lo que sea, se puede

deducir que el nivel de xantofilas aumenta con el contenido protéico del producto, y que éste está en correlación con la cantidad de pigmentos del maíz. (4)

HARINA DE ALFALFA

El contenido de oxicarotenoides en harina de alfalfa deshidratada es variable dependiendo de factores como estado de madurez, deshidratación, condiciones de almacenaje y contenido de proteína de harina. La cromatografía de capa fina muestra que los oxicarotenoides presentes en la alfalfa van de mayor a menor contenido: luteína, violoxantina, zeaxantina, criptoxantina, flavoxantina, neoxantina. (3)

HARINAS DE CHILÉS

Los frutos de las plantas del género *Capsicum* (pimientos, chiles, paprika), tienen poder pigmentante en la piel del pollo. El componente activo en estas fuentes son la capsantina ($C_{40} H_{56} O_3$) y la capsorubina ($C_{40} H_{56} O_4$).

Estos pigmentos pueden ser utilizados para lograr un mejor color en la piel de las aves basado en la mezcla de color (capsantina) y amarillo (xantofilas). (3)

FLOR DE CEMPASUCHIL

El cempasuchil, que en la época prehispánica era una flor eminentemente ritual, con la que se ornaba a Xochili en ocasiones de los días fastos y en homenaje a los muertos, se ha convertido en nuestros días en un insumo industrial de gran importancia para la industria avícola.

Los pétalos de la flor de cempasuchil (*Tagetes erecta*) y la planta entera son deshidratadas, molidas y vendidas para usarse como fuentes de pigmentación, siendo estas la fuente natural de mayor concentración de xantofilas, algunos deshidratados de esta flor contienen de unos 6 gr/Kg. a 10 gr/Kg., siendo la luteína el carotenoide predominante. El ingreso a la industria de esta flor hizo que su cultivo se extendiera, por constituir una materia prima de elevado valor económico. (27) (31)

En México la flor de cempasuchil (*Tagetes erecta*) es la principal fuente pigmentante utilizada en dietas para aves para impartir color amarillo a la piel de las aves. (22)

En la actualidad, en los alimentos se emplean concentrados de xantofilas obtenidos de la flor de cempasuchil, lo que permite una mayor consistencia en la calidad del producto, mayor estabilidad, una mayor actividad biológica y una mejor pigmentación. (9)

Actualmente una de las soluciones más productivas y eficaces en la aplicación y uso de los carotenoides (xantofilas) es el aprovechamiento de los extractos saponificados de xantofilas obtenidos de la flor de cempasuchil, cuyas propiedades constituyen una de las mayores potencias pigmentantes que se pueden emplear en una dieta activa y debidamente balanceada para pollos de engorda y aves de postura.

Previo al proceso de saponificación, el uso de la harina de flor de cempasuchil se aplicaba en la formulación de las dietas debido a su alta concentración de xantofilas (6 gr/kg. - 10 gr/kg.); en ese estado, la luteína se encontraba en su forma de "Ester", la cual es un 35-38% biodisponible.

A través de continuos experimentos se observó que una adecuada asimilación de xantofilas dependía de su configuración química. Así, mediante el método de saponificación a través del cual se liberan las xantofilas de los ácidos grasos (Láurico, mirístico, palmítico y esteárico) se aumenta notablemente el efecto de asimilación de las xantofilas, transfigurando el estado de luteína esterificada a luteína libre. De este modo se logra un considerable aumento de poder pigmentante para el pollo de engorda muy superior al que la luteína esterificada posee en sus condiciones naturales, haciéndolo un 91-100% asimilable. (24)

CLASIFICACION DE LOS PIGMENTOS

Los compuestos que se usan para pigmentar la piel del pollo se denominan en forma genérica carotenoides y se pueden dividir en dos grandes grupos:

- 1.- Productos Naturales
- 2.- Productos Sintéticos

1.- Productos naturales: Se encuentran en las materias citadas anteriormente, los compuestos más importantes de este grupo son:

- 1.1.- Luteína
- 1.2.- Zeaxantina
- 1.3.- Criptoxantina
- 1.4.- Capsantina
- 1.5.- Echinone
- 1.6.- Capsorrubina

2.- Productos sintéticos: Son en algunos casos moléculas que se pueden encontrar en la naturaleza pero en ciertos animales y en poca cantidad:

- 2.1.- Cantaxantina
- 2.2.- Apocaroteno ester

Algunos otros son productos de síntesis química, pero por su efecto carcinogénico no deben usarse en avicultura (sudanes). (18)

CAROTENOIDES DE IMPORTANCIA PRACTICA PARA PIGMENTAR PRODUCTOS AVICOLAS

LUTEINA

Luteína es un 3-3'dihidroxi- α -caroteno ($C_{40} H_{56} O_2$).

Es un componente constante de la leche de vaca, en concentraciones que dependen de la cantidad de alimentos verdes que se adiciona a la dieta, se ha encontrado también en el suero, pero no en la grasa del cuerpo de la vaca. La luteína se encuentra también en el maíz amarillo, gluten de maíz amarillo, alfalfa, pasto de bermuda, en algas (espirulina) y en la flor de cempasuchil, los carotenoides en estos ingredientes no son estables y se pierde al ser almacenados, sin embargo se han desarrollado productos con extractos de xantofilas que pueden almacenarse sin perder sus características. La luteína además de ser un producto para aves por el pigmento amarillo que presenta es rápidamente absorbido en el intestino delgado del ave y transportado a los sitios de depósito.

(3)(34)

ZEAXANTINA

La zeaxantina es un 3-3'dihidroxibeta-caroteno, que se encuentra presente en el maíz amarillo y en el gluten de maíz amarillo.

La zeaxantina y en general las xantofilas de los vegetales frescos se aprovechan mejor que las de vegetales previamente desecados debido a que se encuentra la zeaxantina en forma trans y durante el almacenamiento se produce una isomeración parcial dando lugar a la forma cis, la cual tiene una eficacia pigmentante del 60 al 70%, la cual puede substituir hasta 2 gr. (0.002Kg.) de oxicarotenoides mezclados de ingredientes del alimento.

El color amarillo a amarillo naranja se da por la zeaxantina, en cambio con la luteína se da un color amarillo claro. En forma estabilizada la zeaxantina da un color muy deseable, siendo eficaz cuando se adiciona a los alimentos del ave en las últimas semanas. (3)

CRIPTOXANTINA

Gramo por gramo la criptoxantina es menos efectiva que la luteína o la zeaxantina. Es un hidróxido Beta-Caroteno. Se encuentra en forma de ácido libre, pigmento sintético que proporciona un color amarillo, tanto en la piel como en las canillas de pollos. Su menor potencia para pigmentar es debido a su metabolismo parcial a la vitamina A. Se encuentra presente en el maíz amarillo, dependiendo de la variedad del maíz y el tiempo de almacenamiento del mismo. (3)

ECHINENONE

Es un 4-ceto-beta-caroteno ($C_{40} H_{56} O$). Se ha aislado de algas, erizos de mar, camarón y crustáceos. Tiene actividad de vitamina A de aproximadamente 900,000 UI/gm. Es un colorante efectivo para pollos cuando se da de comer mezclado con otros ingredientes que sean fuentes de oxicarotenoides. Solo el echinenone provoca una coloración rosa a niveles bajos y una coloración de naranja-rojo a niveles altos.

Cuando se da de comer en mezcla de 60% de maíz amarillo a niveles de 1, 3, 5 y 12 gr. por tonelada de alimento y éste es consumido por el pollo 4 semanas últimas, se obtienen resultados positivos en pigmentación en canillas y en la grasa visceral de pollos de 8 semanas de edad. (3)

CAPSANTINA

Es un carotenoide rojo presente en los frutos de las plantas del género capricum. Su fórmula condensada es: $C_{40} H_{56} O_3$. (3)

FUENTES DE PIGMENTOS SINTETICOS

ESTER ETILICO DEL ACIDO BETA-APO-8' CAROTENO

Llamado también apocaroteno ester, se presenta en forma de ácido libre como producto intermedio del metabolismo en la transformación biológica de los carotenos.

Es un pigmento sintético que proporciona un color amarillo. Actualmente existe un producto en el mercado con este principio y en algunos estudios está citado que produce un color aceptable en los tarsos y en la piel del pollo. (3)

CANTAXANTINA

La cantaxantina era desconocida hasta 1950, cuando fué aislada del hongo *Cantharellus cinnabarinus*. Saperstein et al aislaron cantaxantina de cadenas mutantes de *Corynebacterium michiganense*. El uso comercial de cantaxantina como pigmento de aves se inició en Europa y Sudamérica en los sesentas. La cantaxantina también se encuentra en algas y otras plantas de vida marina, camarones, truchas y flamencos.

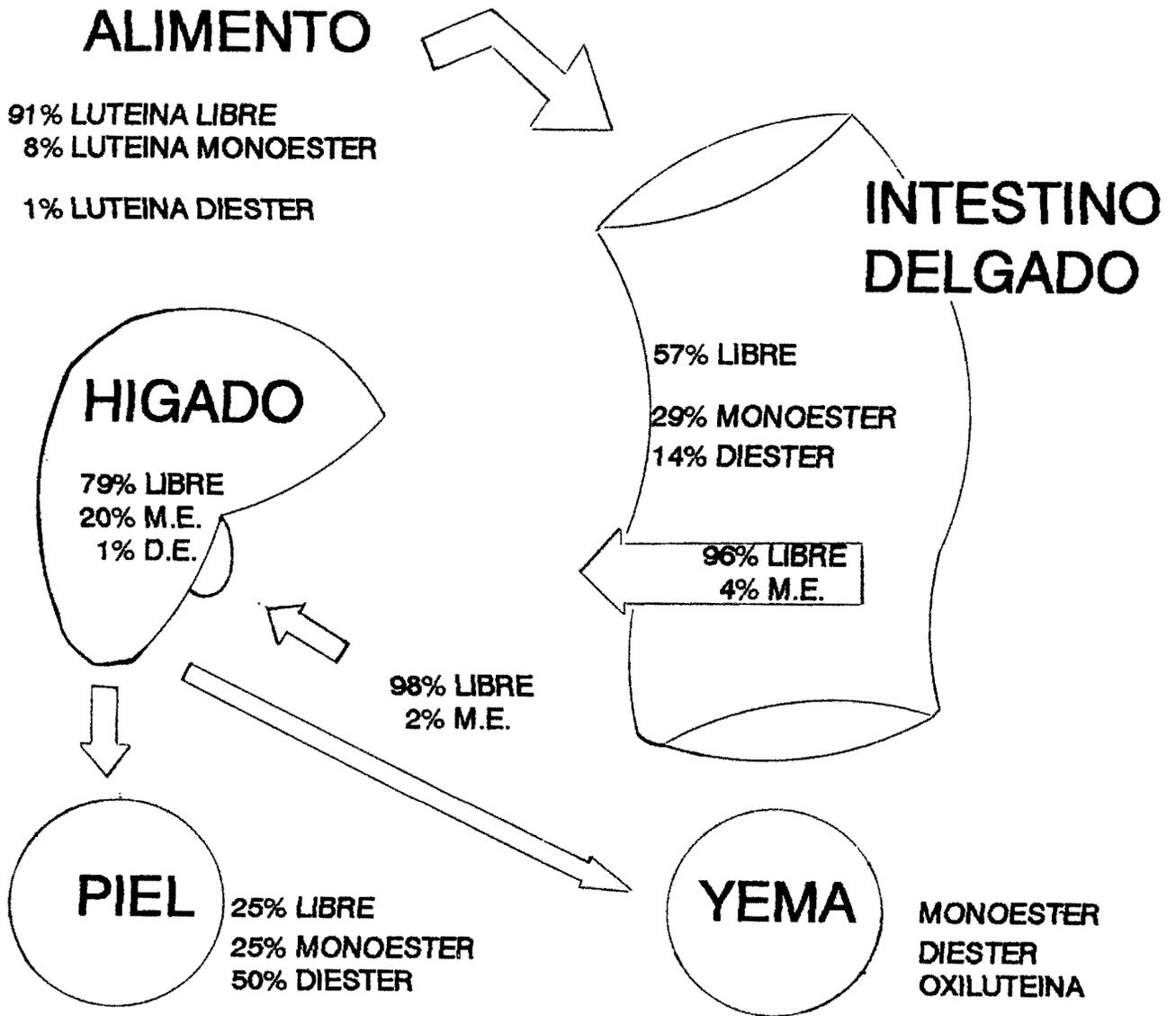
La cantaxantina es un oxicarotenoides rojo que incrementa la pigmentación de los tarsos de pollo. Los experimentos han demostrado que la cantaxantina puede sustituir parte de los pigmentos rojos y amarillos de la dieta, pero no del todo; la cantidad y la relación son importantes cuando la relación es por abajo del 4:1 tonos naranja, estarán presentes. La cantaxantina no debe adicionarse a una ración baja en pigmentos amarillos porque producirá tonos rosas indeseables. (22)

NIVELES DE XANTOFILAS EN ALIMENTOS DE LAS AVES

El nivel de oxicarotenoides que requiere un alimento para proveer una pigmentación adecuada, puede variar ya que depende del brillo y la intensidad de pigmentación que se desea en el mercado. La falta de uniformidad conduce a que los consumidores desarrollen gran sensibilidad a dichas variaciones y que fácilmente rechacen el producto que no llenan las especificaciones de brillo y color de pollo. (2)

En regiones en las que se prefieren pollos para asar o cuando éstos se venden como alimento preparado, como por ejemplo: el pollo empanizado, la dieta se puede formular sin harina de maíz, el cual es considerado aprovechable el 80% o harina de alfalfa y se puede sustituir por maíz amarillo. Cuando se demandan pollos con altos niveles de pigmentación como señal de calidad de primera, en este caso se formulan las dietas con niveles altos de oxicarotenoides. (18)

CONCEPTOS SOBRE PIGMENTACION EN POLLO



(18)

DIGESTION, ABSORCIÓN Y DISTRIBUCION DE XANTOFILAS

Una vez que los carotenoides se absorben en el tracto gastro-intestinal, su destino varía enormemente de acuerdo a la especie animal y al tipo de carotenoide. Los cambios metabólicos y la deposición de los carotenoides en varios tejidos y órganos son tan diversos en especies específicas como su absorción. (26)

Al ser consumida la xantofila por el pollo de engorda, empieza a recorrer el tracto digestivo sin cambios aparentes hasta alcanzar el intestino delgado, donde en su parte alta (duodeno y yeyuno) las xantofilas y en especial la luteína deben encontrarse en su forma trans para ser absorbidas. (29)

Cuando se proporciona a los pollos un producto hidrolizado de cempasuchil que contenga 91% de luteína libre, 8% monoéster y 1% diéster, se ha podido observar lo siguiente: la concentración mayor de luteína en el tracto gastrointestinal es luteína monoéster, en una proporción del doble que luteína libre y cerca de cuatro veces mayor que la luteína en forma diéster.

Una vez que las xantofilas han sido absorbidas, se transportan en el suero sanguíneo y al pasar por el hígado éstas se depositan en el mismo. En el suero donde los carotenoides son transportados del tracto gastrointestinal a los sitios de depósito, cerca del 98% del total de luteína está presente como un alcohol libre y el resto como monoéster y no hay trazas de luteína diéster. En el hígado, la luteína se encuentra primariamente como alcohol libre, un 20% como monoéster y únicamente trazas de luteína diéster.

Cerca de la mitad de la luteína total en la piel de la pechuga está presente como diéster, el resto está en cantidades iguales de luteína libre y luteína diéster. El contenido total de carotenoides en la piel y en el suero son directamente proporcionales a las concentraciones de carotenoides en la dieta.

Lo encontrado por Tyckzkowski y Hamilton de que la luteína en el contenido intestinal está presente en las tres formas, es contrario a lo esperado basándose en la primera observación hecha por Philip et al en la que las gallinas que consumieron luteína diéster la deacilan a luteína libre antes de depositarla en los huevos y esta deacilación ocurre en el contenido intestinal de las gallinas.

Los datos no definen la forma de la luteína cuando es absorbida, pero lo encontrado en el suero, luteína libre principalmente (96%), sugiere que el alcohol libre es la forma en que es absorbida y esto implica que la forma de transporte es la luteína libre. Esto también indica que la absorción en la pared intestinal es un proceso pasivo insaturable.

La ocurrencia de 20% del total de luteína en el hígado como monoésteres sugiere que quizás exista una actividad local enzimática que esterifica la luteína libre. El papel de almacenamiento y esterificación de la luteína en el hígado no es conocido, pero quizás el hígado actúa como un depósito auxiliar para los carotenoides cuando aumenta la concentración en el suero en forma violenta por la disposición de éstos a través de la dieta.

Las formas esterificadas y particularmente los diésteres son las formas en que se deposita la luteína en la piel. El encontrar cantidades apreciables de luteína monoéster sugiere que la formación de luteína diéster a partir de luteína libre tiene dos pasos enzimáticos discretos (luteína libre- luteína monoéster- luteína diéster) y el equilibrio para las reacciones no lo quita de la unidad.

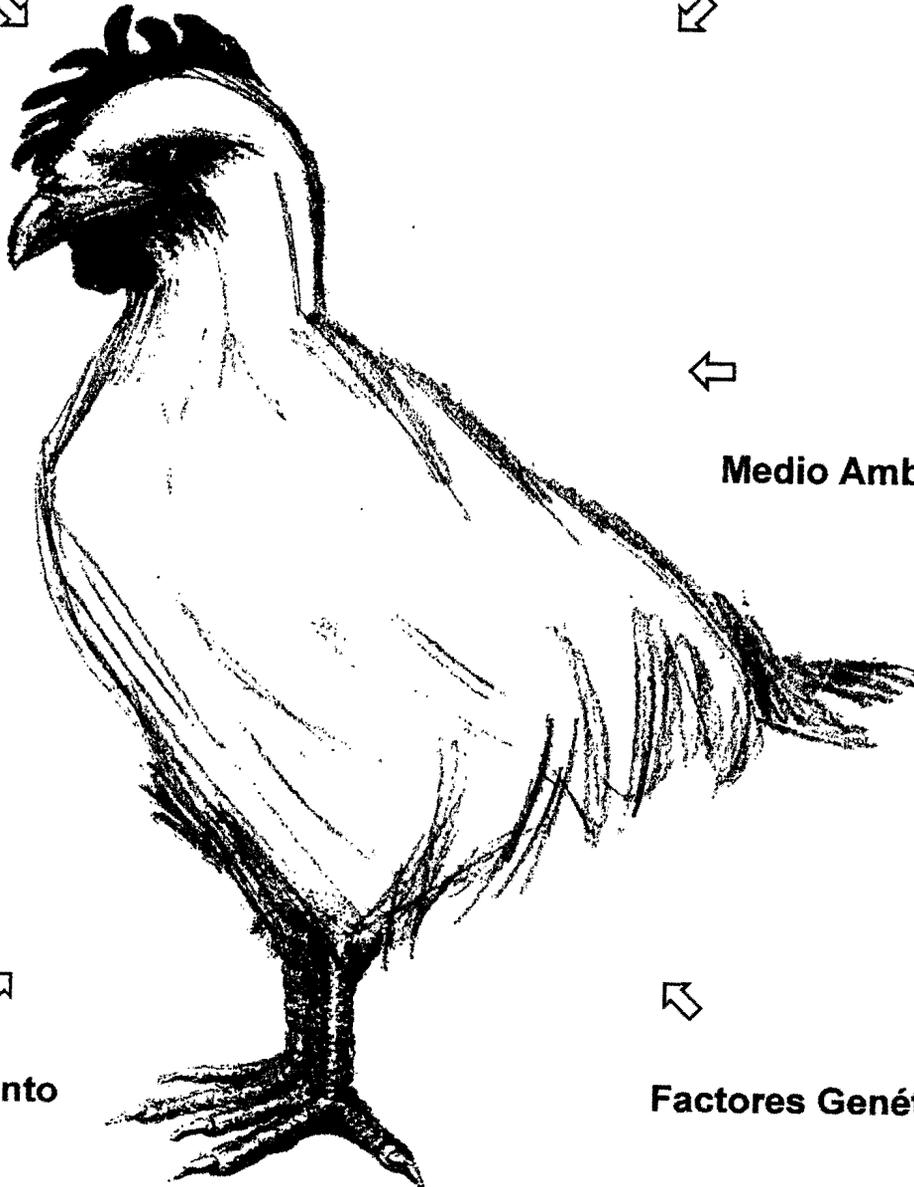
La presencia de luteína libre como la forma de transporte sugiere que la luteína libre en el tegumento puede ser más lábil que la diéster cuando ocurre una pérdida de carotenoides.

La eventual palidez de las aves que consumen dietas bajas en luteína, implica la existencia de enzimas deacilasas (esterreasas). Si la luteína libre continúa siendo la forma de transporte bajo estas condiciones, la existencia en el tegumento de pasos enzimáticos para la acilación y deacilación de la luteína implica que existe un beneficio para el ave teniendo formas estables de dihidroxicarotenoides en su piel. (34)

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA PIGMENTACION

Nutrición

Enfermedades



Medio Ambiente



Procesamiento



Factores Genéticos

(27)

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA PIGMENTACION

Lograr una adecuada pigmentación del pollo significa que el proceso integral de producción se cumplió eficazmente, de este modo el color se convierte en un excelente indicador de salud clínica y productiva de una parvada. Existen infinidad de factores que actúan en detrimento de la pigmentación, siendo su efecto más severo en el pollo de engorda que en la gallina de postura.

De estos factores, se presentan los más comunes: (18)

I. FACTORES ALIMENTICIOS - NUTRICIONALES

1.- Calidad y concentración de la materia prima pigmentante:

a) Cambio de ingredientes o de productos pigmentadores:

Conservando las mismas características en cuanto a las xantofilas totales, puede haber una modificación de pigmentación por los cambios en:

- * La composición en oxicarotenoides,
- * La digestibilidad,
- * La pérdida metabólica,
- * El almacenamiento relativo en la canal,
- * El grado de isomerización,
- * El tinte,
- * La afinidad específica

b) Modificación química de las xantofilas, debida a malas condiciones de almacenamiento de las materias primas, de las preparaciones comerciales o de los alimentos que contienen pigmentos.

c) Período de administración de las xantofilas.

Es preferible aumentar la concentración de xantofilas de la ración de acabado durante las 3 o 4 semanas últimas. Con un nivel igual de ingestión de xantofilas, un cambio en el período de distribución puede modificar el color de las canales. (4)

2.- Tasa de conversión del alimento:

* Formulación

* Pesaje de ingredientes pigmentantes.

3.- Proporción energía-proteína. (18)

4.- Calidad y cantidad de grasa en la dieta:

El aporte de lípidos a la ración suele mejorar la absorción y la acumulación de los oxicarotenoides en los tejidos. Sin embargo, existen diferencias según el tipo de grasas; por ejemplo, el aceite de soya podría mejorar la pigmentación, mientras que el sebo tendría un efecto inverso.

Deben tener un bajo nivel de peróxidos (menor de 10 meq), un mínimo de 1% de grasa añadida y un alto contenido de ácidos grasos de cadena larga e insaturada. (4)

Marusich y Bauernfeind (1981) apoyándose en el HPLC han logrado aclarar el efecto de ciertos factores nutricionales sobre la pigmentación, como es el efecto de la longitud de cadena y saturación de ciertos ácidos grasos incorporados en la dieta.

Es conocido por la literatura y por la práctica, que la grasa de la dieta influye en la pigmentación de los pollos de engorda, el mecanismo de cómo influyen las grasas del alimento no

es bien conocido. En el pasado, los carotenoides habían sido considerados como moléculas inertes que pasaban rápidamente en el metabolismo de las grasas.

Influencia de la longitud de cadena y saturación de ácidos grasos y grasas sobre la absorción de luteína:

ACIDO	LUTEINA EN EL SUERO (µg/ml.)
Cáprico C10:0	1.45
Láurico C12:0	3.17
Mirístico C14:0	0.77
Palmítico C16:0	0.64
Estearico C18:0	0.60
Oléico C18:1	1.34
Linolénico C18:2	0.45

(13)

5.- Pro-oxidantes.

Las pérdidas aumentan realmente en las raciones con contenido elevado de oligoelementos. Ciertos productos, tales como el hierro o el cobre, ejercen una marcada acción pro-oxidante. (31)

6.- Anti-oxidantes.

La acción anti-oxidante de estos productos (BHA y BHT y Etoxiquina) parece interesante para prevenir la degradación de las xantofilas en las materias primas o en las preparaciones comerciales. (4) (31)

7.- Vitamina A.

Existe entre la vitamina A y carotenoides una situación competitiva de reabsorción en perjuicio de los carotenoides, es decir, vitamina A es adicionada preferentemente a la proteína fijadora de retinol. En caso de que el alimento contenga demasiado vitamina A (20,000 UI/Kg.), entonces se encuentran todos los receptores ocupados, de tal manera que no se logra un buen efecto de pigmentación de los carotenoides. para la práctica resulta de ésto la recomendación de no rebasar una dosificación de vitamina A de 10,000 UI/Kg. en alimentos.

Un exceso de vitamina A interfiere en el color de la piel de las aves. Las dosis indispensables varían según el nivel de xantofilas en el alimento. (4)

8.- Vitamina E.

La vitamina E actúa como anti-oxidante fisiológico "in vivo" y, por consiguiente, favorece la pigmentación. Por otra parte, ciertos ensayos hacen pensar que las dosis elevadas de vitamina E favorecen la absorción de los carotenoides. (4)

9.- Factores desconocidos y/o sustancias específicas.

El ácido tánico (taninos) y Gosipol en las materias primas impiden la absorción y/o la acumulación de las xantofilas. (4)

10.- Aditivos y/o medicamentos específicos.

Los coccidiostáticos y los antibióticos previenen en ciertos casos, los trastornos de la pigmentación. (4)

Sin embargo, el uso de cromatografía de líquidos a alta presión (HPLC) ha revelado una sorprendente habilidad de las aves para manipular los carotenoides metabólicamente. (14)

II. FACTORES RELACIONADOS CON ENFERMEDADES

De una manera general, las enfermedades afectan la pigmentación por:

- Acciones directas: enteritis; aceleración del tránsito intestinal.
- Acciones indirectas: subconsumo de alimentos, estado de engorda insuficiente.

Citemos el ejemplo de la enfermedad de la malabsorción o "síndrome del ave pálida", la cual reduce la capacidad de absorción de los lípidos y de los pigmentos.

Yvoré y Maingoy describieron la capacidad de los coccidios de modificar ciertos metabolismos, incluso en caso de infestación ligera. Estos dos autores señalaron que los defectos de pigmentación de los pollos amarillos "podrían ser debidos muchas veces a coccidiosis inaparentes, sin consecuencias en el aspecto cuantitativo de la producción". Por otro lado, Marusich (1973), Ruff y Fuller (1975), mostraron el efecto de la coccidiosis sobre el contenido plasmático de carotenoides y el color de las canales. (33)

Por su parte, Tung y sus colaboradores (1977) evidenciaron la influencia de la aflatoxina sobre el contenido plasmático de carotenoides anotados en el siguiente cuadro.

Influencia de la aflatoxina sobre el contenido de carotenoides en el plasma sanguíneo:

AFLATOXINA (mg./g)	CAROTENOIDES DEL PLASMA SANGUINEO (mg./g)
0.0	21
0.6	19
1.2	16
2.5	8
5.0	7
10.0	6

De este modo, no se exagera al decir que el perfecto estado de salud de los pollos es la condición previa para obtener "pollos amarillos".

III. FACTORES DE MEDIO AMBIENTE-MANEJO

1.- Estirpe del ave:

- * Velocidad de crecimiento
- * Postura

2.- Tipo de granja:

- * Tamaño de la caseta

3.- Densidad:

- * Número de aves por metro cuadrado (estándar normal 12 aves por metro cuadrado).
- * Número de aves por comedero funcional.
- * Número de aves por bebedero funcional.

Para éstos dos últimos el número depende del equipo si es manual o automático. El más usado es el automático y son 2 líneas de comederos a lo largo de la caseta con separación de 1 metro entre cada charola y los bebederos automáticos son de chupón y sólo hay un estándar.

4.- Tipo de engorda:

- * Pollo mixto
- * Sexos separados
- * Bajo rendimiento

- * Alto rendimiento
- * Libre acceso
- * Restricción alimenticia

5.- Medio ambiente:

- * Calor excesivo
- * Frío
- * Humedad relativa
- * Temperatura interior de la caseta

6.- Factores genéticos:

- * Diferencias entre líneas y animales individuales

7.- La edad en el momento del sacrificio y el estado de engorda:

La edad en que tiene lugar el sacrificio es un factor que ha de tenerse en cuenta para el depósito de las grasas subcutáneas. (18)

IV. FACTORES DE PROCESO

Escaldado, Desplume, Almacenamiento.

1.- Temperatura de proceso:

- * La pigmentación de la piel disminuye algunas veces si el desplumado se realiza con agua demasiado caliente.

* La temperatura máxima es de 52-53°C. La temperatura es más importante que el período de tiempo de escaldado (si es menor de 180 segundos).

* Si eleva la temperatura de 53°C a 56°C, 30% de las xantofilas son perdidas. (27)

2.- Calidad del desplumado:

* Número de peladoras

* Largo de las peladoras

* Tipo de dedos, si el ajuste de dedos es defectuoso se daña la piel y por lo tanto el color de éste.

3.- Enfriado del pollo:

* Con hielo

* Con chiller

METODOS PARA EVALUAR LA PIGMENTACION

Se pueden dividir en:

1.- Directos

1.1 Prueba de Rank

1.2 Abanico o escalas colorimétricas (Roche, Purina)

1.3 Colorímetro de reflectancia

2.- Indirectos

2.1 Análisis de xantofilas en alimentos.

2.2 Análisis de xantofilas en suero.

2.3 Análisis de xantofilas en piel y tarsos.

2.4 HPLC. (28)

METODOS DIRECTOS

1.1.- PRUEBA DE RANK

Consiste en dar un número determinado previamente de puntos a cada ave de acuerdo con las canales mejor pigmentadas, la desventaja primordial es que los resultados obtenidos con esta prueba no se pueden comparar con los resultados obtenidos en otros experimentos por lo que es de poca utilidad. (18)

1.2.- ABANICO COLORIMETRICO

La desventaja de estos métodos es que los resultados obtenidos pueden variar debido a que las diferencias de percepción del color por las diferentes personas que están juzgando el estudio en particular. El abanico de Roche presenta 15 divisiones siendo su escala de 1 a 15 en coloraciones amarillo, apenas perceptible hasta el amarillo rojizo. (7)

1.3.- EVALUACIÓN DE COLOR UTILIZANDO EL COLORIMETRO DE REFLEXANCIA MINOLTA, CON EL SISTEMA CIE L *a*b

- I. La luz que incide sobre los objetos, al ser reflexada e incidir sobre el ojo de un observador, provoca una percepción de color. Las características de este proceso deben ser entendidas para poder determinar los parámetros que permitan comparar los colores entre sí.

Las fuentes de emisión de luz, varían de acuerdo a sus características propias: su constitución molecular y la cantidad de energía a la que sean sometidas en un momento dado. Esto es que, una misma fuente producirá un espectro de luz distinto entre más energía se le aplique, como por ejemplo el caso del carbón, al iniciar su combustión, la luz producida es rojiza, pero al incrementar su temperatura esta tiende a convertirse en blanquesina. La luz solar también tiene este comportamiento y lo mismo otras fuentes de producción de luz, como los filamentos de tungsteno en los focos comunes.

El espectro visible se encuentra en las longitudes de onda que van de los 400 nm. a los 700 nm. aproximadamente (azul a rojo).

La variación de la energía irradiada por una fuente, produce por lo tanto diferentes espectros de longitudes de onda, lo que hace variar la apreciación del color por el ojo humano en correspondencia de la fuente de luz. Así tenemos que algunos colores se perciben como mas fuertes a la luz del sol que cuando se observan con la luz de focos comunes o lámparas fluorescentes.

Los colorímetros de reflexancia y los espectrofotómetros son aparatos diseñados para la apreciación del color en forma mecánica. Entre estos aparatos es importante seleccionar aquellos que sus fuentes de iluminación se parezcan al máximo con el espectro producido por la luz solar (al cual está adaptado el ojo humano) para que las lecturas coincidan con las apreciaciones de los distintos observadores.

El Colorímetro de Reflectancia Minolta usa una lámpara de xenón, cuyo espectro se parece al de la luz solar en un día despejado (tonos azules).

- II. La luz que incide en un objeto, es modificada por las características propias del mismo, entre las que podremos citar:
- a) El tipo de superficie. Las superficies lisas reflejarán mayor cantidad de luz y por lo tanto el color tiende a verse más brillante que en aquellas superficies rugosas (ejem. la piel del pollo vs. la yema de huevo).
 - b) La cantidad del agente pigmentante que se encuentre en el objeto evaluado, esto es que entre más pigmento se concentre menos luz será reflejada pareciendo entonces un color más oscuro.
 - c) El tipo de agente pigmentante sobre el que incide la luz es importante, ya que éste determina que tipo de longitudes de onda son absorbidas y cuáles reflejadas (ejem. pigmentos rojos o amarillos).
 - d) Otras características físicas del objeto hacen que este sea opaco, translúcido o transparente. En los objetos translúcidos (piel de pollo) la luz que los atraviesa y se refleja sufre también un fenómeno de refracción.

La cantidad de reflexión de un color está íntimamente ligado a la longitud de onda del mismo. En otras palabras, si hacemos incidir una luz con un espectro sobre un objeto, existirán colores que reflejen más luz que otros. Por ejemplo los amarillos son los que más reflejan, seguidos de los rojos, verdes, azules y en menor lugar los grises y negros. Además no en todo el espectro la

reflexión de un color es igual, por lo que es importante una vez más recalcar que si se desean comparar datos de evaluaciones visuales e instrumentales los espectros luminosos de ambas deben ser parecidos.

La reflexancia no es proporcional a la brillantez, por lo que un color puede variar de acuerdo a la luminosidad que proyecte. Asimismo, la reflexancia también cambia con el grado de saturación de un pigmentante.

La exactitud de un colorímetro depende entonces de sus filtros de calibración, lo que incrementa la posibilidad de mejorar la lectura. (Repetibilidad, determinaciones del mismo objeto, y la reproducibilidad, comparaciones entre diferentes aparatos).

- III. Las diferentes longitudes de onda del espectro visual, se combinan para producir toda la gama de colores que son percibidos por el ojo humano. Estas longitudes de onda presentan efectos aditivos y sustractivos. Por ejemplo la mezcla de longitudes amarillas y rojas, da un nuevo color, el anaranjado. Por otra parte la mezcla de rojo, con azul y amarillo producirá un gris, es decir una sustracción.

Para estudiar las diferencias entre los colores percibidos por el ojo humano, se han desarrollado diferentes sistemas que explican mediante ecuaciones matemáticas este fenómeno.

Los sistemas de descomposición de color se iniciaron con el triángulo de color (sistema triestímulo CIE Y, x, y). En este sistema se tienen diferencias importantes en las proporciones de las medidas que determinan uno y otro color. Para hacer más proporcionales los espacios, las coordenadas del triángulo de color, se transformaron a ejes cartesianos en el sistema CIE $L^*a^*b^*$. En el cual se tiene planos para determinar la brillantez de un color (L^*) desde los negros (0.0) a los blancos (100.0). La longitud de onda y la saturación del color se determina por las coordenadas de a^* y b^* . De esta forma es posible definir en forma matemática y precisa las características de un color dado.

En este sistema, la diferencia entre un color observado y un patrón (target), se determina por el factor E^*ab , el cual convierte las coordenadas a un solo valor.

A pesar de que el sistema matemáticamente es correcto, es complicado determinar si los resultados obtenidos por este sistema, son o no consistentes con las observaciones realizadas por el ojo humano. Como una medida de la capacidad de apreciación de colores por el ojo humano, se desarrolló una escala en la cual se mezclan la longitud de onda, como valor principal para determinar las diferencias entre colores y una combinación de los valores de saturación y luminosidad, los cuales son obtenidos del sistema CIE L^*a^*b . Esta escala conocida como MUNSSELL, determina espacios que no son perfectamente simétricos. Esto significa que a pesar que matemáticamente es posible determinar una diferencia de color en el sistema CIE L^*a^*b en cualquier coordenada, el ojo humano no puede distinguirlos en todos los planos y además es diferente para algunos colores.

Así tenemos que para los tonos amarillos, la saturación (cromaticidad) es un factor importante en la diferenciación de colores bajo cierta luminosidad más bien alta, pero cuando esta es baja, entonces ya no es posible diferenciar entre los colores, aunque exista cambios de saturación. Por otra parte en el caso de los colores rojos, a una luminosidad baja es fácil determinar las diferencias de saturación y por lo tanto diferenciar el color, pero a una brillantez alta ya no es perceptible esta diferencia.

De esta forma llegamos al punto donde tendremos que decidir dentro de que tolerancias alrededor de un color objetivo (target), los valores obtenidos por medios instrumentales y convertidos al sistema CIE L^*a^*b nos indican colores iguales a la vista de un observador. Es decir, que tendremos que observar el espacio CIE L^*a^*b como una serie de cubos (dimensiones en los tres ejes) los cuales dentro de ciertas dimensiones representan colores iguales para un observador.

En el caso de las evaluaciones de la piel de pollo, básicamente dentro de los colores amarillos, las tolerancias deben ponderar más la saturación de amarillos que de rojos y la saturación sobre la luminosidad como criterio para determinar si una piel pigmentada es distinta de otra, y esto se relaciona a uno u otro programa de alimentación y fórmula pigmentante. Dentro de una tolerancia dada, debemos esperar que los datos se distribuyan lo más uniformemente posible, lo cual garantiza las menores diferencias, de color entre los objetos observados. Esto se determina calculando los valores de E^*ab y observando su distribución alrededor del color objetivo (target).

- IV. Para efectuar las determinaciones de color en los pollos, utilizando el colorímetro de reflexancia de Minolta se sugiere considerar:
- a) El lugar de donde se efectúa la medición debe ser siempre el mismo. Recomendamos el centro de la vena del grasa, por ser éste el lugar donde el pigmento es más representativo del resto de la canal (considerar también que es el mejor punto de engrase).
 - b) Debe de manejarse correctamente el aparato, adosándolo perfectamente a la piel, para impedir la entrada de luz extraña a la producida por el aparato, la cual modificaría la lectura.
 - c) Los datos deben leerse en función de un color objetivo, de tal forma que se puedan evaluar las diferencias obtenidas entre las distintas lecturas y al compararlas a las tolerancias, determinar cuáles acciones deben considerarse en caso de encontrar desviaciones del patrón de color deseado (color objetivo, target).

V. VENTAJAS DEL COLORIMETRO DE REFLEXANCIA.

- 1) Numerosos factores deben ser considerados cuando se hacen determinaciones de color, por ejemplo: la fuente luminosa, el observador, las características físicas del objeto, etc.
- 2) El colorímetro de reflexancia de lámpara de xenón Minolta es el instrumento que mas se acerca a la percepción de un color efectuada por el ojo humano en condiciones de luz solar normal.
- 3) El sistema CIE L^*a^*b es suficientemente adecuado para determinar las diferencias entre colores, siempre y cuando se tenga un color de referencia al cual comparar las lecturas efectuadas y obtener los valores E^*ab .
- 4) Las tolerancias para E^*a^*b , deberán ser determinadas para cada color que se quiera evaluar, siendo distintos los criterios a utilizar cuando se habla de colores amarillos, que de colores rojos. (12) (20)

METODOS INDIRECTOS

2.1.- ANALISIS DE XANTOFILAS EN ALIMENTOS

Método AOAC (Association of Official Analytical Chemists).

Determina las xantofilas contenidas en los alimentos e ingredientes, mediante una extracción con una mezcla de solventes (HAET) y una saponificación con KOH en solución metanólica. (1)

2.2.- ANALISIS DE XANTOFILAS EN SUERO

Este método registra el nivel de los carotenoides en el plasma como "equivalentes de beta-caroteno". Solamente el contenido total de los carotenoides es evaluado y criterios como longitud de onda o color no están considerados.

Es un método muy rápido, objetivo y reproducible.

2.3.- ANALISIS DE XANTOFILAS EN PIEL Y TARSOS

Las mismas restricciones ya mencionadas son aplicables a este método. Pérdidas de carotenoides, causados por el metabolismo, pueden ser encontrados cuando se cuantifican los niveles de equivalente de beta-caroteno en varios tejidos. Con esta información puede evaluarse la tasa de deposición en un tejido específico. Las diferencias en eficiencia colorante de los diversos carotenoides no es considerada. (25)

2.4.- HPLC (Cromatografía de Líquidos a Alta Presión)

Comunmente se llamaba simplemente cromatografía de líquidos, ha sido uno de los principales adelantos analíticos en los últimos años.

Un aparato típico de HPLC consiste de un inyector que introduce la muestra a una columna cromatográfica en la cual se lleva a cabo la separación de los componentes. Esta separación se logra por medio de un solvente que ha sido removido de un depósito por una bomba y llevando a la columna bajo presión. Conforme los componentes o fracciones aparecen en el otro extremo de la columna, ingresan a un detector que los identifica y cuantifica. El detector está conectado a una grabadora y quizá a un integrador que calcula las proporciones relativas de cada componente. Todo el proceso puede llevarse a cabo manual o automáticamente. (32)

IMPORTANCIA DEL TRABAJO

El color de los alimentos es, por sus incidencias psicológicas sobre el consumidor, un factor esencial que orienta la elección en el momento de la compra. En las aves de corral, las enfermedades o las deficiencias nutricionales ejercen una influencia nefasta sobre la pigmentación.

Estos hechos comienzan a ser conocidos en detalle por el público y explican sin duda las razones por las cuales, en ciertas regiones o ciertos países, la población prefiere el pollo amarillo, es decir, "un pollo bien alimentado y sano".

Hoy en día, el contexto económico de la avicultura nos lleva a tomar en consideración de un modo aún más preciso todos estos factores que permiten vender los productos en las mejores condiciones posibles. Los profesionales también se han esforzado en responder a las exigencias de los consumidores, dedicando su interés al problema de la pigmentación de los pollos de carne.

(4)

En México, la pigmentación del pollo de engorda tiene una importancia trascendental para su comercialización. Esta costumbre deriva de aquellos tiempos en los cuales las aves domésticas se mantenían bajo un sistema de producción de traspatio. Cuando aparece la avicultura organizada la gente prefería al pollo "casero" sobre aquel producido intensivamente por la mejor pigmentación del primero.

Actualmente la coloración de la piel del pollo ha alcanzado intensidades que hace pocos años no se hubieran imaginado, pues la competencia tan fuerte en la industria avícola ha llevado a ciertas empresas a tomar la pigmentación intensa como distintivo de su producto, pero sus competidores los han seguido y es así como se ven pollos en el mercado con colores que antes solo se tenían en la yema de huevo.

La pigmentación del pollo de engorda es muy importante en la Industria Avícola Mexicana y el costo que significa es muy alto, por lo que debe cuidarse hasta el más mínimo detalle para lograr la intensidad deseada, no debe olvidarse que un ave sana es un ave bien pigmentada, de modo que dicho color se comporta como un indicador del proceso integral de producción del pollo de engorda.

(18)

OBJETIVO E HIPOTESIS

OBJETIVO:

Realizar un estudio comparativo entre la concentración de xantofilas en suero y el color en piel de pollos en engorda de una empresa dedicada a su producción y establecer una correlación entre los datos obtenidos como medio para eficientar el control de la pigmentación.

HIPOTESIS:

Con base en esto, hay diversos investigadores que han desarrollado métodos para la determinación objetiva del color sin haber llegado a establecer un acuerdo universal. Por ello nosotros trataremos de encontrar una correlación entre el color visual, la concentración de xantofilas en sangre y el color medido a través del colorímetro de reflectancia.

MATERIAL Y METODOLOGIA

Se definieron parvadas de pollos de la raza Arbor Acres de una granja comercial denominada Avícola Peñuela perteneciente a la Compañía PILGRIM'S PRIDE, S.A. DE C.V, la cual está organizada en 15 secciones con un total de 81 casetas de capacidad aproximada de 15,000 pollos cada una, esto es una capacidad total de 1'500,000 pollos.

Los pollos inician el consumo de pigmento al finalizar la cuarta semana de edad, entonces se iniciaron los muestreos de sangre antes de que esa etapa se presente para tener un punto de referencia en cuanto a niveles de xantofilas en suero antes de que el pollo utilice las provenientes del pigmento suplementado en el alimento. Posteriormente se continuaron los muestreos durante todas las semanas subsecuentes hasta finalizar la engorda esto es, hasta que el pollo llegó al rastro y fué sacrificado.

Se seleccionó al azar una caseta (Sección 7, caseta 1) en la granja mencionada y se tomaron 15 pollos para ser muestreados. El muestreo consistió en puncionar cada pollo ya fuera del corazón y/o del ala hasta obtener aproximadamente 1 ml. de sangre, la cual se colocó en tubos para ser trasladada al laboratorio central de la misma compañía para su procesamiento analítico según la técnica de PERDUE FARMS, INC. para xantofilas totales en suero (06/19/90). También se tomaron muestras de alimento de cada embarque que se envió desde la planta a estas casetas y el que se encontraba en las casetas mismas el día del muestreo. por otra parte, se pesó cada ave y se le evaluó su color mediante el abanico de ROCHE y/o el Fotocolorímetro de reflectancias.

Los pollos tuvieron una dieta a libre acceso como sigue:

- 0-28 días alimento iniciador pollo sin pigmento.
- 29-49 días alimento finalizador pollo con 60 ppm de xantofilas y 5 ppm de cantaxantina.
- 50-56 días alimento última semana con 60 ppm de xantofilas y 5 ppm de cantaxantina.
- 57-58 días última semana retiro sin pigmento.
- A los 58 días de edad se mandó el pollo a sacrificar al rastro.

El pigmento utilizado fué Cromophyl líquido (11 gr/Kg. amarillo) de Bioquimex y cantaxantina (al 10%, rojo) de Roche.

Toda la información de xantofilas obtenida del estudio, fué evaluada estadísticamente, considerando las variables posibles, que sean arrojadas por la prueba para llegar al objetivo principal de esta investigación.

RUTA CRITICA

SELECCION DE PARVADA



SELECCION DE SECCIONES



SELECCION DE CASETAS



INICIO DE MUESTREO A LOS 28 DIAS DE EDAD DEL POLLO



TOMA AL AZAR DE POLLO



PESAR EL POLLO



EVALUAR EL ESTADO GENERAL DEL AVE



MEDICION DE COLOR CON ABANICO DE ROCHE Y
FOTOCOLORIMETRO DE REFLECTANCIAS



TOMA DE MUESTRA DE SANGRE (1 ml.)



COLOCAR EN TUBO, PROTEGERLO DE LA LUZ E IDENTIFICACION



TRASLADO A LABORATORIO DE ANALISIS



PREPARACION DE LAS MUESTRAS



EXTRACCION DE XANTOFILAS



MEDICION ESPECTROFOTOMETRICA



EVALUACION DE RESULTADOS

RECURSOS MATERIALES

Todos los materiales, reactivos, y equipo necesarios para el desarrollo de este proyecto de tesis, fueron proporcionados y auspiciados por la compañía **PILGRIM'S PRIDE, S.A DE C.V.** de esta ciudad.

Parte de los apoyos bibliográficos fueron facilitados por:

* Laboratorios BIOQUIMEX

* Productos Roche

* Industrias KEMIN

TECNICAS DE ANALISIS

CAROTENOS Y XANTOFILAS EN ALIMENTOS Y PLANTAS SECAS

APARATOS Y MATERIAL:

- 1.- Balanza analítica
- 2.- Espectrofotómetro
- 3.- Matraz aforado 100 ml.
- 4.- Matraz aforado 50 ml.
- 5.- Pipeta volumétrica 30 ml.
- 6.- Pipeta volumétrica 5 ml.
- 7.- Pipeta graduada 10 ml.
- 8.- Picetas
- 9.- Tapón de hule
- 10.- Celdas de vidrio

REACTIVOS:

- | | |
|--------------|----------|
| 1.- Solvente | HAET |
| Hexano | 1000 ml. |
| Acetona | 700 ml. |
| Etanol | 600 ml. |
| Tolueno | 700 ml. |
- 2.- Hexano
 - 3.- Solución de hidróxido de potasio al 40% en metanol
 - 4.- Solución acuosa de sulfato de sodio al 10%

PROCEDIMIENTO

- 1.- Pesar 5 grs. de muestra de alimento previamente molida.

- 2.- Colocarla en un matraz aforado de 100 ml., agregar 30 ml. de HAET, tapar y dejar reposar 16 hrs. en oscuridad.
- 3.- Añadir 4 ml. de KOH al 40% en alimentos agitando suavemente y calentar a baño María a 50-52°C durante 30 minutos, utilizando una tira de papel higiénico entre el tapón y el matraz, apretando fuertemente el tapón.
- 4.- Dejar enfriar, coloca el papel dentro del matraz, añadir 30 ml. de Hexano, agregar solución de sulfato de sodio al 10% aproximadamente a 80 ml., tapar y agitar fuertemente (1 minuto), aforar con sulfato de sodio 10% y volver a agitar (1 minuto), dejar reposar en la oscuridad hasta clarificación, mínimo una hora.
- 5.- La epifase mide 50 ml., y contiene las xantofilas, transferir 5 ml. de la epifase, a un matraz aforado de 25 ml., y complementar el volumen con hexano.
- 6.- Homogenizar y determinar absorbancia a 474 nm.

CALCULOS:

$$\text{PPM xantofilas} = \frac{(50) \cdot (25) \cdot (1000)}{5 W_m} \cdot \frac{\text{D.O.}}{236} \cdot F$$

50 = Epifase

5 = Alicuota

25 = Dilución

W_m = Peso de la muestra (5 gr.)

236 = Coeficiente de extinción para trans-luteína

F = 1 (Factor del espectrofotómetro)

De donde:

$$p/\text{alimento} \quad \text{ppm xantofilas} = (\text{Abs}) (211.864)$$

(1)

TECNICA PARA DETERMINAR XANTOFILAS TOTALES EN SUERO

MATERIAL Y APARATOS:

- 1.- Microtubos de plástico
- 2.- Microcentrífuga
- 3.- Tubos de centrifuga cónicos
- 4.- Centrifuga
- 5.- Espectrofotómetro
- 6.- Celdas de vidrio
- 7.- Pipeteador de 500 mcl. o múltiplos de 100 mcl.
- 8.- Suero sanguíneo de aves
- 9.- Tapón de hule
- 10.- Cartucheras (popotes de plástico sellados por la parte inferior)
- 11.- Pipeteador de 500 mcl. o múltiplos de 100 mcl.
- 12.- Asa de platino

REACTIVOS:

- 1.- Acetona o etanol

PROCEDIMIENTO:

- 1.- Eliminar el coágulo de la muestra con un asa de platino.
- 2.- Pipetear 500 mcl. de suero o múltiplos de 100 mcl., dependiendo de la cantidad de muestra, depositar la muestra en un microtubo y centrifugar por 2.5 min a 3200 rpm.
- 3.- Pipetear 500 mcl. de suero o múltiplos de 100 y transferir a un tubo cónico de centrifuga.

- 4.- Adicionar 5 ml. de acetona.
- 5.- Tapar el tubo con un tapón de hule y homogenizar por 10 segundos.
- 6.- Asegurese de cubrir la cara para evitar cualquier explosión por la presión del solvente. Centrifugue los tubos a alta velocidad por 10 minutos a 2000 rpm. aproximadamente.
- 7.- Transfiera el extracto de la acetona a una celda de espectrofotómetro evitando provocar que el sedimento vuelva a la solución y se disperse en ella (cuidando que el sobrenadante este limpio, sin el precipitado del fondo).
- 8.- El extracto de la acetona debe ser claro, si no lo es centrifugar por 10 minutos en forma adicional.
- 9.- Leer la absorbancia de las muestras a 445 nm.
- 10.- Calibrar con acetona, úselo como un blanco.

CALCULOS

$\text{mcg/ml.} = (\text{absorbancia}) (\text{factor escala})$

VOLUMEN DE MUESTRA FACTOR DE ESCALA

500 mcl.	43.14
400 mcl.	52.94
300 mcl.	69.28
200 mcl.	101.96
100 mcl.	200.00

CALCULOS PARA EL FACTOR DE ESCALA

$$\text{conc. (Mcg/ml.)} = \frac{\text{Abs}(10,000)}{2550} * \frac{(5.0 + \text{Volumen de muestra})}{\text{Volumen de muestra}}$$

NOTAS:

- 1.- La hemólisis no interfiere en este método.
- 2.- 2550 es el coeficiente de extinción de luteína a 445 nm. en metanol o acetona.

COMPOSICION DE MUESTRAS DE SUERO

- 1.- Permitir que la muestra complete el período de coagulación completa (12-24 hrs).
- 2.- Pipetear 0.5 ml. de suero de las cartucheras, si los 0.5 ml. no es disponible en todas las cartuchéras dentro de un grupo en particular, pipetear múltiplos de 100 mcl. tomando como base la cartuchera que contenga la menor cantidad.
- 3.- Eliminar el coágulo con un asa de platino.
- 4.- Se realiza la primera centrifugación para tener mayor confiabilidad y limpieza de las muestras de suero. (17)

EXTRACCION DE SANGRE DE LA VENA BRAQUIAL

Esta técnica se emplea para llevar a cabo pruebas serológicas y hematológicas en aves vivas, de las cuales se desea obtener un volumen mayor de sangre (1 a 3 ml.).

(Se expone la vena braquial en la misma forma como se describe).

Para observar la vena braquial, es necesario retirar algunas plumas de la superficie ventral de la región del ala. La vena corre a lo largo de la depresión entre los músculos, el bíceps braquial y el tríceps humeral.

Una vez localizada la vena, se punciona con una aguja calibre 20 e inmediatamente brota la gota de sangre.

Se recomienda exponer la vena del ala derecha y posteriormente inmovilizar ambas alas con la mano izquierda. Hay que extraer la sangre con una aguja calibre 20 o 21 que debe insertarse en dirección contraria al flujo sanguíneo. Es conveniente utilizar agujas nuevas y cuidar de que el vacío aplicado al émbolo se haga con lentitud, a fin de no colapsar las venas. (23)

EXTRACCION DE SANGRE DE LA CAVIDAD CARDIACA POR LA ENTRADA DEL TORAX

Aunque puede obtenerse el mayor volumen de sangre directamente del corazón, hay que tomar en cuenta que este método puede provocar la muerte del ave, sobre todo si se extraen cantidades de sangre superiores a 5 ml., por lo que no se recomienda para animales que se desea conservar o sangrar repetidamente.

La extracción por la entrada del tórax puede resultar difícil en pavos, gallos o reproductoras pesadas adultas. Las aves deben colocarse en decúbito dorsal con la quilla hacia arriba. Debe separarse el buche de la trayectoria con inserción de la aguja, presionando con el dedo índice. La aguja se introduce en el ángulo ventral de la entrada del tórax y se dirige en posición horizontal hacia atrás sobre la línea media hasta puncionar la pared cardíaca.

La aguja que se usará debe ser de calibre 20. La longitud de ésta dependerá del tamaño del ave, pudiendo variar desde 3/4 de pulgada hasta dos pulgadas. (23)

RESULTADOS

Los resultados obtenidos para las tres diferentes determinaciones de color: abanico de Roche, concentración de xantofilas totales en suero (mcg/ml) y niveles de amarillamiento (b^*) y enrojecimiento (a^*) obtenidos mediante el colorímetro de reflectancia Minolta, se presentan en los cuadros 1 a 6 dados a continuación, así mismo, anexo a cada cuadro se presentan los mismos resultados en forma gráfica.

Todos los datos han sido agrupados de acuerdo a la edad del pollo, iniciando de la cuarta semana hasta la edad de sacrificio de las aves a los 58 días cuando son enviadas a la Planta de Proceso.

También se reporta al inicio de cada cuadro el peso promedio de la muestra de 15 aves tomadas al azar bajo la relación de 53% de machos y un 47% de hembras.

Al final de cada cuadro se reportan los valores obtenidos del análisis matemático realizado durante cada semana del experimento, siendo éstos: media aritmética (\bar{X}), desviación estándar (S_{n-1}), rango (valor mínimo y máximo) y el coeficiente de correlación (r) lineal de Pearson de todas las posibles combinaciones entre las diferentes determinaciones.

En el cuadro 7 se resumen los promedios semanales obtenidos en cada uno de los parámetros determinados y anexas a éste las gráficas individualizadas de promedios por determinación.

El cuadro 8 muestra los resultados promedios de xantofilas totales en suero (mcg/ml), enrojecimiento (a^*) y amarillamiento (b^*) con respecto a los valores obtenidos con el abanico de Roche a partir de la quinta semana y hasta el momento posterior al sacrificio en el rastro.

Finalmente, en los cuadros 9, 10 y 11 se presentan los parámetros analizados y sus valores obtenidos en las muestras de alimento de cada una de las fases, el consumo de alimento y xantofilas totales en cada semana, y pesos corporales promedios encontrados en la muestra de aves, respectivamente.

CUADRO 1

RESULTADOS A LA CUARTA SEMANA (Edad = 28 días)

Se tomó una muestra al azar de 15 aves, de las cuales 53% fueron machos y el 47% hembras que resultaron con un peso promedio de 0.826 Kgs.

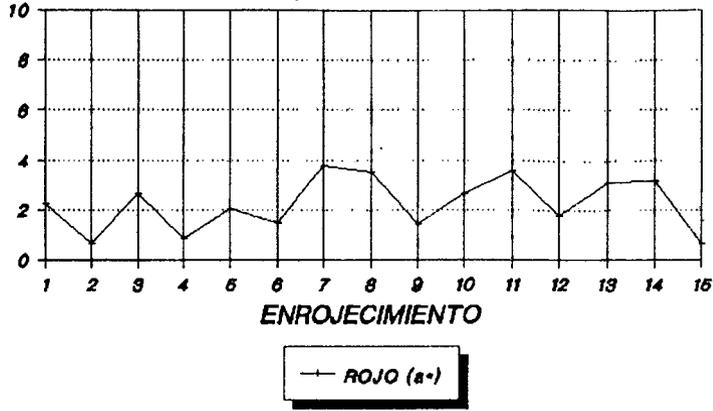
No.	Color en Roche	Xantofila mcg/ml.	a*	b*
1	0	1.07	2.26	12.77
2	0	1.25	0.67	14.25
3	0	0.84	2.64	14.45
4	0	1.52	0.89	15.55
5	0	1.47	2.02	7.87
6	0	1.56	1.49	20.40
7	0	1.56	3.76	8.88
8	0	0.71	3.51	8.37
9	0	1.20	1.44	14.85
10	0	0.89	2.65	15.16
11	0	0.80	3.57	11.25
12	0	0.76	1.78	13.32
13	0	0.67	3.11	12.01
14	0	0.36	3.17	12.90
15	0	0.53	0.67	6.71

n =	15	15	15	15
Mínimo =	0	0.360	0.670	6.710
Máximo =	0	1.560	3.760	20.400
X =	0	1.013	2.242	12.588
S =	0	0.395	1.064	3.587

Correlación de Pearson

	Roche	Xantofilas	a*	b*
Roche	1.000	0.000	0.000	0.000
Xant.	0.000	1.000	-0.289	0.304
a*	0.000	-0.289	1.000	-0.292
b*	0.000	0.304	-0.292	1.000

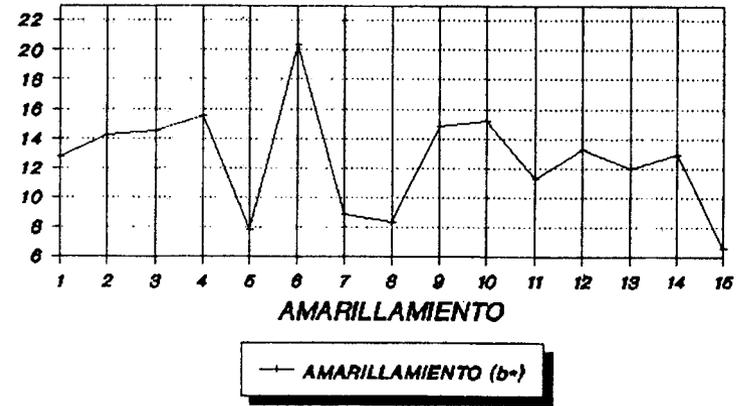
TRABAJO EXPERIMENTAL 4 SEMANA



No. MUESTRAS 15

GRAFICA 1.a

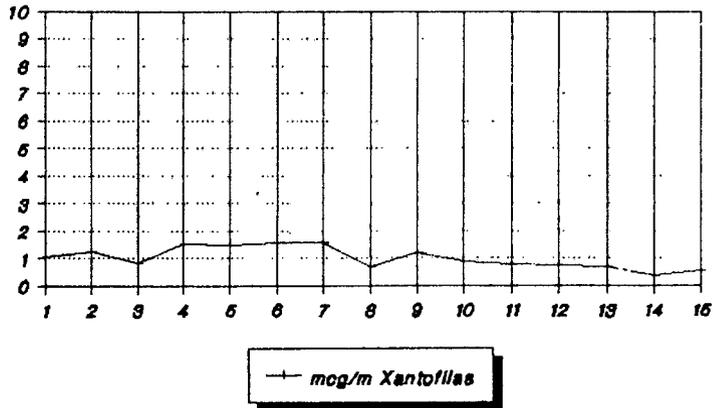
TRABAJO EXPERIMENTAL 4 SEMANA



No. MUESTRAS 15

GRAFICA 1.b

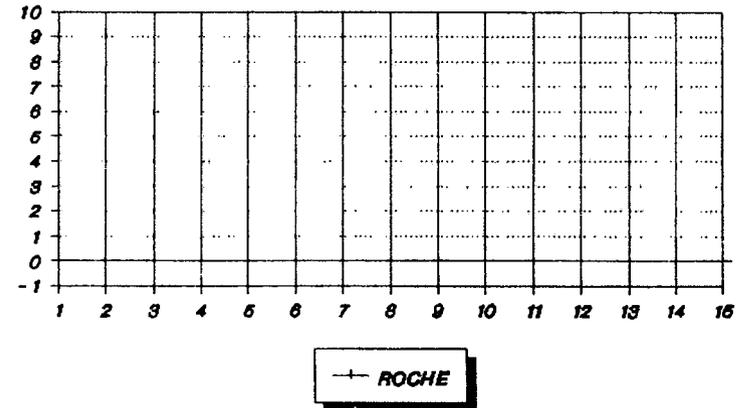
TRABAJO EXPERIMENTAL 4 SEMANA



No. MUESTRAS 15

GRAFICA 1.XANT

TRABAJO EXPERIMENTAL 4 SEMANA



No. MUESTRAS 15

GRAFICA 1.ROE

CUADRO 2

RESULTADOS A LA QUINTA SEMANA (Edad = 35 días)

Peso promedio: 1.038 Kgs.

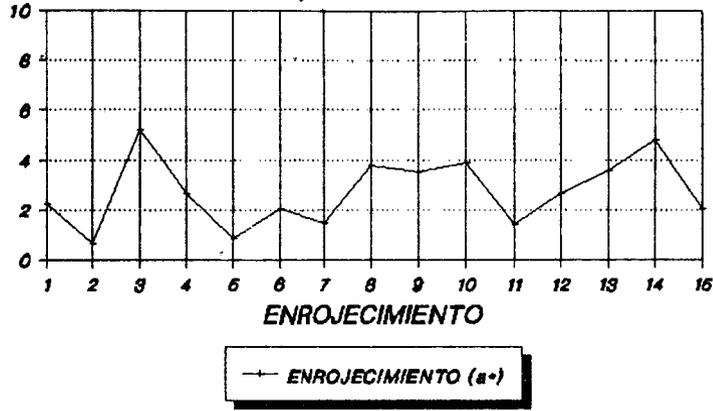
No.	Color en Roche	Xantofila mcg/ml.	a*	b*
1	2	18.73	2.26	12.77
2	2	18.51	0.67	14.25
3	0	13.60	5.21	10.38
4	0	14.54	2.64	14.45
5	2	25.51	0.89	15.55
6	2	17.84	2.02	7.87
7	2	17.13	1.49	20.48
8	1	16.23	3.76	8.88
9	1	16.81	3.51	8.07
10	1	15.92	3.87	6.71
11	2	18.24	1.44	14.85
12	1	16.37	2.65	15.16
13	0	9.81	3.57	11.25
14	1	15.34	4.80	12.65
15	1	13.11	2.02	7.87

n =	15	15	15	15
Mínimo =	0	9.810	0.670	6.710
Máximo =	2	25.510	4.800	20.480
X =	1.2	16.510	2.720	12.099
S =	0.774	3.440	1.367	3.805

Correlación de Pearson

	Roche	Xantofilas	a*	b*
Roche	1.000	0.763	-0.729	0.324
Xant.	0.763	1.000	-0.593	0.346
a*	-0.729	-0.593	1.000	0.490
b*	0.324	0.346	0.490	1.000

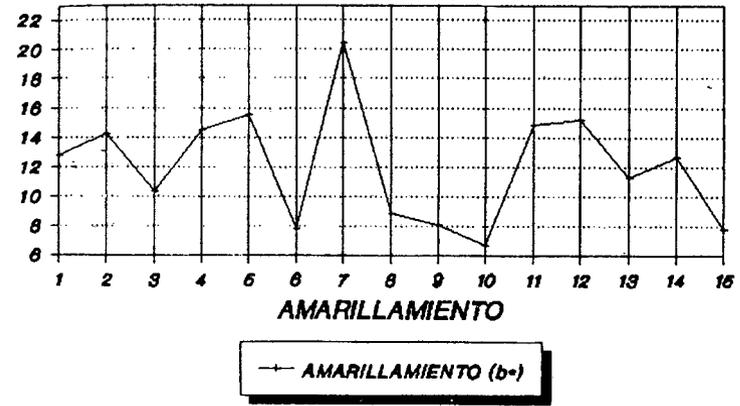
TRABAJO EXPERIMENTAL 5 SEMANA



No. MUESTRAS 15

GRAFICA 2.a'

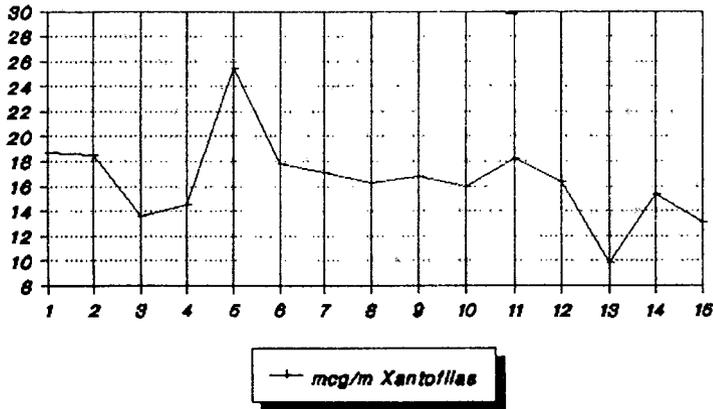
TRABAJO EXPERIMENTAL 5 SEMANA



No. MUESTRAS 15

GRAFICA 2.b'

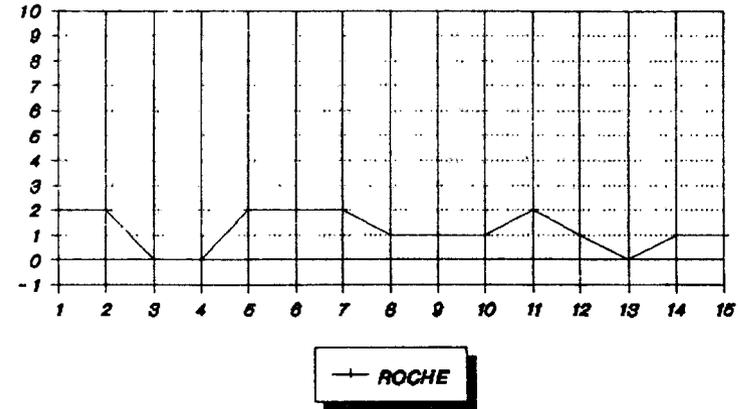
TRABAJO EXPERIMENTAL 5 SEMANA



No. MUESTRAS 15

GRAFICA 2.XANT.

TRABAJO EXPERIMENTAL 5 SEMANA



No. MUESTRAS 15

GRAFICA 2.ROE.

CUADRO 3

RESULTADOS A LA SEXTA SEMANA (Edad = 42 días)

Peso promedio: 1.304 Kgs.

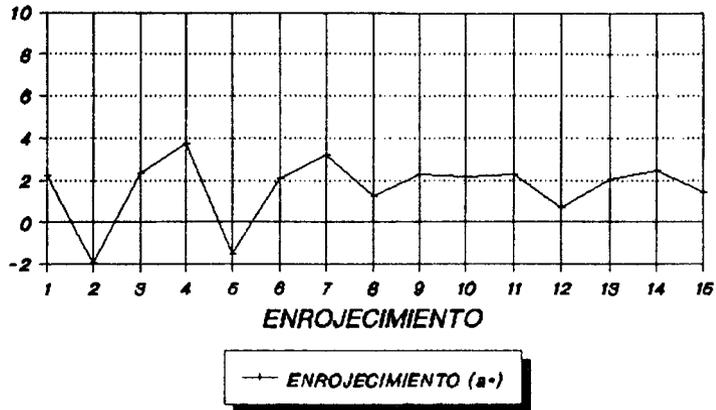
No.	Color en Roche	Xantofila mcg/ml.	a*	b*
1	1	17.17	2.21	6.53
2	2	24.53	-1.93	20.09
3	2	14.45	2.32	9.85
4	2	17.88	3.74	17.67
5	1	14.48	-1.52	13.36
6	2	15.25	2.08	11.96
7	2	28.36	3.18	13.94
8	2	18.06	1.23	11.35
9	1	16.06	2.29	13.29
10	3	21.63	2.14	12.01
11	3	23.59	2.26	12.77
12	1	25.73	0.67	14.25
13	1	24.80	2.02	7.87
14	3	24.57	2.49	20.48
15	1	17.44	1.44	14.85

n =	15	15	15	15
Mínimo =	1	14.450	-1.930	6.530
Máximo =	3	28.360	3.740	20.480
X =	2	20.270	1.640	13.350
S =	0.775	4.659	1.548	3.921

Correlación de Pearson

	Roche	Xantofilas	a*	b*
Roche	1.000	0.295	0.280	0.357
Xant.	0.295	1.000	0.041	0.309
a*	0.280	0.041	1.000	-0.217
b*	0.357	0.309	-0.217	1.000

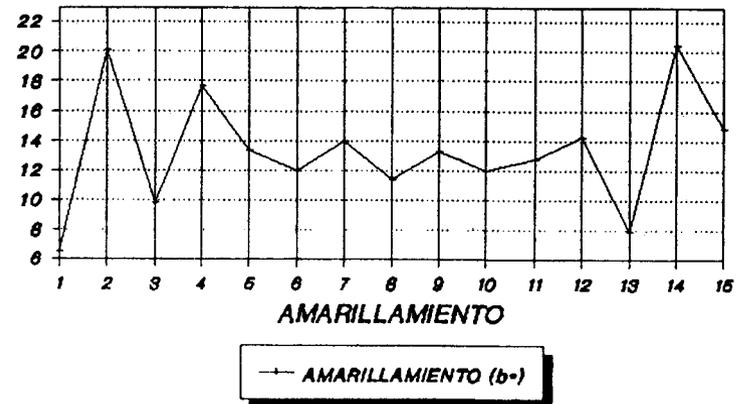
TRABAJO EXPERIMENTAL 6 SEMANA



No. MUESTRAS 15

GRAFICA B.a

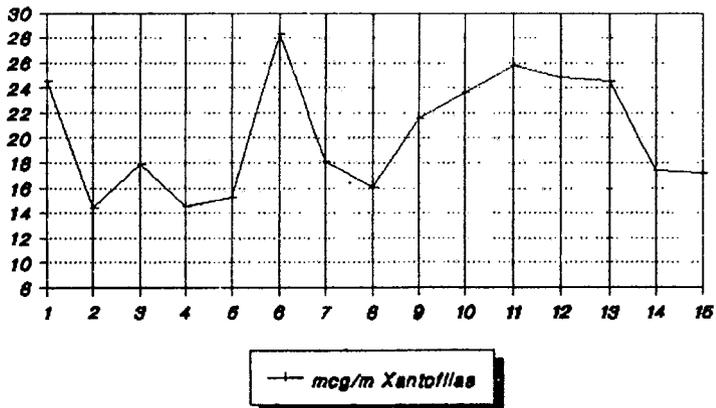
TRABAJO EXPERIMENTAL 6 SEMANA



No. MUESTRAS 15

GRAFICA B.b

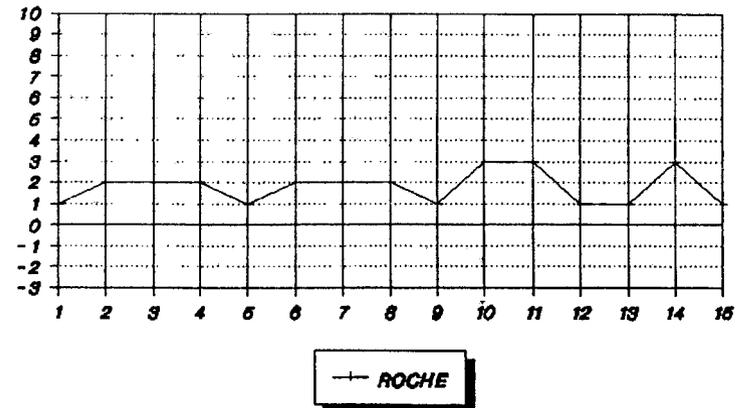
TRABAJO EXPERIMENTAL 6 SEMANA



No. MUESTRAS 15

GRAFICA B.XANT.

TRABAJO EXPERIMENTAL 6 SEMANA



No. MUESTRAS 15

GRAFICA B.ROE.

CUADRO 4

RESULTADOS A LA SEPTIMA SEMANA (Edad = 49 días)

Peso promedio: 1.900 Kgs.

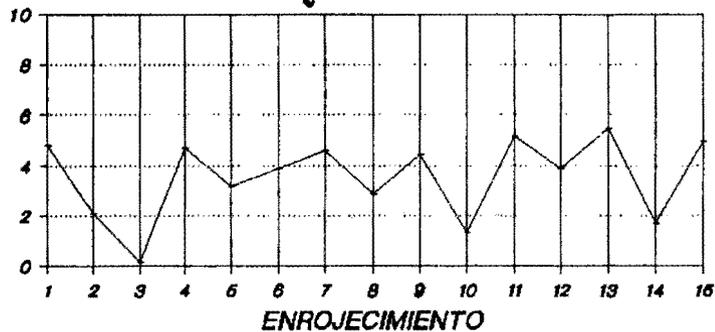
No.	Color en Roche	Xantofila mcg/ml.	a*	b*
1	3	25.47	4.77	17.19
2	3	13.51	2.07	9.41
3	2	23.37	0.17	16.52
4	3	27.25	4.71	17.50
5	2	27.87	3.15	13.20
6	1	26.89	3.87	10.25
7	2	21.76	4.61	14.06
8	2	23.28	2.85	18.67
9	3	25.78	4.46	17.53
10	3	20.52	1.35	17.49
11	2	19.89	5.14	15.77
12	2	16.37	3.85	10.35
13	3	20.29	5.47	14.18
14	2	21.99	1.70	15.78
15	2	19.35	4.96	15.11

n =	15	15	15	15
Mínimo =	1	13.510	0.170	9.410
Máximo =	3	27.870	5.470	18.670
X =	2	22.240	3.540	14.870
S =	0.617	4.100	4.100	2.935

Correlación de Pearson

	Roche	Xantofilas	a*	b*
Roche	1.000	-0.149	0.090	0.344
Xant.	-0.149	1.000	0.131	0.436
a*	0.090	0.131	1.000	-0.029
b*	0.344	0.436	-0.029	1.000

TRABAJO EXPERIMENTAL 7 SEMANA

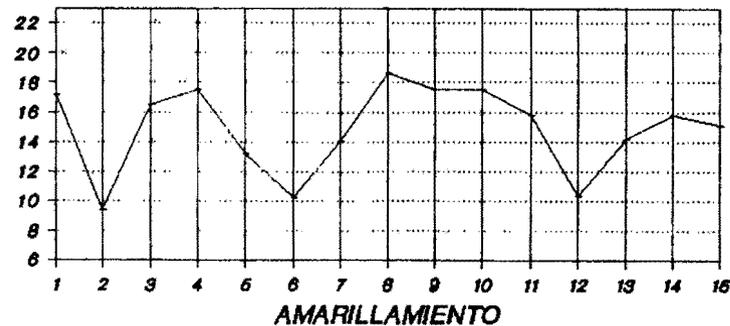


— ENROJECIMIENTO (a)

No. MUESTRAS 15

GRAFICA A.a

TRABAJO EXPERIMENTAL 7 SEMANA

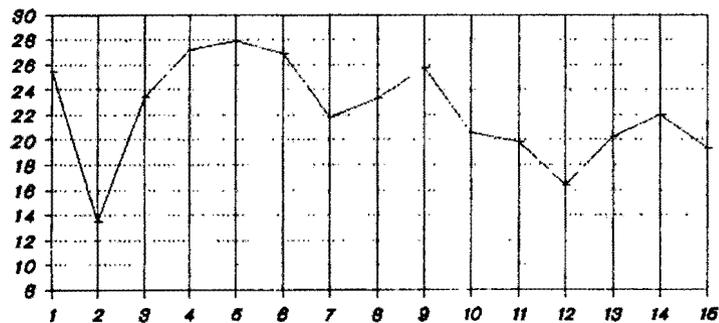


— AMARILLAMIENTO (b)

No. MUESTRAS 15

GRAFICA A.b

TRABAJO EXPERIMENTAL 7 SEMANA

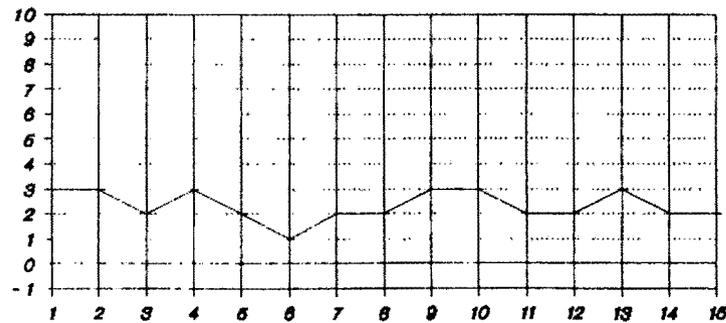


— mcg/m Xantoflas

No. MUESTRAS 15

GRAFICA A.XANT.

TRABAJO EXPERIMENTAL 7 SEMANA



— ROCHE

No. MUESTRAS 15

GRAFICA A.ROE.

CUADRO 5

RESULTADOS A LA OCTAVA SEMANA (Edad = 56 días)

Peso promedio: 2.328 Kgs.

No.	Color en Roche	Xantofila mcg/ml.	a*	b*
1	1	25.73	5.12	10.40
2	2	13.74	6.07	17.70
3	2	29.30	3.07	19.90
4	2	24.53	1.18	15.00
5	2	30.28	1.46	19.00
6	1	13.38	4.23	10.30
7	1	18.91	2.69	15.70
8	2	25.64	3.64	15.70
9	3	31.93	2.17	13.30
10	2	29.44	5.82	18.90
11	3	34.79	2.69	15.40
12	2	24.93	3.87	14.00
13	3	32.47	1.30	15.80
14	2	26.09	4.48	17.40
15	2	26.18	3.17	13.90

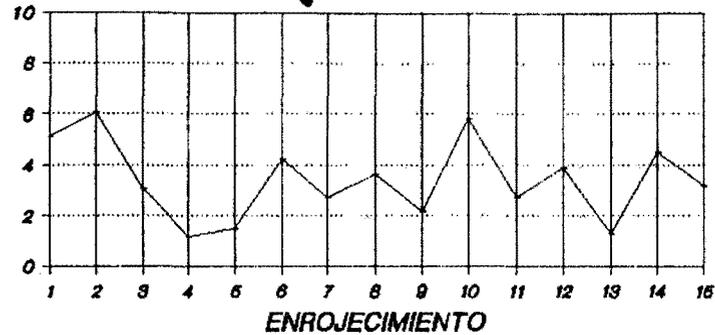
n =	15	15	15	15
Mínimo =	1	13.380	1.180	10.300
Máximo =	3	34.790	6.070	19.900
X =	2	25.823	3.397	15.493
S =	0.655	6.315	1.555	2.863

Correlación de Pearson

	Roche	Xantofilas	a*	b*
Roche	1.000	0.711	-0.412	0.307
Xant.	0.711	1.000	-0.466	0.277
a*	-0.412	-0.466	1.000	-0.038
b*	0.307	0.277	-0.038	1.000

TRABAJO EXPERIMENTAL

8 SEMANA



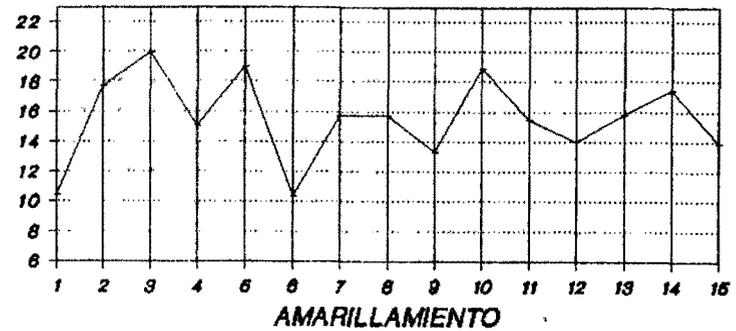
—+ ENROJECIMIENTO (a)

No. MUESTRAS 16

GRAFICA A.A.

TRABAJO EXPERIMENTAL

8 SEMANA



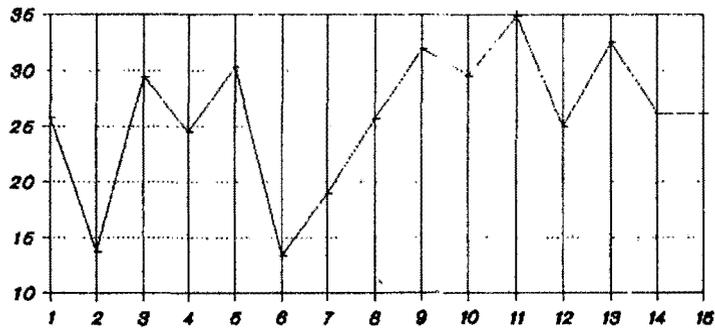
—+ AMARILLAMIENTO (b)

No. MUESTRAS 16

GRAFICA B.B.

TRABAJO EXPERIMENTAL

8 SEMANA



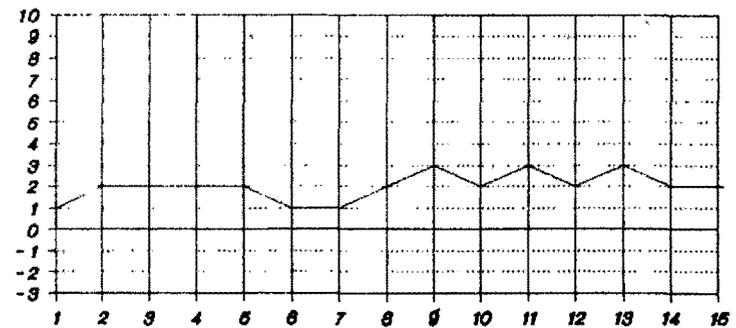
—+ mcg/m Xantoflas

No. MUESTRAS 16

GRAFICA C.XANT.

TRABAJO EXPERIMENTAL

8 SEMANA



—+ ROCHE

No. MUESTRAS 16

GRAFICA D.ROCHE

CUADRO 6

RESULTADOS DE AVES SACRIFICADAS EN RASTRO (Edad = 58 días)

Peso promedio: 2.287 Kgs.

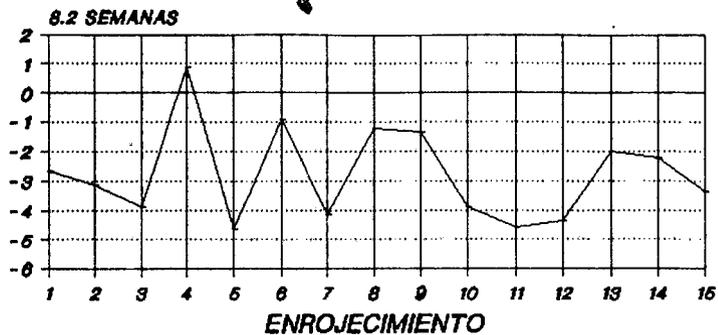
No.	Color en Roche	Xantofila mcg/ml.	a*	b*
1	2	17.71	-2.68	24.02
2	2	18.51	-3.14	18.27
3	2	14.49	-3.88	19.18
4	3	37.11	0.89	24.75
5	2	22.57	-4.62	23.20
6	2	15.79	-0.91	21.00
7	2	17.48	-4.14	27.27
8	3	23.82	-1.22	23.12
9	2	22.92	-1.33	30.05
10	2	18.51	-3.89	29.69
11	2	22.39	-4.58	24.51
12	2	13.65	-4.37	21.26
13	3	24.57	-2.01	24.30
14	2	17.08	-2.23	32.72
15	3	29.44	-3.36	21.30

n =	15	15	15	15
Mínimo =	2	13.650	-4.620	18.270
Máximo =	3	37.110	0.890	32.720
X =	2	21.070	-2.760	24.110
S =	0.458	6.176	1.611	3.890

Correlación de Pearson

	Roche	Xantofilas	a*	b*
Roche	1.000	0.775	0.519	-0.119
Xant.	0.775	1.000	0.530	0.083
a*	0.052	0.530	1.000	0.182
b*	-0.119	0.083	0.182	1.000

TRABAJO EXPERIMENTAL POLLOS EN RASTRO

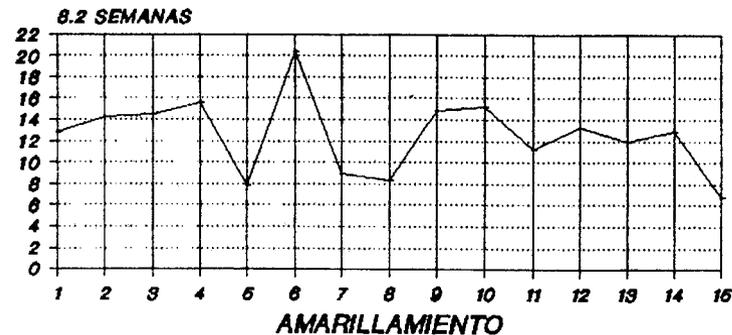


— ENROJECIMIENTO (a+)

No. MUESTRAS 15

GRAFICA 8.a1

TRABAJO EXPERIMENTAL POLLOS EN RASTRO

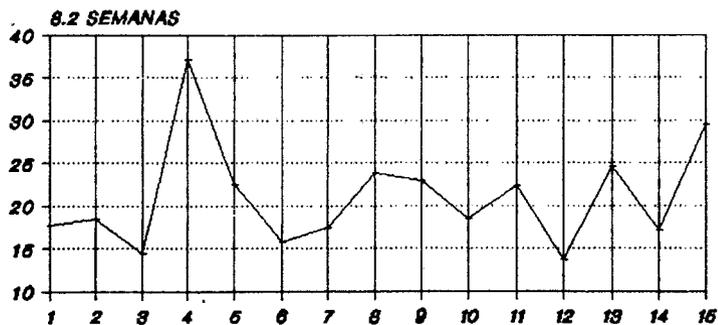


— AMARILLAMIENTO (b+)

No. MUESTRAS 15

GRAFICA 8.b1

TRABAJO EXPERIMENTAL POLLOS EN RASTRO

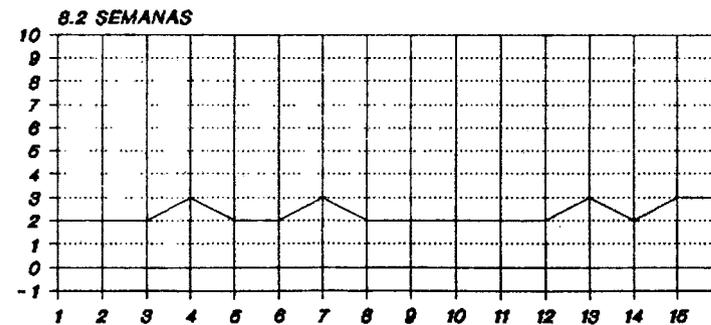


— mcg/m Xantofilas

No. MUESTRAS 15

GRAFICA 8.XANT.

TRABAJO EXPERIMENTAL POLLOS EN RASTRO



— ROCHE

No. MUESTRAS 15

GRAFICA 8.ROE.

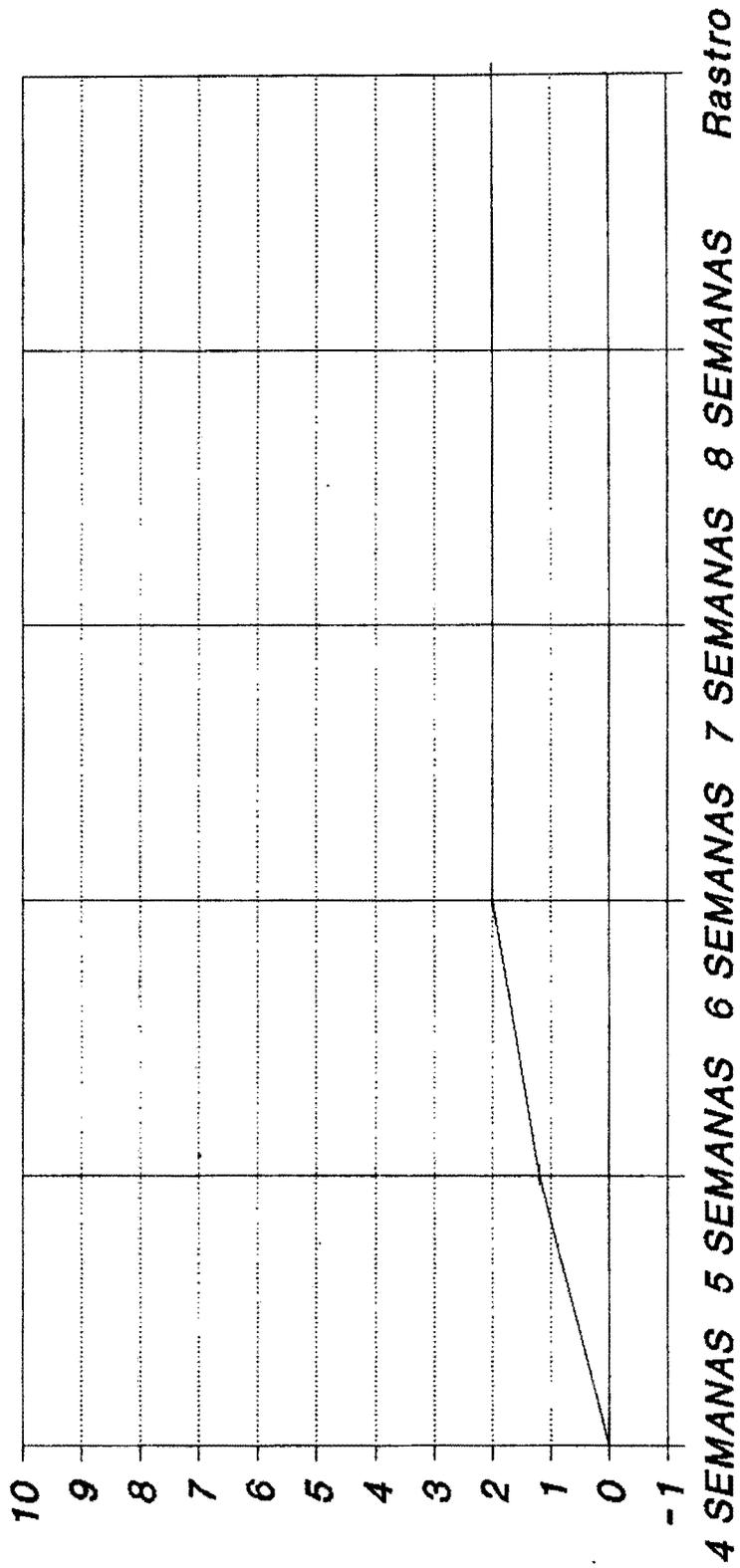
CUADRO 7

RESULTADOS PROMEDIOS EN CADA SEMANA

Semana	Abanico Roche	Xantofila en suero mcg/ml.	a*	b*
4	0	1.013	2.242	12.588
5	1.2	16.510	2.720	12.099
6	2	20.270	1.640	13.350
7	2	22.240	3.540	14.870
8	2	25.823	3.397	15.493
Rastro	2	21.070	-2.760	24.110

TRABAJO EXPERIMENTAL

PROMEDIOS

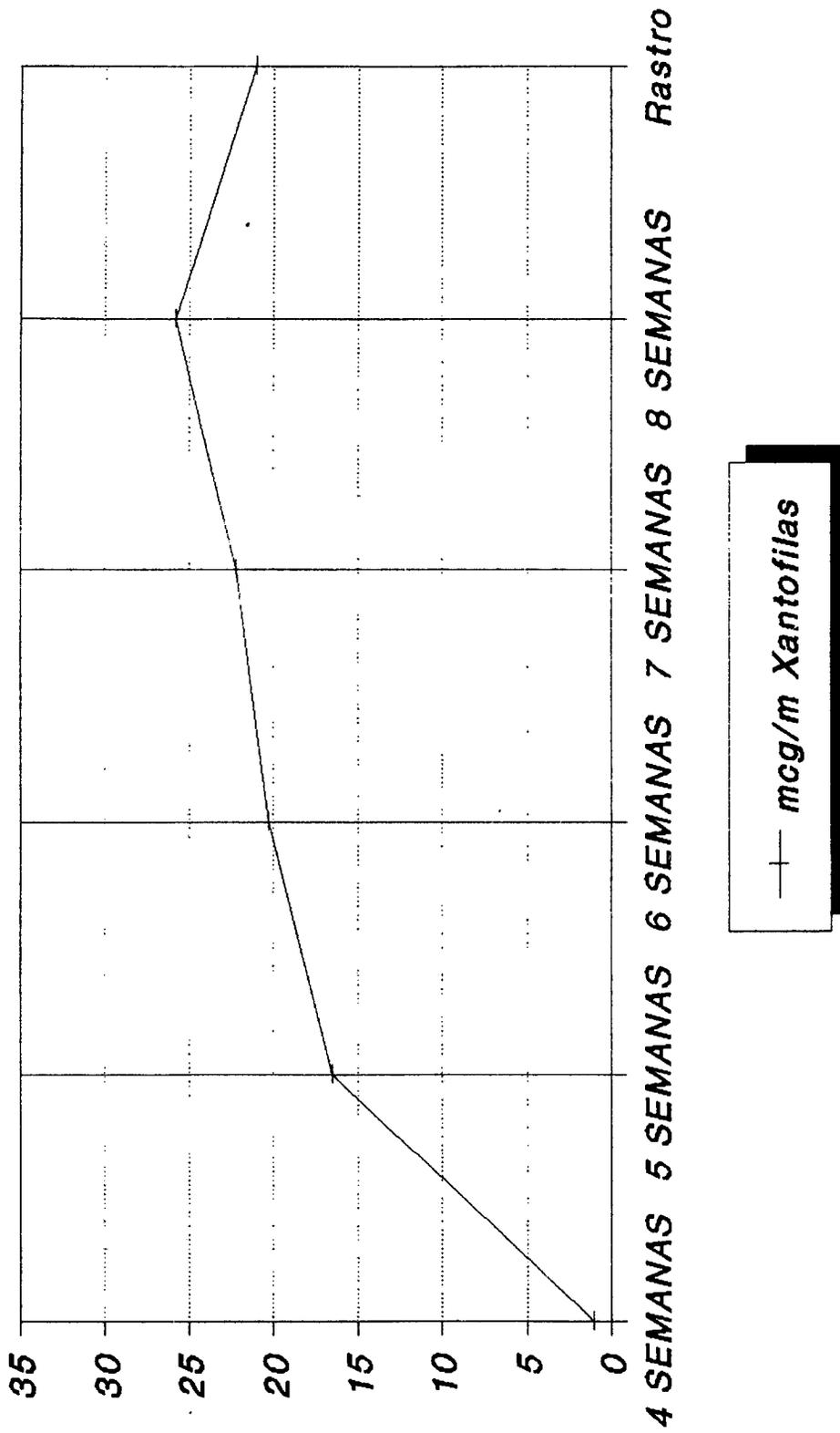


—+— ROCHE

GRAFICA 7. ROE.

TRABAJO EXPERIMENTAL

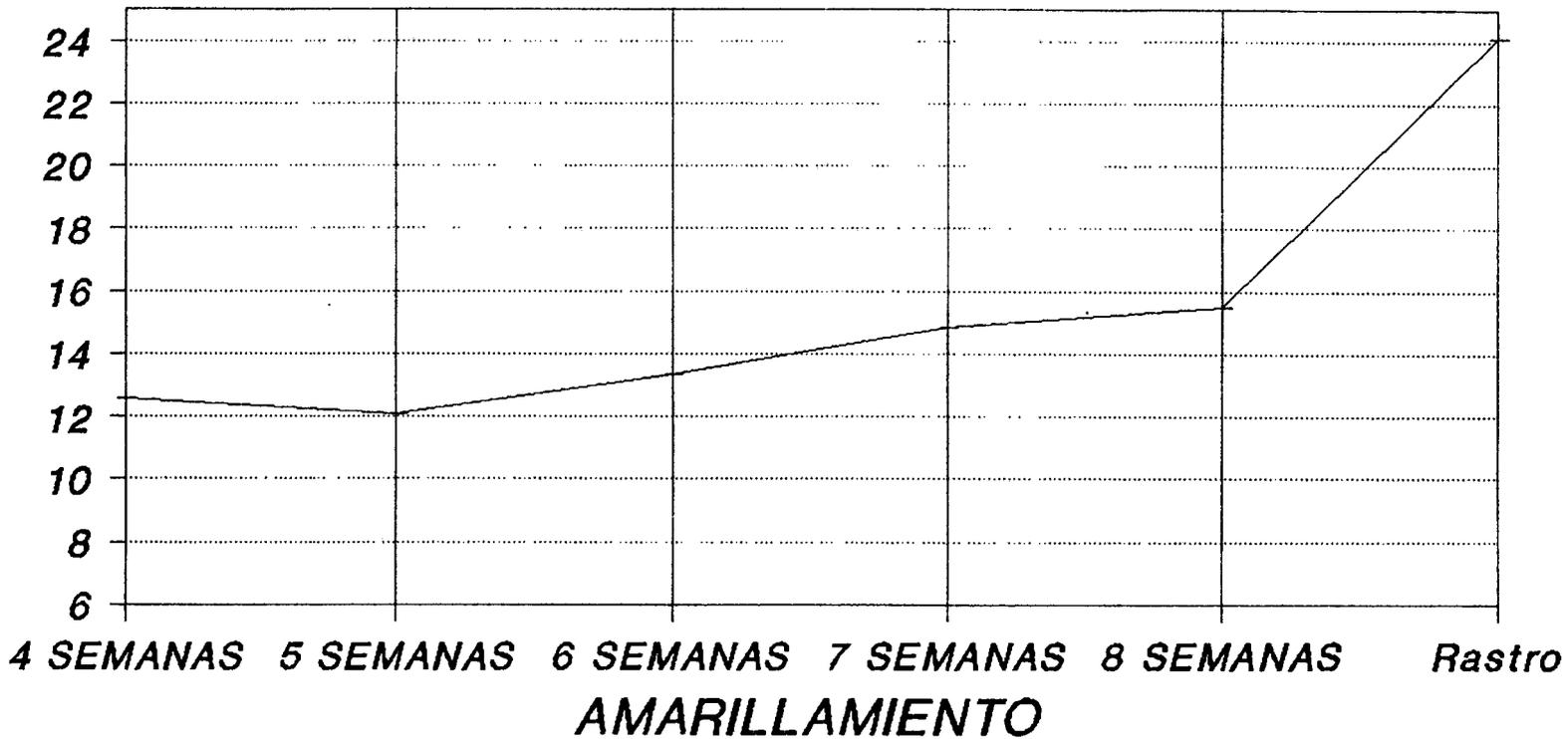
PROMEDIOS



GRAFICA 7 XANTI

TRABAJO EXPERIMENTAL

PROMEDIOS



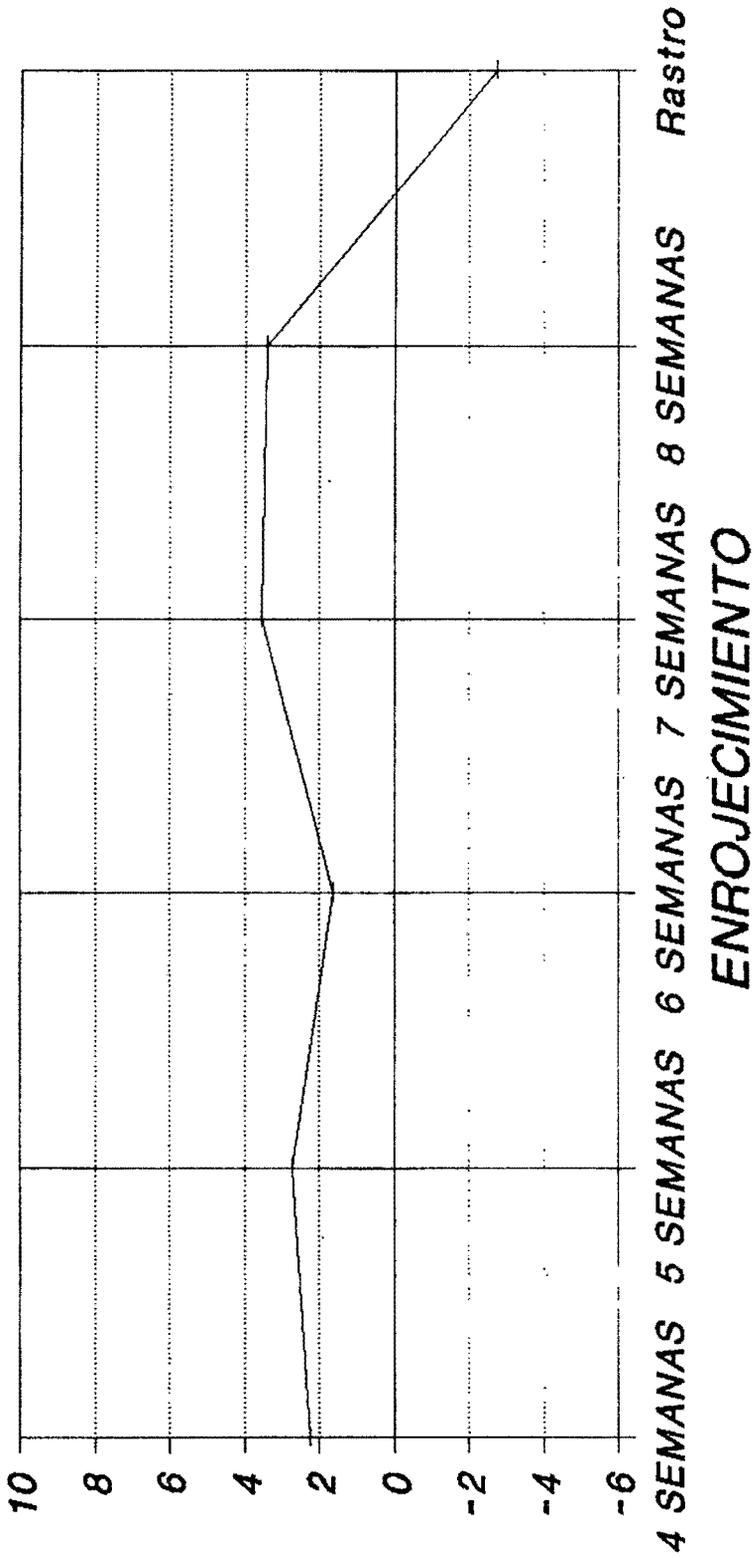
—+— AMARILLAMIENTO (b*)

GRAFICA 7 b:

84

TRABAJO EXPERIMENTAL

PROMEDIOS



—+— ENROJECIMIENTO (a*)

GRAFICA 7 B.

CUADRO 8

CUADRO DE RESULTADOS PROMEDIOS CON RESPECTO A LA ESCALA DE ROCHE

5a. Semana	Valor de Roche	X de Xantofila mcg/ml.	a*	b*
	0	12.65	3.81	12.03
	1	15.63	3.43	9.89
	2	19.33	1.46	14.30

6a. Semana	Valor de Roche	X de Xantofila mcg/ml.	a*	b*
	1	19.28	19.00	11.69
	2	19.76	1.77	14.14
	3	23.26	2.30	15.09

7a. Semana	Valor de Roche	X de Xantofila mcg/ml.	a*	b*
	1	26.89	3.87	10.25
	2	21.74	3.33	14.93
	3	22.14	3.81	15.55

8a. Semana	Valor de Roche	X de Xantofila mcg/ml.	a*	b*
	1	19.34	4.01	12.13
	2	25.57	3.64	16.83
	3	33.06	2.05	14.83

Rastro	Valor de Roche	X de Xantofila mcg/ml.	a*	b*
	2	18.28	-3.25	24.38
	3	28.74	-1.43	23.39

CUADRO 9

COMPOSICION DE LA DIETA DE AVES UTILIZADAS EN EL EXPERIMENTO

SECCION NO. 7

CASETA NO. 1

MATERIAL	EDAD EN SEMANAS	PROTEINA	CENIZAS	CALCIO	FOSFORO	SAL	XANT.	AFLA. PPB.
INI. POLLO	3.1	20.6	5.6	0.94	0.68	0.52	4	ND
INI. POLLO	4.1	21.1	4.9	0.90	0.58	0.50	3	4
FIN. POLLO	5.0	21.4	5.2	0.89	0.59	0.44	68	3.8
FIN. POLLO	6.1	21.3	4.8	0.83	0.74	0.45	72	10
FIN. POLLO	7.1	21.8	4.9	0.87	0.59	0.43	67	ND
ULT. SEM.	8.0	18.2	4.2	0.70	0.65	0.49	71	ND

* Los niveles obtenidos en los diferentes análisis están dentro de las normas de laboratorio de control de calidad.

CUADRO 10

CONSUMO DE ALIMENTO EN POLLO DE ENGORDA Y CONSUMO DE XANTOFILAS EN PARVADA MIXTA

SEMANA/DIAS	ALIMENTO	CONSUMO DE ALIMENTO (gr/pollo)	CONSUMO DE XANTOFILAS (ppm Xant.)
1a. 0-7	Iniciador	109 gr.	
2a. 8-14	Iniciador	182 gr.	
3a. 15-21	Iniciador	326 gr.	
4a. 22-28	Iniciador	494 gr.	
5a. 29-35	Finalizador	683 gr.	40.98
6a. 36-42	Finalizador	967 gr.	58.02
7a. 43-49	Finalizador	1210 gr.	72.60
8a. 50-56	Ultima semana	1271 gr.	76.26

* Iniciador Pollo no lleva pigmento.

** Finalizador Pollo lleva 60 ppm. xantofilas (pigmento).

*** Ultima semana lleva 60 ppm. xantofilas (pigmento).

CUADRO 11

RESULTADOS PROMEDIO DE PESO CORPORAL Y PESO ESPERADO

EDAD	PESO ESPERADO DEL AVE (Kg.)	PESO DEL AVE (Kg.)
4	0.830	0.826
5	1.160	1.037
6	1.510	1.304
7	1.800	1.880
8	2.230	2.328

Analizando los datos presentados en los cuadros anteriores en función de grupos con respecto al abanico de Roche y buscando alguna tendencia con respecto también a los valores obtenidos del análisis de xantofilas totales en sangre y los niveles de amarillamiento (b*) y enrojecimiento (a*) dados por el colorímetro de reflectancia Minolta observamos lo siguiente en cada semana:

- 1.- A la cuarta semana (28 días de edad) la lectura del abanico de Roche no detecta ningún color (valor cero), lo cual coincide con la concentración de xantofilas en sangre con un promedio muy bajo, 1.01 mcg/ml. de sangre (este nivel proviene del aporte de los ingredientes vegetales en el alimento tales como maíz y soya cuya concentración de pigmentos es sumamente baja). También los valores iniciales del colorímetro de reflectancia son muy bajos. Todos estos resultados son a los 28 días cuando aún el ave no ha consumido alimento con pigmento.
- 2.- A la quinta semana (35 días) observamos tres grupos de lecturas del abanico de Roche que van del cero al dos; en la primera donde no se detecta color, se muestra una concentración promedio de xantofilas en sangre de 12.65 mcg/ml. También hay un incremento en el valor de amarillamiento (b*) del colorímetro de reflectancia a un nivel de

12.027. Hasta este momento las aves habían consumido 40.98 mg. de xantofilas totales proporcionadas por el pigmento líquido que a partir de este período se le adicionó en el alimento.

En el grupo con valores del abanico de Roche de uno también hay un incremento de xantofilas en sangre a 15.63 mcg/ml; así mismo el valor de b se incrementó hasta 9.94; con respecto al último grupo de valores de dos en el abanico de Roche también se ve la misma tendencia que los grupos anteriores tanto en la concentración de xantofilas en sangre como en los valores de b* cuyos niveles promedios son 19.32 y 11.29 mcg/ml. respectivamente.

Los resultados de este grupo de edad con respecto a los del anterior cuando no se había consumido pigmento muestran un incremento lógico en la concentración de xantofilas en sangre y las lecturas b* del colorímetro de reflectancia dados por este hecho. Sin embargo, los incrementos obtenidos en los valores de xantofilas en sangre no guardan ninguna proporción con respecto a los valores de amarillamiento (b*).

3.- A la sexta semana (42 días) encontramos también tres grupos de colores, pero ahora van del uno al tres en la escala de Roche. Los valores con color uno y dos tienen prácticamente la misma concentración de xantofilas en sangre 19.28 y 19.76 respectivamente. Cabe señalar que con respecto a la semana anterior sólo se presentó un incremento en los valores de uno mientras que los valores de dos mantuvieron prácticamente el mismo nivel de xantofilas en sangre con respecto a los valores del colorímetro de reflectancia también sufrieron un incremento proporcional. En el grupo de valor tres sólo se tiene un dato cuyo valor de xantofilas en sangre y amarillamiento es sustancialmente mayor a los de los otros grupos presentados esta semana.

Aún cuando los valores obtenidos en esta semana se observan en su mayoría mayores a los de la quinta semana, arrojan un hecho importante que es que aún cuando los grupos uno y dos de la escala de Roche se repitieron en ambas semanas, dichos valores son muy distintos.

- 4.- A la séptima semana (49 días) se aprecia un estancamiento de colores en la escala de Roche pues nuevamente volvemos a encontrar sólo del uno al tres; sin embargo se observa un mayor número de resultados en tres y un menor número en uno con respecto a la semana anterior, lo que significa un mejor color en la parvada. En relación a los niveles de xantofila en sangre se observa un incremento de la misma magnitud en los grupos dos y tres; sin embargo, los valores de amarillamiento no sufrieron ningún cambio pues los niveles determinados son prácticamente iguales a los obtenidos en la sexta semana.

Lo anterior podemos interpretarlo como una insuficiencia de xantofilas en el torrente sanguíneo, pues aún como lo mencionamos hubo un incremento en ellas, los resultados del colorímetro de reflectancia nos indica que no se estaba dando una deposición de pigmento a nivel de la piel. Cabe señalar que a los 45-50 días de edad de la parvada se presentó un problema de coccidiosis que es una parasitosis intestinal que afecta el ritmo de absorción de nutrientes y sustancias a este nivel dado por la presencia de diarreas, y que lógicamente debió ser la causa del retraso en la deposición de pigmento en la piel.

- 5.- A la octava semana (56 días) se observa que continúa el estancamiento de las lecturas en el abanico de Roche aunque se aprecia un nivel mayor en los valores de xantofilas en sangre y con respecto a los valores de amarillamiento también se puede decir que se mantuvieron prácticamente en el mismo nivel anterior. Aparentemente todo el pigmento suministrado en el alimento en esta semana sólo fué utilizado por el ave para mantener el mismo color en la piel.
- 6.- A los 58 días se enviaron a sacrificar al rastro los pollos y sólo se tienen dos grupos de colores en la escala de Roche de dos y tres. En los demás valores obtenidos de xantofila en sangre y amarillamiento se observa que en los primeros hubo un decremento en su concentración dado por el flujo de pigmento hacia los depósitos en la piel lo que a su vez provocó un incremento en el nivel obtenido de amarillamiento (b*). El hecho anterior se debe a que los 57 y 58 días previos a su llegada al rastro las aves ya no consumen pigmento.

CONCLUSIONES

Después de analizar toda la información arrojada por el experimento e introduciendo ésta a un modelo matemático de regresión lineal Pearson podemos concluir lo siguiente:

- I.- Existe un incremento en los valores de xantofilas en sangre y de amarillamiento a través de cada una de las semanas en las que el ave ingirió pigmento tal y como se esperaba; sin embargo, encontramos frecuentemente que dichos incrementos se presentaban de una manera irregular, es decir, que en muchos casos el aumento en los valores era poco significativo y por otro lado no guardaba una proporción con los mg. de xantofilas totales que via alimento le eran suministrados.
- II.- Los coeficientes de correlación de las seis combinaciones posibles (Roche vs. xantofilas, Roche vs. a*, Roche vs. b*, xantofilas vs. a*, xantofilas vs. b* y a* vs. b*) muestran una pobre relación entre las diferentes variables dado que en su mayoría los valores oscilan abajo de un valor de 0.5. Solamente Roche vs. xantofilas totales a la quinta y octava semana así como en el rastro mostró un coeficiente de correlación de un promedio de 0.75, el cual fué el valor más alto cuya significancia como correlación fué la mejor. Luego entonces en ninguno de los casos observamos una correlación lo suficientemente buena como para predecir un comportamiento, a partir de cualquier dato que tuviéramos en condiciones reales.
- III.- El brote de coccidia que se presentó durante la séptima semana al cual debemos de considerar como una variable no programada en el experimento, pero que se presenta erráticamente durante la producción normal de pollos de engorda no afectó de una manera determinante el objetivo del experimento ya que aún en esas condiciones la concentración de xantofilas en sangre continuó existiendo así como un color en la piel perceptible al ojo humano por lo que pudo ser comparado con el abanico de roche y también cuantificado mediante el colorímetro de reflectancia. Sin embargo, hubo la suficiente evidencia para establecer que dicho brote provocó un retraso en la deposición de pigmento en la piel del ave y por lo cual finalmente no se obtuvo el color al que normalmente debería de llegar al rastro un pollo engordado en condiciones idénticas a las del experimento.

- IV.- Los resultados mostraron que no puede ser establecida una relación total entre los diferentes métodos como fué planteado en la hipótesis inicial de este trabajo, ya que como lo mencionamos no existe una buena correlación entre las variables analizadas en este estudio comparativo entre la concentración de xantofilas en sangre y el color en la piel de los pollos de engorda.
- V.- Lo anterior no quita validez a ninguno de los métodos utilizados en la Industria Avícola para evaluar el color en los pollos de engorda, pero si limita el que cada uno de ellos sean utilizados de manera independiente y bajo los estándares establecidos en ellos. En ningún momento será recomendable realizar una evaluación de color utilizando unas veces un método y otras veces otro método diferente pues la evaluación final resultaría difícil y con una variabilidad alta.
- VI.- Por la factibilidad de los métodos consideramos que el Abanico de Roche es un método fácil y práctico para ser usado en campo e ir evaluando en color durante cada una de las semanas de pigmentación, mientras que el Colorímetro de Reflectancias es un método que ayuda a realizar una evaluación más precisa en el producto final cuando el ave ha sido procesada y finalmente la determinación de la concentración de xantofilas en sangre, más que ser un método que ayude a evaluar el color, puede ser de gran utilidad para detectar anomalías en el proceso de pigmentación como parte del metabolismo normal del ave, ya sea que ésta sea afectado por un problema tóxico o infeccioso.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis. 15th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Virginia. p.p. 1048-1049.
- 2.- Badui, Salvador. 1986. Química de los Alimentos. Edit. Alambra. p.p. 271-275.
- 3.- Bavernfiend, J.C. 1981. Carotenoid Vitamin A precursor and Analogs in Foods and Feeds. J. Agric. Food chem. p.p. 20, 456-472.
- 4.- Branellec, Jean-Claude. 1989. Roche. La pigmentación del pollo de carne.
- 5.- Braverman. 1967. Introducción a la Bioquímica de los Alimentos. Edit. Omega. p. 35, 41 y 42.
- 6.- Duckworth, B. 1968. Frutas y verduras. Edit. Acribia, Zaragoza, España. p. 31.
- 7.- Fletcher, Daniel L. 1981. Methods of determining broiler skin pigmentation. Department of Poultry Science, University of Georgia. Athens, Georgia. p.p. 1-6.
- 8.- Fletcher, Daniel L. 1984. Evaluaciones de la pigmentación del pollo. Memorias del VII Ciclo Internacional de Conferencias sobre Avicultura. Colegio de postgraduados, AMENA. México. p.p. 85-89.
- 9.- Fletcher, Daniel L. and Halloran H.R. 1981. An Evaluation of a commercially available Marigold concentrate and paprika oleoresin on eggs yolk pigmentation. Poultry Sci. 60. p.p. 1846-1853.
- 10.- Fruton, S.J. and Simmons, S. 1960. General Biochemistry. John Wiley and Sons Ind., Connecticut.
- 11.- Grant, I.E. and Leavenworth, R.S. 1977. Control estadístico de la calidad. Compañía Editorial Continental, S.A. México.
- 12.- Hale, N. 1991. Minolta's Color Seminar. Minolta Corp. N.1. U.S.A.

- 13.- Hamilton P.B. The use of High-Performance liquid chromatography for the studying pigmentation. Department of Poultry sci. North Carolina State University, Raleigh. North Carolina Symposium the scientific way to pigment Poultry Products.
- 14.- Hamilton, P.B. 1986. Recent developments in our knowledge of Xanthophylls in normal and pale birds. Proc. of Maryland nutrition conference. p.p. 58-62.
- 15.- Hitoshi K. 1985. Herramientas estadísticas básicas para el mejoramiento de la calidad. Edit. Norma. p.p. 194-197.
- 16.- Hoffman, F. La Roche LTD. 1992. Carotenoids, their nature and significanse in animal feeds. Thierry Latscha Departament of Animal Nutrition and Health.
- 17.- Kemin Industries. 1982.
- 18.- León, L.J. MVZ. 1992-93. Servicio Técnico Bioquimex.
- 19.- Mendenhall, W. 1982. Introducción a la probabilidad y la estadística. Edit. Wadsworth Internacional/Iberoamérica. p.p. 290-320.
- 20.- Minolta. 1988. Precise color communication. Minolta Camera Co. L.T.D. Japón.
- 21.- Nelson, E.C. 1988. Xanthophyll Chemistry as related to poultry pigmentation. Kemin Industries. U.S.A.
- 22.- Ojeda, M.A. y Avila, G.E. 1981. El uso de pigmentos en la avicultura. Alimentación animal aplicada. Año 2, fasciculo 2.
- 23.- Paasch Martínez, L. y Perrusquia J. Ma. T. 1985. Necropsias en aves. Edit. Trillas. p.p. 59-60.
- 24.- Pixafil. 1990. Pigmentos Naturales para la avicultura.

- 25.- Roche. 1990. Carophyll Rojo-Amarillo. Carotenoides en la naturaleza.
- 26.- Roche. 1990. Carophyll Rojo-Amarillo. Metabolismo y funciones biológicas de los carotenoides.
- 27.- Roche. 1990. Carophyll Rojo-Amarillo. Factores que influyen en la pigmentación.
- 28.- Roche. 1990. Carophyll Rojo-Amarillo. Pigmentación del pollo de engorda.
- 29.- Scott, M.L. Nesheim, M.C. and Young, R.G. 1982. Nutrition of the chicken. Scott, M.L. Associates, Itahaca, New Nork.
- 30.- Síntesis Avícola. 1985. La Flor de cempasuchil. Vol. 3. No. 12. p. 12,24.
- 31.- Tecnología Avipecuaria. 1991. El uso de antioxidantes en alimentos. Año 4. No. 46. p. 4, 5, 7.
- 32.- Tecnología Avipecuaria. 1992. Bases científicas para la pigmentación de productos avícolas. Año 5. No. 55. p. 13,14.
- 33.- Timberlake, C.F., Henry, B.S. 1986. Plant Pigment as natural food colours. Euro-article. p.p. 21-36.
- 34.- Tyczkowsky, J.K. and Hamilton, P.B. 1986. Absorption, transport and deposition in chickens of lutein diester a carotenoid form Marigold (*Tagetes erecta*) petals. Poultry sci. 65. p.p. 1526-1531.
- 35.- Thierry, L. 1992. Carotenoids their nature and significanse in animal feeds. La Roche. LTD. Basel, Switzerland.
- 36.- Zepeda, G.J. 1986. Síntesis Avícola. Vol. 4, No. 4. p. 20,22.