



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**CINÉTICA DE LA ABSORCIÓN, TRANSPORTE
Y DEPOSICIÓN DE LUTEÍNA EN POLLOS DE
ENGORDA**

T E S I S

presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
por

MARÍA GUADALUPE ACEVES AVILA

para obtener el título de

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Asesorada Por:

MVZ. Arturo Ricardo García Morales
MVZ. Víctor Manuel Petrone García
MVZ. Benjamín Fuente Martínez
MVZ. Xóchitl Hernández Velasco



MÉXICO, D.F., JUNIO DE 2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

DEDICATORIA

A mis padres
José Aceves y Lupita Ávila
A mi tía
Lolis Ávila
A mis hijos
Arturo y Andrea
A mi esposo
Arturo García
A mis hermanos
Lolis y Miguel Ugarte
A mis sobrinos
Mitch y Mau

Por todo el apoyo y ayuda recibidos
pero principalmente por todo el amor
que todos ellos me han entregado

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM, FMVZ por la oportunidad de ser un profesionista.

Al Departamento de Producción Animal: Aves por todo el equipo y ayuda brindado para la realización de los experimentos.

Al Dr. Víctor Petrone por su confianza, orientación y apoyo.

Al Dr. Arturo R. García por ser más que un asesor, un colaborador directo, por su paciencia, tiempo y ayuda incondicional en todo momento.

Al Dr. Benjamín Fuente por su participación en la elaboración del alimento utilizado durante todo el experimento y por ser un gran amigo.

Al Dr. René Rosiles por permitirme compartir su equipo, espacio, conocimientos y amistad.

A los miembros del jurado: MVZ. Ernesto Ávila, MVZ. Arturo Cortés, MVZ. Gabriela Gómez, MVZ. Tamas Fehervari, MVZ. Víctor M. Petrone por sus comentarios y sugerencias para enriquecer este trabajo.

Especialmente a la MVZ. Mireya Juárez que estuvo hombro con hombro, ayudando a la realización de este trabajo, pero especialmente por su amistad y por todo el cariño recibido.

A mis padres por todo el trabajo y apuros en que los metí para poder ser un profesionista.

A mis hijos por todo el tiempo que sacrificaron en la Universidad para permitirme concluir este trabajo.

A Luis H. Andrade por ser una inspiración para amar la vida, vivirla intensamente y exprimirla al máximo.

A todos mis amigos que me han apoyado y gracias a los cuales la vida tiene un poco de más color.

CONTENIDO

Página

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS.....	20
RESULTADOS	24
DISCUSION	28
LITERATURA CITADA	36
FIGURAS	39
CUADROS	45

RESUMEN

ACEVES AVILA, MARIA GUADALUPE. Cinética de la absorción, transporte y deposición de luteína en pollos de engorda (bajo la dirección de: Arturo Ricardo García Morales, Victor Manuel Petrone García, Benjamin Fuente Martínez, Xóchitl Hernández Velasco).

Se evaluó por espectrofotometría de luz ultravioleta el pigmento sérico, entérico y en heces de pollos de engorda durante 200 minutos después de consumir alimento con luteína, y por colorimetría de reflectancia se midió la pigmentación cutánea con el fin de estudiar la cinética de la luteína

INTRODUCCIÓN

La avicultura mexicana tiene características muy particulares en lo que se refiere a pollo de carne, tales como el tipo de comercialización y el grado tan alto de pigmentación de la piel ^{1,2}.

La pigmentación se puede conceptualizar como la deposición de una sustancia colorante capaz de modificar las propiedades de un objeto, de reflejar la luz y cambiar su longitud de onda ^{1,3}. La pigmentación del pollo de engorda reviste especial importancia para el consumidor en el momento de elegir un producto, dado que se asocia el color intenso de los alimentos con la idea de fresca, salud, buen sabor y aspecto apetitoso, tanto en frutas y verduras como en la yema del huevo y la piel del pollo. Por ello es importante determinar la preferencia del mercado, que varía según la zona. En México, estados como Querétaro, Jalisco, Guanajuato, Hidalgo, Edo. de México, Puebla, D.F., Tlaxcala, Morelos y Michoacán, las preferencias del consumidor son hacia colores amarillo dorado, casi naranjas ^{1,2,3}.

Hasta hace cinco décadas, en las granjas productoras de pollo de engorda la ingestión de pasto, maíz amarillo y otros portadores de carotenoides naturales aseguraba el color suficiente de piel para agradar al consumidor, el cual, al no percibir el color cutáneo acostumbrado, consideraba que el pollo tenía deficiente ingestión o absorción de alimentos, asociada a trastornos nutricionales o patológicos en la alimentación de las aves. Ahora se sabe que en cierta forma, dicha apreciación es correcta, dado que si un ave que consume pigmento no tiene la coloración en la piel, muy probablemente tuvo algún padecimiento a nivel digestivo ¹. Con la tecnificación de la industria avícola y el uso de alimentos balanceados ha sido necesario suplementar pigmentos naturales o sintéticos para cumplir con las exigencias del mercado ^{4,5}.

Para obtener la tonalidad de piel requerida para el pollo de engorda, el pigmento debe cumplir varios factores y procesos como son su concentración en el alimento, absorción intestinal, transporte plasmático, deposición en piel y en tejido subcutáneo ^{1,2,3}.

QUIMICA DE LOS AGENTES PIGMENTANTES

En la naturaleza existen varios grupos de moléculas pigmentantes (Ver Cuadro 1):

- Derivados de tetrapirroles, que consisten en clorofilas, pigmentos biliares y hemáticos.
- Carotenoides
- Derivados benzopiránicos; antocianinas y flavonoides ⁷

De éstas moléculas, los carotenoides son mayormente utilizados como pigmentantes. De hecho, el proceso de pigmentación en pollos de engorda y en huevos se basa firmemente en la química lipofílica de los carotenoides. El nombre genérico de carotenoide se utiliza para describir a las moléculas compuestas por ocho unidades de isopreno pentacarbónico, son lípidos de naturaleza terpenoide, esto significa, que están formados por subunidades repetidas de la moléculas de 5 carbonos denominada isopreno ^{1, 3, 4}. Algunos autores han clasificado a los carotenoides tomando en cuenta la forma en que pigmentan el pollo y la yema de huevo ¹, según lo cual, los carotenoides se clasifican como carotenos y xantófilas. Los carotenos están formados exclusivamente por átomos de carbono e hidrógeno, mientras que las xantófilas se consideran productos de la oxidación de los carotenos, ya que contienen átomos de oxígeno, por lo tanto también se conocen como oxicarotenoides ^{1, 6, 8}.

Los oxicarotenoides o lipocromos son un grupo de pigmentos en algunos vegetales y en la grasa de reserva de animales, se trata de hidrocarburos o de productos de oxidación de alto peso molecular conteniendo un alto número de dobles enlaces; este último carácter determina su intensa coloración, sus aspectos de absorción y su afinidad con el oxígeno. Los carotenoides son considerados derivados del isopreno, que al unirse previa deshidrogenación puede construir largas cadenas alifáticas. Los carotenoides con 40 átomos de carbono están constituidos por 8 radicales isoprénicos ⁷.

Según su función química se clasifican en:

- Hidrocarburos (por ejemplo alfa, beta y gama caroteno)
- Alcoholes (por ejemplo criptoxantina, luteína y zeaxantina)
- Ácidos (por ejemplo bixina, azafrina)
- Cetonas (por ejemplo capsantina y cantaxantina)

Los oxicarotenoides, de acuerdo con su estructura química, se subdividen a su vez en hidroxicarotenoides, cetocarotenoides, formas intermedias y formas degradadas (productos de degradación del Beta-Caroteno) ^{1, 7}. Debido a sus estructuras químicas, los carotenoides absorben selectivamente las ondas de luz, emitiendo diferentes colores. Estas moléculas se encuentran en los pétalos de ciertas flores, en las partes verdes y en las raíces de las plantas, en los granos de cereal, en las frutas, en los hongos, en las plumas piel y faneras de los pájaros, en los tejidos de los peces, crustáceos e insectos. En la actualidad se conocen más de 600 carotenoides en la naturaleza, sus funciones son muy variadas, por ejemplo, camuflaje, atracción sexual, dimorfismo sexual, protección contra depredadores, etc. Aparte de las mencionadas funciones asociadas a el color, los carotenoides son moléculas antioxidantes que protegen contra los efectos dañinos de los oxidantes producidos por el metabolismo corporal, ayudando a mantener la integridad de la membrana celular, favoreciendo la salud de tejidos con una alta tasa metabólica ^{1, 7}.

A consecuencia de la oxidación causada por la adición de un grupo hidroxilo o cetona al beta-caroteno, la utilización de xantófilas o de carotenoides que contienen oxígeno por las aves varía considerablemente. Algunas tienen propiedades pigmentantes, pero no poseen actividad de provitamina A; otros son precursores activos de vitamina A y tienen actividad pigmentante ⁶.

Desde el punto de vista funcional han sido clasificados como:

- Precursores de Vitamina A que no pigmentan (Alfa y Beta Caroteno)
- Precursores de Vitamina A que si pigmentan (Criptoxantina y Beta Apo 8'-Carotenal)
- No precursores de Vitamina A que si pigmentan (Luteína, Zeaxantina y Cantaxantina) ^{6, 7}.

CLASIFICACIÓN DE LOS CAROTENOIDES Y CARACTERÍSTICAS

Hasta el momento, existen tres carotenoides amarillos de importancia en la pigmentación de las aves comerciales:

- Etil-ester del ácido apocarotenoico, conocido genéricamente como apoester, es una molécula de origen sintético, de color amarillo-naranja.
- Luteína, es una molécula de color amarillo presente en varios vegetales como la alfalfa, los granos de maíz, la flor de cempasúchil, etc.
- Zeaxantina, es una molécula de color naranja, presente en varios vegetales como la alfalfa, los granos de maíz, la flor de cempasúchil, etc.⁷.

La luteína y la zeaxantina provienen comercialmente de la flor de cempasúchil, (*Tagetes erecta*) a partir de la cual, por un proceso de saponificación (mediante hidrólisis alcalina) se obtienen estos pigmentos. La composición de un pigmento natural de xantofilas amarillas de flor de cempasúchitl a nivel comercial es de un 80 a 90% de luteína, 5% zeaxantina y de un 5 a 15% de carotenoides como violoxantina, criptoxantina, β -caroteno, etc, las cuales carecen de valor pigmentante para las aves. Al someter los extractos de flor de cempasúchitl a la acción del hidróxido de sodio por un tiempo mayor al necesario para que se realice la saponificación, se transforma la luteína en zeaxantina, existiendo actualmente xantófilas de *Tagetes* con un contenido de zeaxantina de 30 a 60%, disminuyendo la proporción de luteína en el rango de 50 a 60%^{1,2}. La transformación consiste en el cambio de posición en un doble enlace de la molécula. Sin embargo, debido a que la zeaxantina y la luteína poseen dos carbonos asimétricos (con cuatro sustituyentes distintos), estas moléculas presentan lo que se conoce como isomería óptica. La importancia de esto radica en que solamente el isómero RR se deposita cuantitativamente en la piel de pollo, mientras que los isómeros RS y SS no, por lo tanto la actividad óptica de esta molécula a nivel de piel de pollo es nula. Durante el proceso de transformación de la luteína en zeaxantina, hasta un 90% de la nueva zeaxantina consiste de isómeros RS y SS, por lo tanto la actividad pigmentante de los pigmentos altos en zeaxantina a nivel de piel en pollo es muy pobre. Estos pigmentos se han denominado altos en zeaxantina, con los cuales se ha buscado lograr una pigmentación amarillo naranja, aunque según algunos

estudios, tienen afinidad por el tegumento en tarsos del pollo de engorda, no tanto por piel ⁷.

En el caso de los productos de flor de cempasúchil (pigmento amarillo) los componentes que tienen un poder pigmentante alto son: la trans-luteína y la trans-zeaxantina. Para el pigmento rojo (del chile *Capsicum spp*) los componentes de mayor interés son la trans-capsorrubina y la trans-capsantina que son los que aportan el color, además de los niveles de trans-luteína y trans-zeaxantina presentes en este producto. Generalmente los pigmentos amarillos contienen como mínimo un 88% de trans-luteína + trans-zeaxantina, mientras que para los productos rojos, las fracciones trans-capsantina, trans-capsorrubina, trans-luteína y trans-zeaxantina debe ser superior al 40% (obtenido por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) ¹.

Con respecto a los productos de Tagetes, estos se comercializan en forma líquida, como emulsiones de xantófilas en agua mas un agente surfactante, o en forma de harina, con el bagazo de la flor como vehículo, en ambos casos es necesario el uso de antioxidantes para evitar que la molécula se inactive. En el caso de las formas líquidas, estas tienen que almacenarse en tanques con dispositivos agitadores. En el caso de las harinas, al usar el bagazo de la flor como vehículo, se encuentra el inconveniente de un tamaño de partícula desigual, lo que evita un mezclado uniforme y favorece el pigmentado no homogéneo del producto final ^{1, 2, 3}.

FISIOLOGÍA DE LA ABSORCIÓN

Los carotenoides se asimilan a nivel intestinal, son transportados por la sangre y depositados en el hígado, y se almacenan en tejidos grasos, piel y patas. En la gallina llegan al ovario donde se eliminan parcialmente por la yema del huevo. Por lo tanto, su capacidad pigmentante está relacionada con el grado de asimilación a nivel del intestino delgado en primer lugar y en segundo por la afinidad específica o preferencia de cada carotenoide por depositarse en un tejido determinado ^{1, 3, 6}.

La absorción de los carotenoides se lleva a cabo mediante un mecanismo pasivo seguido de un gradiente de concentración en donde la luteína en forma libre es absorbida rápidamente, aunque en este modelo, el papel de la re-esterificación de la luteína libre no es claro, pero puede ser favorecido por las condiciones existentes en el intestino. El sitio principal donde la absorción se lleva a cabo en el intestino delgado es el asa duodenal y la parte proximal del yeyuno^{1, 3, 4}. En el caso de los β -carotenos, la absorción se efectúa en la parte distal del intestino delgado. Los carotenoides presentes en el plasma no están esterificados y generalmente se concentran en la fracción de la lipoproteína de alta densidad (LAD) que funciona como transportador de las xantófilas hacia los órganos blanco. Se ha encontrado una relación lineal entre la concentración de proteínas helicoidales y el contenido de carotenoides en las fracciones LAD procedentes de aves sanas¹.

En el hígado la luteína libre representa cerca del 80% mientras que los mono-esteres representan en restante 20%. En la grasa subcutánea, la luteína es esterificada y la forma dominante es la luteína di-ester. Los carotenoides del alimento son depositados en varios tejidos en diferente proporción, por ejemplo, para gallinas de postura, la deposición en la yema es de alrededor de 30 a 45% de cantaxantina, 14% de astaxantina y 25% de zeaxantina. Cantidades relativamente pequeñas son depositadas en el cuerpo (6.8% cantaxantina y cerca de 10% de astaxantina y zeaxantina respectivamente^{1, 3}).

Existen diferencias en las afinidades de algunos carotenoides si se compara la pigmentación del pollo con la de las yemas de los huevos. Muchos informes de investigación han mostrado que la pigmentación de la yema del huevo es diferente a la de la piel de los pollos. Algunas fuentes de xantofilas rojas como la capsantina (presentes en el género *Capsicum*), pigmentan bien la yema pero no los tejidos de los pollos; para el caso de los pollos de engorda, la zeaxantina (color amarillo-naranja) y la cantaxantina (pigmento rojo), se depositan preferentemente en los tarsos^{6, 7, 9}.

FACTORES QUE AFECTAN LA PIGMENTACIÓN DEL POLLO DE ENGORDA

El obtener una pigmentación aceptable para su comercialización es un gran reto, debido a que puede ser influenciado por varios factores, entre los que se encuentran:

- A. Zona Geográfica: La demanda de pigmentación y las preferencias de los consumidores son muy variables entre países e incluso entre las diferentes regiones del mismo país; por ejemplo, se requiere una alta pigmentación cutánea (amarillo naranja) para la parte central de México, lo que no sucede con la zona sureste o norte del país ¹.
- B. Tipo de agente pigmentante:
 1. Fuente pigmentante natural concentrada (amarillo o rojo): Los productos naturales disponibles en México derivan de los pétalos de flor de Cempasúchitl (amarillo) y de chiles del género *Capsicum* spp (rojo) ^{1, 2, 3}.
 2. Fuentes sintéticas: El agente pigmentante de los productos amarillos es el ácido etílico del ácido 8- β -apo-carotenoico, el cual proporciona un color amarillo anaranjado semejante al de la zeaxantina del maíz. La cantaxantina es el principio activo para los pigmentos rojos sintéticos ¹.
 3. Otras fuentes pigmentantes: El maíz amarillo es un excelente producto que aporta color a la piel de las aves o a la yema, debido a que es un ingrediente rico en trans-luteína aunque con una tasa relativamente elevada de trans-zeaxantina, proporciona un tinte amarillo o dorado oscuro. Las dietas en la mayor parte del país utilizan sorgo como grano base, el cual contiene escasa cantidad de pigmentos carotenoides⁶. El gluten de maíz amarillo posee un alto contenido de oxicarotenoides, pero la proteína que contiene es de bajo valor biológico ⁶. También la harina de alfalfa es un ingrediente importante que puede resultar perjudicial si se emplea a niveles elevados debido a que es un alimento rico en fibra lo que produce que su contenido de energía disponible para el pollo sea muy bajo. Hay además grandes variaciones en la calidad entre un proveedor y otro, los diferentes orígenes de las cosechas,

tiempos y condiciones de almacenamiento ² (entre otros, genética de la semilla, factores de cultivo, condiciones de recolección a la cosecha).

- C. Niveles de inclusión de pigmento en la dieta: La concentración de xantófilas en el alimento va a variar dependiendo de las necesidades de la región, y afectar proporcionalmente el grado de pigmentación cutánea ^{1,2}.
- D. Tiempo de consumo de los pigmentos: Hay que ajustar el tiempo durante el cual las aves estarán consumiendo la fórmula diseñada. Al ajustar el consumo de xantofilas a la misma cantidad en gramos por ave, los grados de pigmentación de la piel son diferentes cuando se administran repartidos en distintos periodos de ingestión, de tal manera que los periodos 2 a 3 semanas antes del sacrificio parecen ser los óptimos ^{2,3}. El proceso de pigmentación es un fenómeno acumulativo pero en este proceso los diversos tejidos responderán de manera distinta. Es diferente el tiempo en el que se movilizan completamente los depósitos de carotenoides de la grasa corporal, de lo que sucede en los tarsos y en la epidermis. El metabolismo de carotenoides en la grasa corporal suele ser muy rápido, por lo que un cambio de color se observará en un plazo corto. En la epidermis, en cambio, la tasa metabólica es menor, pero existe un fenómeno de descamación, haciendo que un cambio de color sea casi tan rápido como el producido en la grasa. Los tarsos, por otra parte, tienen un metabolismo y descamación más lento, por lo cual responderán más lentamente a una disminución del nivel de carotenoides consumidos ².
- E. Composición de la ración: Por sus características moleculares, las xantófilas se digieren y absorben como cualquier otra molécula no polar. Los ingredientes que se utilizan comúnmente en la elaboración de los alimentos balanceados pueden aumentar o disminuir la pigmentación de las aves según sea el caso, así por ejemplo la inclusión de aceite, grasas o cebos en el alimento, tienden a aumentar la pigmentación de la yema o la piel del pollo de engorda mediante una mejor absorción de las xantofilas ^{1,10}. De acuerdo con Tyzcowski y Hamilton¹¹, la adición creciente de grasa a partir de un 2% en el alimento hasta un máximo de 6%, mejora la absorción

de carotenoides pigmentantes. Cuando los niveles de grasa dietaria se incrementaron aún más, los efectos fueron negativos, debido tal vez a un aumento en la velocidad de tránsito del alimento en el intestino. Por otro lado, si estas grasas o aceites se encuentran en mal estado (rancias) provoca efectos contrarios ^{1, 6}. También de acuerdo al mecanismo de generación y absorción de micelas que permiten el transporte de lípidos, estos requieren formar interfases con el agua del alimento en el intestino. Este proceso se verá favorecido por la presencia de ciertos tipos de grasas, especialmente los monoglicéridos de ácidos grasos de cadena corta, o los ácidos grasos insaturados de cadena larga. De esta manera la relación saturación/insaturación de una grasa, no sólo determina su energía digestible sino también la capacidad de absorción de carotenoides. Por esta razón es recomendable que la grasa utilizada en vista de la pigmentación, sea de un alto grado de insaturación para facilitar la absorción. También las grasas deben estar libres de gopipol, ya que este disminuye la absorción de carotenoides ³. Un exceso de manganeso en la dieta oxida las xantófilas ¹.

². La vitamina E tiene la función antioxidante intra y extracelular y se utilizará rápidamente en presencia de sustancias oxidantes. Si el nivel de vitamina E en los tejidos no es suficiente, el organismo movilizará a los carotenoides para que se oxiden y protejan de esa manera a los tejidos, lo cual puede generar una disminución de los depósitos de carotenoides. Mientras mayor sea el nivel de grasa en el alimento, mayor debe ser el nivel de vitamina E suplementada. Por otro lado, concentraciones de vitamina A superiores a 25,000 U.I. se reflejarán en un deterioro progresivo del grado de pigmentación, probablemente por alteración competitiva de la absorción de carotenoides, pero si un exceso es perjudicial, una deficiencia de vitamina A causará también alteraciones de concentración de pigmentos en algunos tejidos ³. Los antibióticos que se emplean en el alimento para las aves favorecen una mejor pigmentación, debido a que controlan enfermedades subclínicas y ayudan al mantenimiento de la integridad del tracto digestivo, por lo que hay una mejor absorción de nutrimentos y

pigmentos ⁶. La relación Energía:Proteína (E:P) tiene un impacto directo con el engrasamiento de la canal, dado que al menos un 25% de la canal es grasa y que este cociente puede ser manipulado por la dieta. Debido a que la mayor parte de las xantófilas que dan el color a la piel del pollo se depositan en la grasa, una canal mal engrasada también será una canal mal pigmentada, así como un engrasamiento excesivo producirá resultados erráticos debido al efecto de dilución del pigmento en la grasa ^{3,7}. Por otro lado, existen también factores tóxicos que alteran la pigmentación, entre los que pueden incluirse la presencia de factores antinutricionales en la pasta de soya y la presencia de micotoxinas ^{11,12} en las materias primas.

- F. Estado de salud: Cualquier tipo de enfermedad que disminuya el consumo de alimento por consecuencia va a provocar una reducción en la ingesta de carotenoides ^{1,2,3,10}. Si además se produce algún tipo de daño sobre la integridad de la mucosa intestinal, la absorción de xantofilas dietarias se va a ver sensiblemente disminuida ¹. La tasa de deposición de carotenoides en la grasa y el tejido subcutáneo puede ser influida gravemente por la salud de las aves. Las enfermedades del tracto respiratorio (por ej, enfermedad crónica respiratoria complicada) o del aparato digestivo (por ej. coccidiosis) y en general, cualquier enfermedad que afecte el consumo de alimento, lesione las superficies de absorción, los mecanismos de absorción, o los sistemas de transporte, altera el grado de deposición de los carotenoides y con ello el color ². Por ejemplo, la aflatoxina fue asociada con pobre pigmentación en aves de laboratorio y de campo. Esta micotoxina altera la esterificación de la luteína (un dihidroxicarotenoide) en el contenido intestinal, disminuye la absorción y transporte de luteína, incrementa el secuestro de luteína en el hígado debido a una baja disponibilidad de las formas esterificadas y por consiguiente, disminuye el depósito de pigmento en la piel y yema de huevo ^{11,12}. Esto es teóricamente posible en aves con baja pigmentación debido a una alteración en la acumulación (absorción, transporte y deposición) de oxicarotenoides o como consecuencia de un aumento en la excreción de carotenoides. Algunas de ellas como el caso de

la aflatoxina, están relacionadas con las fallas en la producción de enzimas pancreáticas, lo que provocará una mala digestión de grasas y con ello, una mayor excreción en las heces. Este impacto depende del nivel de aflatoxina recibida. El daño provocado por las aflatoxinas no solo se limita a la absorción, ya que hay daño también en hígado. Como consecuencia de la ingestión de aflatoxinas, el patrón de carotenoides del hígado se ve modificado presentándose mayor cantidad de carotenoides en forma de monoéster y diéster, que es la forma en que se encuentran en los tejidos de destino. La pequeña parte absorbida de carotenoides de la ración, no puede ser transportada del hígado a los tejidos, produciéndose acumulación hepática. Por eso la concentración plasmática de carotenoides en aves con aflatoxicosis es menor que las sanas ^{11, 12}. La malabsorción y la falla en el transporte se producen igualmente si se administran xantófilas en forma de diéster o saponificadas.

- G. Edad de las aves: Los pollos de engorda bajo explotaciones normales ganan peso y con ello depositan grasa en la canal, lo cual permite una mejor deposición de las xantófilas, obteniéndose a mayor cantidad de grasa mayor pigmentación ⁶.
- H. Problemas de abasto de alimento: Cuando las aves bien pigmentadas son alimentadas con una dieta baja en xantófilas, varios tejidos demuestran una disminución en la concentración de carotenoides en diferentes niveles de severidad. El efecto mayor se observa en el contenido yeyunal, después en mucosa del yeyuno, suero, hígado y membrana de las patas ^{1, 2, 3}.
- I. Condición de almacenamiento de los productos pigmentantes: El contacto prolongado del pigmento con el calor, la humedad, la luz y el oxígeno pueden alterar el porcentaje relativo de los componentes pigmentantes en el producto ^{1, 2} debido a que estos factores pueden transformar las formas TRANS a CIS afectando drásticamente su valor pigmentante ¹. Para prevenir la oxidación de las grasas, xantófilas y vitaminas liposolubles, se utilizan varios tipos de antioxidantes como la etoxiquina y el BHT ^{3, 6}.

- J. Estado físico-químico de los pigmentos: La gran mayoría de las xantofilas naturales se encuentran en forma esterificada con ácidos grasos, lo que disminuye su biodisponibilidad. El proceso de saponificación consiste en romper este enlace a éster y dejar las xantofilas libres. En el caso de las gallinas se puede administrar un pigmento sin saponificar a la dieta con resultados similares ^{1, 8}, con el único inconveniente de que la coloración uniforme en la yema se alcanza más tarde que las aves alimentadas con productos saponificados.
- K. Procesamiento del alimento. Cuando el alimento es sometido a procesos como el peletizado o el extruido, es importante tomar en cuenta que puede haber pérdida de xantofilas activas pigmentantes, ya que el calor y la presión producen oxidación de las xantofilas con la pérdida de poder pigmentante ^{1, 2}. Los carotenoides encapsulados tienen una mayor resistencia al proceso debido a que el recubrimiento que posee cada partícula requiere de la actividad enzimática, además de calor y humedad para exponer y destruir totalmente el carotenoide ².
- L. Genética de la parvada: Hay que tomar en cuenta el que las aves sean de piel amarilla o sea que tengan la capacidad genética de pigmentar su piel. Por lo general las líneas comerciales de pollos de engorda son de piel amarilla. En el caso de las gallinas, las líneas comerciales existentes no presentan diferencias importantes en transferir el pigmento a la yema del huevo ⁶. No todas las líneas de pollo de engorda presentan la misma eficiencia para fijar el pigmento en la piel, como se observa en el estudio de Harms *et al* ¹³, probablemente relacionada con la diferente tasa de depósito de grasa subcutánea entre líneas.
- M. Instalaciones y manejo: Se sabe que animales sometidos a manejos inadecuados o que se encuentran en instalaciones deficientes, mostrarán al menos una baja en el consumo de alimento, lo que traerá como consecuencia una pigmentación deficiente ¹.
- N. Planta procesadora: El estrés de la manipulación y transporte, los golpes, el aturdimiento, el escaldado, el desplume mecánico y las contaminaciones

durante el enfriamiento, se reflejan negativamente sobre el color final de la canal. Todas las pequeñas hemorragias que se producen por la rotura de vasos capilares durante la captura, manipulación y transporte al rastro, se reflejarán en un cambio del aspecto de la canal. El mal desangrado se refleja en coloración rojo-rosácea en algunas partes de la canal. Esto puede disminuirse si se revisan aspectos tan críticos como el voltaje y amperaje del aturdidor y el tiempo de desangrado ³. Para obtener un desplumado óptimo de el pollo, se necesita una temperatura en el agua de 60° C, sin embargo, a esta temperatura se produce separación de la epidermis, arrastrando con esto el pigmento de la piel y produciendo que el pollo pierda coloración, lo cual se conoce genéricamente como pollo "tallado", el cual también recibe castigos económicos por mala presentación de el producto en el mercado público ^{1, 3, 7}. La temperatura para obtener un desplumado adecuado sin causar la remoción del pigmento dérmico es alrededor de 52° C, arriba de 53 la cantidad de carotenoides en la piel disminuye drásticamente ⁷. El pH del agua del tanque también juega un rol en la retención del color ². También cuando las desplumadoras no estan bien calibradas pueden desprender pedazos de piel ^{6, 7}.

NIVELES DE PIGMENTACIÓN

Para alcanzar una pigmentación de piel amarilla, y tarsos naranja se requiere el uso de pigmento amarillo exclusivamente, pero si se requiere, según el mercado, pigmentación naranja en la piel, no es posible con xantofilas amarillas, por lo que en ciertos casos se adiciona pigmento rojo en muy bajas cantidades. De acuerdo con experiencias de campo, se ha mencionado que aún a bajos niveles de pigmentación, la combinación de rojos y amarillos produce la coloración deseada en la piel y tarsos de el pollo de engorda con una menor cantidad de xantofilas totales en la dieta ^{1, 2}.

Algunos avicultores prefieren un programa de pigmentación a dosis bajas niveles bajos de 10 a 12 g de xantofila/ton provenientes de extractos de flor de

campasúchil durante las tres primeras semanas de vida, y el resto del ciclo es suficiente administrar de 40-60 g de xantofila/ton para adquirir una buena pigmentación amarilla ^{1, 2, 7}. Para el caso de alimentos de pollos de engorda, durante la fase final (últimas cuatro semanas) se pueden adicionar además 2 ó 3 g de xantofilas a partir de cantaxantina por tonelada de alimento, lo que redundará en una coloración amarillo-naranja en los tarsos ^{2, 7}. Estas aves al ser evaluadas con el colorímetro de reflectancia MINOLTA aportan hasta 27 puntos en pollo vivo en la escala de amarillamiento del sistema CIELab,⁷.

METODOLOGÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA PIGMENTACIÓN

Es conveniente aclarar que hasta el momento ningún método es infalible de error, pero los métodos de evaluación utilizados hasta el momento son los siguientes:

- A. Método visual o por comparación directa: Consiste en comparar directamente mediante observación visual los productos avícolas con patrones preestablecidos; así en el caso de la yema del huevo, se compara con el abanico colorimétrico como el de Roche, dispositivo que consta de hojas coloreadas y enumeradas del 1 al 15, en el que la graduación del 1 al 10 es de amarillos, y a partir del 11, la intensificación del color es debido a la adición de compuestos de color rojo a diferentes niveles ^{1, 7, 14}. Otros ejemplos Purina Skin Pigmentation Guide, Hoechst Colour Standard, etc) Su característica referencial entre el ojo humano, la piel del pollo y la impresión de una gran gama de colores en plástico o celulosa, conlleva un factor de error. El usuario debe estar entrenado en la utilización de estos abanicos, siguiendo siempre el mismo procedimiento: mismo abanico, colocarlo sobre la misma área del pollo (tarsos o vena de la grasa), con similar iluminación ^{7, 14}.
- B. Métodos químicos: Se basan en la extracción de las xantófilas de una o de varias partes del organismo del ave, tales como la grasa del cuerpo, piel, plantas de las patas, tarsos y yema del huevo. Como las xantofilas son liposolubles se extraen con solventes orgánicos para posteriormente

analizarse en el espectrofotómetro y conocer que cantidad en microgramos de xantofilas se encuentran por cm^2 de piel para el caso del pollo de engorda o microgramos por gramo de yema ⁶. Recientemente se ha estandarizado una metodología de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) para la medición no solamente de pigmentos carotenoides, sino hasta metabolitos de ellos en diferentes sitios fisiológicos (hígado, plasma) ^{14, 15}. Sin embargo, y aunque es muy específico, tiene la desventaja de ser un procedimiento tardado y costoso.

- C. Colorímetro de reflectancia: Como el Minolta CR-200 o CR-300®, mide la coloración de la yema del huevo o de los tarsos de los pollos en el sistema CIE lab de luminosidad (L), enrojecimiento (a) y amarillamiento (b) ^{1, 2, 3, 7}. Este instrumento puede medir hasta 20 colores diferentes, sin embargo, en el caso de las mediciones para la piel de pollo, se usan 3 variables, la luminosidad (L), el color rojo (a) y el color amarillo (b). La luminosidad es una escala que califica la presencia o no de luz, abarcando desde el negro absoluto, con un valor de cero, hasta la iluminación total, con un valor de 100. En el caso de la piel de pollo el rango aceptable para esta variable es entre 64 a 72. Con respecto al color rojo, se necesita un mínimo de 2 y para el amarillo un mínimo de 41. Es importante mencionar que debido a que el ojo humano no puede detectar la diferencia de colores entre distintas combinaciones de amarillos y rojos, es posible obtener la misma aceptación en el color de la piel de pollo, a pesar de que las formulas no sean iguales. Las lecturas en el Minolta pueden ser de 42 hasta 50 o más en amarillamiento, y lo que observará la gente es un lote de pollos con un color agradable ¹. Aunque el tipo de equipo, la interpretación de sus resultados, al lugar de disparo y la cantidad que se hagan sobre una misma muestra, son consideraciones que llevan a conclusiones dispares ^{2, 3, 16}.

En la actualidad, es posible decir que la única técnica de rutina de medición de pigmento cutáneo en los pollos de engorda en granjas, es la colorimetría de reflectancia a través de equipos sofisticados como el colorímetro Minolta CR-300® (Minolta Co., Osaka, Japón) ¹⁶. Por otro lado, la medición de pigmento en plasma

no tiene una metodología específica de medición que indique el momento adecuado para medir el pigmento plasmático después que el ave inició consumo de agua y alimento del día. Este hecho ha creado controversia en cuanto a la medición plasmática del pigmento en pollos de engorda a nivel plasmático.

JUSTIFICACIÓN

La cinética de absorción entérica, transporte sanguíneo y deposición cutánea de los carotenoides en pollo de engorda no ha sido estudiada completamente, ya que no se ha elaborado la metodología para obtener sus niveles plasmáticos en diferentes intervalos de tiempo posteriores a la alimentación. El pigmento luteína ha sido de gran utilidad en la industria avícola, sin embargo los conocimientos en torno a la metodología de medición son limitados, en la actualidad la única técnica objetiva de medición de pigmento cutáneo en los pollos de engorda en granjas es la colorimetría de reflectancia. Medir el pigmento en la piel del pollo refleja la absorción entérica del pigmento de los últimos 30 días, por lo que es necesario implementar una técnica que indique el grado de absorción de xantófilas desde los primeros momentos en que el ave está digiriendo el pigmento. Por otro lado para cuantificar pigmento en plasma no se ha desarrollado metodología específica de medición que indique la cinética de absorción en el momento de la digestión; sólo se han realizado estudios aislados para conocer el efecto de la coccidia en la absorción de los pigmentos a nivel entérico ¹⁷. La ausencia de esta metodología impide la detección precoz de mala pigmentación cutánea en días posteriores. Por lo anterior, es importante contar con la metodología adecuada para detectar el mismo día un proceso de mala absorción entérica con el fin de aplicar medidas correctivas y evitar la inversión en cantidad de pigmento extra a la suficiente para una adecuada pigmentación, que el precio a la venta sea menor que cuando se tienen pollos pigmentados según las exigencias del mercado o tener que esperar una semana más para obtener la pigmentación deseada y se retrase la parvada a la venta. Si se conoce la cinética de absorción reflejada en los niveles plasmáticos a diferentes tiempos de la

alimentación, la mala absorción del pigmento se puede detectar antes de que dicha deficiencia sea reflejada en piel.

Por otra parte, los trabajos de investigación acerca de la absorción de pigmento en pollos, no han evaluado diferentes tiempos de muestreo y a diferentes niveles del tracto digestivo, lo cual sin duda ayudaría a explicar los casos de mala pigmentación a nivel de campo cuando se determine en qué tiempo o a qué nivel fisiológico ocurrió la falla, o cuando se ha comprobado la presencia de algún agente específico.

OBJETIVOS

1. Evaluar por medio de espectrofotometría de luz ultravioleta el pigmento sérico a los 0, 40, 80, 120, 160 y 200 minutos después de suministrar alimento con 80 ppm de xantofilas provenientes de flor de cempasúchitl, con 90 % de luteína mínimo, a pollos de engorda a los 21, 28, 35, 42 y 49 días de edad.
2. Evaluar por medio de espectrofotometría de luz ultravioleta el pigmento entérico a los 0, 40, 80, 120, 160 y 200 minutos después de suministrar alimento con 80 ppm de xantofilas provenientes de flor de cempasúchitl, con 90 % de luteína mínimo, a pollos de engorda a los 21, 28, 35, 42 y 49 días de edad.
3. Evaluar por medio de colorimetría de reflectancia, la pigmentación cutánea a los 20, 27, 34, 41 y 48 días de edad en aves que consuman alimento finalizador con 80 ppm de xantofilas provenientes de flor de cempasúchitl, con 90 % de luteína mínimo.

HIPÓTESIS

1. La mayor absorción de pigmentos carotenoides ocurrirá en la parte final de duodeno y yeyuno, a lo largo del periodo experimental.
2. La concentración de pigmentos carotenoides en intestino y plasma tendrá un incremento gradual a medida que el tiempo de consumo de alimento con pigmento

también se incremente, e igualmente la concentración de carotenoides en plasma se incrementará paulatinamente de la semana 3 a la 7.

3. El amarillamiento cutáneo presentará un incremento semanal como respuesta al incremento en la concentración de carotenoides en intestino y plasma.

MATERIAL Y MÉTODOS

a) Instalaciones

Las aves se alojaron en jaulas tipo batería con calefacción eléctrica dentro de las unidades de aislamiento del Departamento de Producción Animal: Aves en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.

b) Animales para experimentación

Se utilizaron 250 pollos de engorda mixtos de 1 día de edad de la estirpe Ross, provenientes de una incubadora comercial. Las aves fueron alimentadas en dos fases, con dietas elaboradas según requerimientos establecidos por NRC¹⁸: iniciación con 0 ppm de pigmento amarillo natural desde el día 1 y hasta el día 21 y la segunda fase de finalización con 80 ppm de xantofilas de pigmento amarillo natural. El agua fue suministrada a libre acceso durante todo el periodo experimental. Se proporcionó luz artificial las 24 horas del día durante las 2 primeras semanas de edad de los pollos. A partir de la tercera hasta la séptima semana de edad se proporcionó luz durante 16 horas al día, de acuerdo a métodos de crianza preestablecidos^{19, 20}.

Se realizó un monitoreo serológico de 10 aves al azar a los 21 días de edad para descartar reovirus y enfermedad de Newcastle. Adicionalmente se obtuvieron muestras de excretas para realizar un monitoreo de coccidia mediante la técnica de Mc Master.

c) Pigmento.

Se utilizó pigmento amarillo natural de flor de cempasúchitl (AveiutTM, PIVEGTM), que fue adicionado en el alimento finalizador en una dosis de 80 ppm de xantófilas. El fabricante garantiza un mínimo de 90 % de luteína.

d) Medición del peso corporal y consumo de alimento.

Semanalmente, a los días 20, 27, 34, 41 y 48, se determinó el peso de 40 aves obtenidas aleatoriamente.

e) Evaluación del amarillamiento cutáneo.

Después del pesaje, realizado los días mencionados en el inciso anterior, y a partir de las mismas 40 aves, se midió el amarillamiento cutáneo en la zona apterilica

costal derecha, mediante el colorímetro de reflectancia MINOLTA™ CR-300 (Minolta, Co. Osaka, Japón), bajo el sistema CIELab.

f) Toma de muestras.

Tanto para evaluar pigmento plasmático como intestinal, las mismas 40 aves fueron dietadas durante 12 horas previas al inicio del muestreo, además de ser alojadas en las baterías con espacio suficiente para que todas tuvieran acceso al alimento el día del muestreo. Esto se hizo con la finalidad de garantizar el consumo de alimento con pigmento. Inicialmente (minuto cero), las aves recibieron alimento al mismo tiempo, y el muestreo se inició a los 40 minutos del inicio del consumo de alimento, continuándose a los 80, 120, 160 y 200 minutos. Para cada intervalo de muestreo se seleccionaron ocho pollos de manera aleatoria, sumando así las 40 aves elegidas al azar, a los cuales se les midió lo siguiente:

Plasma: Se extrajo una muestra de sangre de 2 ml por medio de punción de la vena radial, que fue mezclada con etilendiaminotetracetato (EDTA) como anticoagulante al 2% en una proporción de 1:10.

Intestino. Se obtuvieron segmentos de aproximadamente 1 gramo, tomados en tres niveles del intestino delgado, de la siguiente forma: de la porción final de asa duodenal; de una porción 5 cm. anterior al divertículo de Meckel y 5 cm. posterior al divertículo de Meckel, además de 1 g. de heces. Cada muestra de intestino fue enjuagada con agua corriente para retirar el contenido intestinal. Las muestras fueron refrigeradas y mantenidas en oscuridad hasta el momento de la extracción del pigmento.

g) Extracción del pigmento carotenoide.

Tanto para plasma como para intestino y excreta, la extracción se basó en la metodología utilizada por Allen *et al*²¹, según la cual se realizó lo siguiente:

Plasma. Las muestras de sangre con anticoagulante fueron centrifugadas por 10 minutos a 2000 rpm para lograr la separación del plasma. Posteriormente se obtuvieron 0.5 ml de plasma, mezclados con 4.5 ml de acetona en un tubo de ensayo con tapa, las muestras fueron mezcladas con vórtex, y centrifugadas a 1500 rpm por 10 min. Para la medición de los carotenoides se utilizó un espectrofotómetro de luz ultravioleta, ajustado a 478 nm. Los valores de

absorbancia fueron convertidos a concentración en $\mu\text{g/ml}$ mediante una curva patrón, utilizando el mismo pigmento consumido por las aves con 15 g de xantofilas/Kg de producto y un mínimo de 90 % de luteína.

Intestino y excretas.

Aproximadamente 1 gramo de muestra fue mezclada con 20 ml de una mezcla de hexano:acetona:etanol:tolueno 10:7:6:7. Las muestras fueron mantenidas en oscuridad y refrigeración durante aproximadamente 12 h., al término de las cuales las muestras se leyeron en un espectrofotómetro de luz ultravioleta, ajustado a 478 nm. Las lecturas de absorbancia fueron posteriormente transformadas a concentración de carotenoides en $\mu\text{g/g}$ de muestra, mediante una curva patrón utilizando el pigmento consumido por las aves con 15 mg de xantofilas/Kg y 90 % de luteína mínimo.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS

De los resultados obtenidos de plasma e intestino se obtuvieron curvas de concentración plasmática y entérica de carotenoides. Asimismo, se obtuvieron los coeficientes de correlación para determinar asociación entre tiempo de consumo de pigmento y concentración de carotenoides en plasma, intestino y excreta, de acuerdo con el siguiente modelo lineal:

$y = a + bx$, donde

y: la concentración del pigmento carotenoide

x: el tiempo de muestreo,

a: el valor de concentración de carotenoides en un tiempo cero,

b: incremento en la concentración de carotenoides por cada unidad de tiempo.

Con los datos de la concentración plasmática de carotenoides, se obtuvieron intervalos de confianza para la media con $\alpha = 0.05$, utilizando la siguiente fórmula:

$$Y \pm \{[t_{\alpha/2 (n-1)}] (s/ \sqrt{n})\}$$

Donde:

Y: Media muestral (promedio)

$t_{\alpha/2 (n-1)}$: Valor critico de tablas (distribución t de Student)

$\alpha/2$: Nivel de significancia para una prueba de dos colas

$n - 1$: grados de libertad

s: desviación estandar muestral

n: numero de observaciones por muestra

RESULTADOS

MONITOREO SEROLÓGICO Y COPROPARASITOSCÓPICO

Los resultados obtenidos a partir de 10 aves al día 21 de edad no mostraron alguna alteración de tipo patológico tanto para enfermedad de Newcastle (aves no vacunadas) como por presencia de coccidias.

PESO Y CONSUMO DE ALIMENTO.

Se observó un incremento gradual tanto en peso corporal, consumo de alimento y conversión alimenticia en la medida que el pollo incremento su edad. Los valores obtenidos para las aves experimentales a partir de la 3ª semana son consistentes con los parámetros productivos obtenidos comercialmente en la zona de valle de México. (Ver cuadro 2).

PIGMENTOS CAROTENOIDES EN INTESTINO

Las aves fueron mantenidas con alimento sin pigmento carotenoide en la dieta hasta el día 21. En duodeno se observó un incremento gradual en la concentración de carotenoides en mucosa, a medida que se incrementó el consumo de pigmento. El coeficiente de correlación (r) observado en esta sección de intestino fue de 0.65, considerando todas las observaciones desde 40 hasta 200 minutos post inicio del consumo de alimento con pigmento (PICAP). Al minuto 200, sin embargo, la concentración promedio disminuyó (Ver cuadro 3) respecto al minuto 160. En yeyuno se observó un incremento gradual similar al observado en duodeno, aunque el incremento fue constante aun 220 minutos PIC. El coeficiente de correlación observado en esta sección de intestino fue de 0.81. En ileon, el comportamiento de concentración fue similar al observado en duodeno y yeyuno, aunque la concentración máxima se alcanzó 200 minutos PICAP, y esta fue considerablemente más alta que la concentración observada al minuto 160 (566.64 $\mu\text{g/g}$). La relación entre tiempo y concentración de carotenoides a este nivel de intestino fue también lineal ($r=0.8$). Los carotenoides en yeyuno mostraron una ligera tendencia de mayor concentración que en ileon y duodeno, aunque no

se realizó una comparación estadística (ver figura 1). En heces, se observó una concentración muy alta (1.3 mg/g) después de 40 minutos del inicio del consumo de alimento con pigmento, la cual es aun mayor a los 80 minutos, y posteriormente toma una tendencia decreciente. Las concentraciones observadas en heces fueron muy altas respecto a lo observado en la mucosa intestinal, aunque se observó una correlación lineal negativa entre tiempo y niveles de carotenoides ($r=-0.78$).

En plasma, la concentración de carotenoides fue incrementándose a medida que el ave incrementó el consumo de alimento, por lo que se pudo observar una correlación positiva alta ($r=0.95$) (Ver cuadro 4). Sin embargo, la variabilidad observada fue muy amplia, dado que en los intervalos de confianza para los 40 y 80 minutos después de iniciado el consumo de pigmento, los límites inferiores y superiores (LI y LS) fueron de 0.039-0.676 $\mu\text{g/ml}$ para los 40 minutos, y 0.043-0.662 $\mu\text{g/ml}$ a los 80 minutos. De hecho, tanto los límites de confianza como las medias se encuentran muy cercanas a los 40 y 80 minutos PICAP. Se observó una diferencia considerable en los valores de concentración de carotenoides en intestino y en plasma, desde 50 $\mu\text{g/g}$ en duodeno a los 40 minutos PICAP hasta 0.358 $\mu\text{g/ml}$ en plasma en el mismo tiempo de muestreo.

En cuanto al amarillamiento cutáneo, el puntaje promedio fue de 2.459 (Ver cuadro 5), con límites inferior y superior cercanos a la media (2.02-2.89).

Para la cuarta semana (cuadro 3), en duodeno se observó un incremento lineal en la concentración de carotenoides hasta el minuto 160 PICAP, dado que el valor promedio declinó al minuto 200. No obstante, se observó una relación lineal ($r=0.86$). En yeyuno, las concentraciones no se incrementaron de manera constante. El valor máximo se alcanzó a los 160 minutos, y 200 minutos PICAP hubo un decremento en la concentración promedio. La relación lineal fue de 0.5. En ileon se observó un incremento paulatino a medida que el ave incrementó su consumo, de la misma manera que en yeyuno e ileon, hasta 160 minutos PICAP, y al minuto 200 la concentración declinó. El coeficiente de correlación fue de 0.79. En heces no se observó una tendencia clara, aunque el coeficiente de correlación (-0.48) fue negativo. Se observó un ligero incremento en los niveles de

carotenoides en mucosa intestinal respecto a las observaciones de la semana anterior, aunque no se realizó una comparación estadística. Asimismo, las concentraciones encontradas en yeyuno e ileon mostraron una tendencia mas alta que la observada en duodeno (figura 2).

En plasma, las concentraciones de pigmentos carotenoides fueron considerablemente mayores que las obtenidas a la tercera semana, y alcanzaron hasta 14.71 $\mu\text{g/ml}$. La variabilidad observada se redujo con respecto a los resultados de la semana 3. Sin embargo, el coeficiente de correlación fue 0.31, y no se observo un patrón constante a medida que se incremento el tiempo de consumo de pigmento. El amarillamiento cutáneo se incrementó hasta 10.2198 promedio (cuadro 5).

En la quinta semana, se observo un incremento en las concentraciones de carotenoides en los tres segmentos de intestino respecto a la cuarta semana (figura 3), sin embargo, los coeficientes de correlación mostraron una reducción en la relación lineal tiempo-concentración. En duodeno no se observó un patrón constante de incremento o reducción a medida que se incremento el tiempo PICAP. El menor valor de concentración en duodeno fue observado a los 40 minutos PICAP. En yeyuno, hubo una ligera tendencia de incremento a medida que aumento el tiempo PICAP, y el coeficiente de correlación fue mayor (0.59). En ileon, a diferencia de lo observado en la semana 3 y 4, se observó una tendencia decreciente en los valores de concentración a medida que las aves consumieron mayor cantidad de alimento con pigmento. El coeficiente de correlación fue negativo (-0.69). En las heces, se observó una tendencia decreciente ($r=-0.76$) similar a la observada en la tercera semana, aunque las concentraciones de carotenoides extraídos fueron menores. En plasma, los valores de carotenoides alcanzaron hasta 23.071 $\mu\text{g/ml}$ a los 200 minutos PICAP. Se observó una ligera tendencia creciente a medida que las aves tuvieron mayor tiempo PICP ($r=0.64$) aunque también se observó una mayor amplitud en los intervalos de confianza (hasta 9 $\mu\text{g/ml}$ a los 80 minutos PICAP). El amarillamiento cutáneo mostró un ligero incremento respecto a los valores obtenidos a la cuarta semana (13.4 promedio).

En la sexta semana, se observó un ligero incremento en la concentración de carotenoides en mucosa respecto a la semana 5, aunque no hubo una tendencia clara de comportamiento a lo largo de los intervalos de muestreo (figura 4). En duodeno, la correlación fue muy baja ($r=0.33$) mientras que en yeyuno ésta fue negativa ($r=-0.49$). Los valores de concentración mas altos se observaron en ileon, aunque la correlación fue muy baja ($r=0.21$). En heces, el patrón observado fue similar al de las semanas anteriores, aunque con una correlación menor que en la semana 5 ($r=-0.58$). En plasma, las concentraciones de pigmento fueron similares a las observadas en la semana 5, pero prácticamente no existió correlación entre tiempo y concentración, a diferencia de la semana 5. Los limites de confianza mantuvieron una magnitud similar (hasta 9 $\mu\text{g/ml}$ después de 160 minutos PICAP) a la observado en la semana 5. Sin embargo, el amarillamiento cutáneo tuvo solo un ligero incremento respecto a la semana 5 (15.58).

Para la séptima semana se encontró un incremento lineal en la concentración de carotenoides en duodeno hasta 160 minutos después del inicio del consumo de alimento ($r=0.82$). En yeyuno, no se encontró asociación entre tiempo y concentración de carotenoides ($r=0.15$), aunque los niveles de pigmentos fueron mayores que los de duodeno. En ileon, la concentración de pigmentos observada fue ligeramente mayor que en yeyuno, y la correlación entre tiempo y nivel de pigmentos fue ligeramente mayor ($r=0.5$). No se observó un patrón claro de cambios en la concentración de carotenoides en heces ($r=-0.29$) aunque si fue notoria una ligera reducción en los valores de concentración con respecto a la semana 6. En plasma se registró una ligera reducción en la concentración de carotenoides en los diferentes tiempos de muestreo respecto a la semana 6, aunque tampoco se observó un patrón similar al observado en la semana 3 o 4 ($r=0.19$). La variabilidad de las observaciones fue menor en cuanto a que la amplitud de los intervalos de confianza se redujo respecto a las observaciones de la semana 6 (6 $\mu\text{g/ml}$).

El amarillamiento cutáneo a la séptima semana mostró un valor promedio de 20.44 puntos, siendo los limites del intervalo de confianza de 18.73 y 22.14 (inferior y superior, respectivamente).

DISCUSIÓN

ABSORCIÓN DEL PIGMENTO.

En la tercera semana, dado que las aves no habían ingerido pigmentos carotenoides, el incremento en la concentración de los mismos en intestino, heces y plasma es consistente con el incremento en el consumo de los mismos, dado que a medida que las aves tuvieron mayor tiempo de consumo, las concentraciones de carotenoides se incrementaron en forma lineal.

Grimminger²² y Scott *et al*⁴, entre otros, han descrito el proceso de digestión de los lípidos, y siendo los pigmentos carotenoides compuestos de naturaleza lipídica, su digestión, absorción y transporte se espera que ocurra de forma similar a los otros lípidos dietarios. De acuerdo con dicha descripción, los ductos pancreático y biliar se incorporan al intestino delgado en la porción distal del duodeno, a diferencia de los mamíferos, por lo que la digestión lipídica ocurre en un segmento más distal. Para que ello ocurra se requiere la presencia de la lipasa pancreática, además de la acción de las sales biliares para emulsificar los lípidos, por lo que una vez que éstos llegan a duodeno, se estimula la excreción de bilis, y con la secreción de lipasa por parte del páncreas, se logra que lípidos complejos se degraden a diglicéridos, monoglicéridos y ácidos grasos libres. Éstos últimos atraviesan la membrana celular de los enterocitos, lo cual también ocurre con los pigmentos carotenoides. De acuerdo con Tyczkowski²³ los carotenoides se absorben por un mecanismo de transporte pasivo mediante un gradiente de concentración. El principal carotenoide implicado en la pigmentación del pollo de engorda a nivel de piel es la luteína, la cual sufre modificaciones químicas en el medio intestinal para poder ser absorbida, cuando la forma suministrada en el alimento es esterificada, y la absorción ocurre como luteína libre. Una vez absorbida, la forma libre representa el 96 % y el monoéster de luteína representa el 4 %^{1, 11, 23}. Al llegar a hígado, la luteína sufre modificaciones químicas a luteína diéster y monoéster, pero siguiendo una proporción de aproximadamente 90 % luteína libre, 10 % monoéster y cantidades insignificantes de luteína diéster²⁵. Posteriormente, en plasma sanguíneo, la luteína es transportada por las

Lipoproteínas de Baja Densidad (LBD) hacia el tejido adiposo³ y el integumento.

En este sitio, primordialmente se encuentra la forma química de diéster de luteína, lo cual implica una transformación enzimática a nivel de integumento^{11, 23}. De acuerdo con los resultados obtenidos, en la tercera semana hasta 120 minutos posteriores al inicio del consumo de alimento con pigmento, se observó una mayor concentración de pigmentos en yeyuno, aunque después de 120 minutos, la concentración observada en ileon fue mayor que en yeyuno. Esto pudo ser debido al paso del alimento digerido de yeyuno a ileon y posiblemente también a que las aves redujeron su consumo de alimento hacia el final del muestro (200 minutos).

En duodeno se observó comparativamente la menor concentración de carotenoides, lo cual coincide con lo mencionado por Tyczkowski²³ y Pérez²⁴, que además es consistente con la fisiología normal de la digestión lipídica. En cuanto a los valores de carotenoides encontrados en las heces, y debido a que el alimento de las aves fue retirado por aproximadamente 12 hr, es posible que los pigmentos biliares hayan afectado las concentraciones de carotenoides en heces.

La técnica utilizada por Allen²¹ para la extracción de carotenoides a partir de intestino fue adaptada para heces, aunque no se realizó un control negativo para pigmentos biliares. Pérez²³ menciona que los carotenoides de flor de cempasúchitl (zeaxantina y luteína) poseen una longitud de onda entre 450 y 455 nm, mientras que Araki²⁵ midió diferentes sales biliares dentro de un rango de 340 y 430 nm de longitud de onda. La metodología de Allen²¹ utilizó 478 nm de longitud de onda, por lo que es posible a la longitud de onda utilizada es posible que algunas sales biliares conjugadas hayan sido absorbidas con el método de extracción de carotenoides utilizado. No obstante, en los resultados aquí obtenidos se observó una clara correlación negativa en los valores de carotenoides en heces, que fue disminuyendo a medida que las concentraciones se incrementaron en intestino. Este hallazgo puede ser un indicativo de que los pigmentos carotenoides son pobremente absorbidos en los primeros minutos después que las aves han iniciado su ingestión vía oral. Si esto fuese correcto, es factible que las excretas presentarían una coloración más amarilla, dado que gran cantidad de pigmento es eliminada a través de las heces. No obstante, éste fenómeno no fue

observado en las aves experimentales. En situaciones de campo, sin embargo, cuando se realiza una evaluación visual de las excretas, éste pigmento no es percibido a menos que exista una alteración a nivel entérico. En evaluaciones sobre el tipo y clasificación de las excretas de ave ²⁶ se ha puesto atención en el color de las mismas, pero el color que aportaría el pigmento no absorbido bajo condiciones normales es un aspecto que no ha sido considerado. Tal evaluación no fue parte de los objetivos de este estudio, y es factible también que los pigmentos biliares afectaran los valores de las observaciones. Por otra parte es probable que, dado que las aves tuvieron un ayuno de 12 horas, en el momento en que se suministró nuevamente alimento, su consumo inicial fue tan acelerado que gran parte del alimento no pudo ser utilizado en los primeros minutos, particularmente en lo que respecta al pigmento. Sin embargo, no se midió el consumo de alimento después de cada intervalo de muestreo, on lo que no se pudo confirmar ésta posibilidad.

El pigmento plasmático tuvo una correlación fuertemente positiva, aunque la variabilidad de las observaciones fue muy grande. Posiblemente, las diferencias individuales en cuanto a los mecanismos involucrados en el proceso de absorción hayan sido los responsables de tal variabilidad, especialmente cuando las aves no habían consumido éste tipo de compuestos con anterioridad. Sin embargo, las concentraciones en intestino fueron mucho mayores que en el plasma a los mismos intervalos de muestreo, pero aun después de 200 minutos el incremento de los niveles en plasma no corresponde al observado en intestino. El hígado es un reservorio de muchos compuestos especialmente después de la digestión del alimento ingerido ²², y de la misma forma, los pigmentos carotenoides sufren modificaciones químicas después de su paso por éste órgano ^{23, 24} por lo que es posible que la mayor parte de los pigmentos ingeridos después de 200 minutos permaneciera en el hígado. En el presente estudio, esto no se determinó de manera exacta, pero al parecer el proceso de digestión sobrepasa el de absorción, y esto podría coincidir con lo observado en las heces.

Para la cuarta semana, el patrón de absorción a diferentes tiempos fue similar al observado en la semana 3, aunque esta vez las concentraciones en los

tres segmentos de intestino fueron ligeramente mayores, lo cual es un cambio esperado dado que las aves consumieron alimento con pigmento durante 7 días más. Sin embargo, llama la atención que en las heces las concentraciones obtenidas se redujeron drásticamente respecto a la semana 3, y no coinciden con el patrón observado en el intestino. Es factible que el proceso de absorción se haya estabilizado a un punto en que es un proceso más eficiente, lo cual se confirma a la quinta semana. Al parecer, la absorción en los tres niveles de intestino se incrementó en cuanto a la cantidad de carotenoides extraídos, dado que aparentemente a la sexta semana se alcanzó el punto máximo de absorción.

Aunado a esta observación para la sexta semana las concentraciones observadas en ileon rebasaron las observadas en yeyuno, aunque no de manera consistente, y en la séptima semana, las concentraciones disminuyeron en ileon y duodeno. No obstante, sin importar la semana de muestreo, se observó una mayor concentración en la mucosa de yeyuno e ileon, implicando que la mayor absorción ocurrió en estos dos niveles del intestino. La luteína libre es el mayor componente del producto utilizado en el presente experimento (mínimo 90 %) y en segundo lugar la zeaxantina. La metodología de extracción utilizada aquí es para carotenoides en general, lo que incluye tanto luteína como zeaxantina y otras xantofilas amarillas en menor proporción, por lo que se espera que la mayor parte de los carotenoides extraídos de la mucosa intestinal y plasma corresponde a luteína. Tyczkowski y Hamilton²³ y Pérez *et al*²⁴ mencionaron que la mayor absorción de luteína ocurría en duodeno y yeyuno, lo cual no coincide con los resultados obtenidos en esta investigación. Sin embargo, el estudio de Tyczkowski fue desarrollado solo por 3 semanas y en aves más jóvenes. Asimismo, Tyczkowski y Hamilton²³ informaron que el sistema de absorción del pigmento a nivel de intestino no es saturable, aunque en su estudio sólo realizaron una medición después de tres semanas de alimentar al pollo con pigmentos carotenoides. En el presente estudio, con mediciones semanales, los resultados parecen indicar que la tasa de absorción alcanza un punto máximo, el cual pareció ser la sexta semana. El comportamiento de los carotenoides en intestino se confirma con lo observado en plasma también a la sexta semana. Breithaup *et al*

²⁷ midieron la concentración de carotenoides en plasma de aves Leghorn alimentadas con un alimento suplementado con luteína libre y esterificada, además de capsaxantina, durante dos semanas, y no encontraron diferencia significativa entre las concentraciones plasmáticas después de la primera semana.

En las aves experimentales utilizadas en el presente estudio, los valores plasmáticos no parecieron incrementarse después de la semana 5. De acuerdo a las condiciones en que se llevo a cabo el presente trabajo, uno de los hallazgos encontrados fue que las aves que consumieron pigmento en el alimento en forma constante, la concentración de carotenoides en plasma se mantuvo constante de la semana 5 a la 6, aun a pesar que las aves tuvieron un ayuno de 12 horas mínimo, e iniciaron nuevamente su consumo normal de alimento con pigmento, y a la semana 7 la concentración de carotenoides en plasma se redujo ligeramente.

No fue posible determinar que tanto incremento de carotenoides en plasma existió mas allá de 200 minutos de ingerir el pigmento, pero al parecer las doce horas de ayuno no tuvieron influencia en las concentraciones de la semana 5 a la 6, dado que las magnitudes de concentración fueron muy similares. Dado que no se realizó un muestreo en pollos sin ayuno, no se determinó cual fue la concentración de pigmento en pollos normales sin ayuno, pero existe la posibilidad de que dicha concentración haya sido mayor que la que se observó entre 40 y 200 minutos después del reinicio del consumo de alimento con pigmento. Es también posible que un incremento en las concentraciones de carotenoides en plasma no sea detectado entre 40 y 200 minutos, dado que el metabolismo que sufren los carotenoides en hígado sobrepasa el tiempo de muestreo aquí utilizado. Esta es una posibilidad después de la quinta semana, dado que a la tercera semana si se detectaron cambios en las concentraciones de carotenoides plasmáticos y hubo una correlación positiva, que incluso también se observó a la semana 5 ($r=0.67$). Sin embargo, al menos a partir de la semana 5, no parece haber un incremento en las concentraciones de carotenoides plasmáticos independientemente del ayuno.

Es probable que el sistema de transporte plasmático llegue a un punto de saturación en el que sin importar cuanto pigmento ingiera el ave, no aumenta su asimilación, y por consecuencia su transporte en el plasma y su deposición en el

tegumento no se incrementaría. De ser así, este fenómeno podría estar relacionado con la alta concentración de carotenoides encontrada en heces. Sin embargo, el amarillamiento cutáneo obtenido con la concentración de carotenoides en el alimento que las aves consumieron, probablemente la dieta tuvo un exceso de pigmentos carotenoides (80 ppm). Este es un fenómeno interesante, ya que en dietas prácticas las concentraciones empleadas pueden ser tan bajas como 60 ppm, dosis a la cual el sistema de absorción, transporte y deposición tendría un punto de saturación pero sería suficiente para alcanzar un amarillamiento cutáneo aceptable para las condiciones de mercado, y por consecuencia los carotenoides no serían eliminados en tal cantidad en las heces y serían mejor aprovechados.

Este fenómeno nos indica que una alteración en intestino, como por coccidia ^{17, 25}, no se reflejará de inmediato ni en plasma ni en piel, por lo que si un problema se detecta con prontitud a nivel intestinal, es factible corregirlo antes de que se refleje en la pigmentación cutánea. La medición del pigmento sérico podría ser una herramienta de utilidad para determinar si existe una absorción adecuada. Tyczkowski *et al* ²⁸ utilizaron esta técnica para evaluar la absorción de carotenoides en pollos con un problema de síndrome de pollo pálido, encontrando resultados favorables aunque en pollos alimentados con cantaxantina.

AMARILLAMIENTO CUTÁNEO.

El incremento gradual en el amarillamiento fue menor al esperado en condiciones comerciales bajo programas de alimentación similares a lo largo del experimento. El incremento obtenido en el amarillamiento de la quinta a la sexta semana fue menor al esperado. Evidentemente, el amarillamiento cutáneo a la quinta semana es el reflejo de lo que ocurrió con el ave la semana anterior, por lo que las concentraciones en intestino y plasma en la semana 4 pueden ayudar a explicar éste hallazgo, particularmente en intestino, dado que las concentraciones fueron similares a las obtenidas en la tercera semana. Sin embargo, el plasma si reflejó una absorción gradualmente creciente en la cuarta semana, por lo que es probable que algún mecanismo involucrado en la deposición cutánea pudo haber

causado la baja deposición. Aun cuando en el presente estudio no se midió la concentración de carotenoides en piel, el amarillamiento cutáneo es reflejo de éste proceso. Posiblemente, alguna enzima encargada de la reesterificación de luteína pudo haber estado afectada. No obstante, el determinar cual fue la causa de esta baja pigmentación rebasó los objetivos del presente estudio.

Las concentraciones de pigmento en el alimento pueden disminuir hasta 60 ppm, e iniciar su consumo desde la cuarta semana de vida del pollo ^{2, 3, 7}, y con esto se alcanzarían valores de amarillamiento superiores a 20 (hasta 27) en pollo vivo a los 49 días. En éste trabajo se midió amarillamiento cutáneo desde 20 a 48 días, con aves consumiendo 80 ppm de xantófilas. Con éste valor de pigmento en el alimento se esperaría mayor amarillamiento cutáneo al final del ciclo, sin embargo, las aves fueron mantenidas sin luz natural durante todo el estudio. Janky *et al* ²⁹ informaron acerca de las diferencias entre el amarillamiento cutáneo en pollos criados con acceso a luz solar y sin ella, encontrándose diferencias a favor de los primeros. Es posible que éste fenómeno haya afectado los resultados aquí obtenidos. Dado que el consumo de alimento y el peso corporal no fueron distintos de los parámetros observados para la zona de Valle de México, además que las aves no mostraron signos clínicos de enfermedad, y los conteos de coccidia no resultaron significativamente altos, otros factores debieron estar afectando negativamente en el grado de amarillamiento cutáneo.

Estudios de absorción, transporte y deposición de carotenoides se han realizado previamente ^{9, 11, 23} con la medición de carotenoides específicos y sus metabolitos mediante HPLC. Sin embargo, el análisis de los carotenoides a diferentes niveles del intestino, después de pocas horas del inicio del consumo del pigmento, y para estudiar en forma semanal el incremento de la pigmentación, no habían sido considerados anteriormente. Dada la metodología utilizada aquí, se encontró una amplia variabilidad en ciertas etapas del experimento, sin embargo el estudio aporta resultados interesantes para la realización de otro tipo de investigaciones relacionados con factores que afectan la pigmentación cutánea, como por la infección con alguna especie de coccidia ³⁰. Es necesario, sin embargo, recalcar que varios detalles deben ser corroborados y corregidos, tales

como la participación del contenido de pigmentos biliares en la medición de carotenoides en heces. El tiempo de depleción de carotenoides cutáneos sería de gran utilidad la determinación del tiempo requerido, para que la pigmentación cutánea se reduzca una vez que se inició una suspensión en la absorción del pigmento en el intestino, ya que con los resultados obtenidos en el presente trabajo no se pudo llegar a tal conclusión, dado que, según lo observado, dicha alteración debe ocurrir en un tiempo mayor a las 12 horas en que las aves fueron sometidas a ayuno. Esto ayudaría grandemente a explicar los problemas de mala pigmentación a nivel de campo.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos bajo las condiciones del presente estudio, los mayores sitios de absorción de pigmentos carotenoides derivados de flor de cempasúchitl fueron yeyuno e ileon, en contraste con lo establecido en las hipótesis respecto a la mayor absorción en duodeno y yeyuno.

La concentración de carotenoides en plasma se mantuvo constante de la semana 5 a la 6, en aves que recibieron un ayuno de 12 horas.

Es probable que el sistema de transporte plasmático tenga un punto de saturación que llegue a afectar la deposición a nivel cutánea, o bien, que el proceso metabólico que sufren los carotenoides en hígado sobrepasa 200 minutos (3 horas y 20 minutos) a partir de la quinta semana de edad del pollo.

LITERATURA CONSULTADA

- (1) Vicente SJ. Aspectos básicos sobre la pigmentación en la Industria Avícola. Memorias del Diplomado en Producción Avícola; 2000 febrero-marzo; México (DF): Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 2000:145-149.
- (2) Piraces SF, Cortés R. Factores que afectan la pigmentación del pollo de carne. X Ciclo de conferencias internacionales sobre avicultura. AMENA 1991; 103-125.
- (3) Fernández S. Pigmentación en avicultura. Memorias de Diplomado en Producción Avícola; 2000 febrero-marzo; México (DF): Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 2000:151-171.
- (4) Scott ML, Nesheim MC and Young RJ. Nutrition of the chicken. 3rd ed., New York USA:ML Scott & Associates, 1982.
- (5) Leeson S and Summers JD. Commercial poultry nutrition. 2nd ed., Guelph, Canada:University Books, 1997.
- (6) Ávila GE. Pigmentantes. En: Avila GE, Shimada AS, Llamas G, editores. Anabólicos y aditivos en la producción pecuaria.
- (7) Tirado FJ. Pigmentos y pigmentación. X Ciclo de conferencias internacionales sobre avicultura. AMENA 1991;181-187.
- (8) Quart MD, Bell DE, Janky DM, Dukes MG and Marion JE. Influence of source and physical form of xanthophylls pigment on broiler pigmentation and performance. Poultry Science 1988;67;544-548.
- (9) Herrick GM. Repletion and depletion of pigmentation in broiler skin and shank. Poultry Science 1971;1467-1475.
- (10) Schaeffer JL and Hamilton PB. Effect of dietary lipids on lutein metabolism during aflatoxicosis in young broiler chickens. Poultry Science 1990;69;53-59.
- (11) Tyczkowski JK and Hamilton PB. Lutein as a model dihydroxycarotenoid for the study of pigmentation in chickens. Poultry Science 1986;65;1141-1145.
- (12) Osborne DJ, Huff WE, Hamilton PB and Burmeister HR. Comparison of ochratoxin, aflatoxin and T-2 toxin for their effects on selected parameters

- related to digestion and evidence for specific metabolism of carotenoids in chickens. Poultry Science 1982;61:1646-1652.
- (13) Harms RH, Fry JL and McPherson BN. Evidence of differences in pigmentation among strains and crosses of broilers. Poultry Science 1977;56:86-90.
- (14) Fletcher DL. Methodology for achieving pigment specifications. Poultry Science 1992;71:733-743.
- (15) Hamilton PB. The use of High Performance Liquid Chromatography for studying pigmentation. Poultry Science 1992;71:718-724.
- (16) Janky DM. The use of the Minolta Reflectance Chromameter II™. For pigmentation evaluation of broiler shanks. Poultry Science 1986;65:491-496.
- (17) Ogbuokiri UD, Edgar SA Effect of mild infections with six species of *Eimeria* on skin pigmentation of broiler chickens. Poultry Science 1986;65:1816-1818.
- (18) NRC. Nutrient Requirements of poultry. Academic Press, 1994.
- (19) Blas C, Mateos GG. Nutrición y alimentación de las gallinas ponedoras. España: Aedos, 1991.
- (20) North M O y Bell D D: Manual de producción avícola. Tercera edición, México D.F. Editorial el manual moderno 1993.
- (21) Allen PC. Physiological responses of chicken gut tissue to coccidial infection: comparative effects of *Eimeria acervulina* and *Eimeria mitis* on mucosal mass, carotenoid content, and brush border enzyme activity. Poultry Science 1987;66:1306-1315.
- (22) Griminger P. Lipid metabolism. In: Sturkie PD. Avian physiology. 4th ed, New York, USA:Springer-Verlag, 1986. Pp. 345-358.
- (23) Tyczkowski JK and Hamilton PB. Absorption, transport and deposition in chickens of lutein diester, a carotenoid extracted from marigold (*Tagetes erecta*) petals. Poultry Science 1986;65:1526-1531.
- (24) Pérez-Vendrell A.M., Hernández J.M., Llaurodo L., Schierle J. and Brufau J. Influence of source and ratio of xantophylli pigments on broiler chicken pigmentation and performance. Poultry Science 2001;80:320-326.

- (25) Araki Y., Andoh A, Bamba H., Yoshikawa K., Doi H., Komai Y., Higuchi A and Fujiyama Y. The cytotoxicity of hydrophobic bile acids is ameliorated by more hydrophilic bile acids in intestinal cell lines IEC-6 and Caco-2. *Oncology reports* 2003;10:1931-1936.
- (26) López CC, Arce MJ y Avila GE. Metodología para evaluar excretas de pollo. *Memorias de la XXVII Convención Anual ANECA, Puerto Vallarta, México, 2002, Mayo 1-4. P. 206-208.*
- (27) Breithaup D.E., Weller P. and Grashorn M.A. Quantification of carotenoids in chicken plasma after feeding free or esterified lutein and capsanthin using high performance liquid chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry analysis. *Poultry Science* 2003;82:395-401.
- (28) Tyczkowski JK, Schaefer J.L. and Hamilton P.B. Measurement of malabsorption of carotenoids in chickens with pale-bird syndrome. *Poultry Science* 1991;70:2275-2279.
- (29) Janky DM, Fletcher DL, Voitle RA and Harms RH. The influence of the light transmission properties of plastic windows covering on broiler pigmentation. *Poultry Science* 1980;59:1350-1352.
- (30) Juárez RM. Efecto de varios agentes sobre la pigmentación cutánea en pollos de engorda. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., 2002.

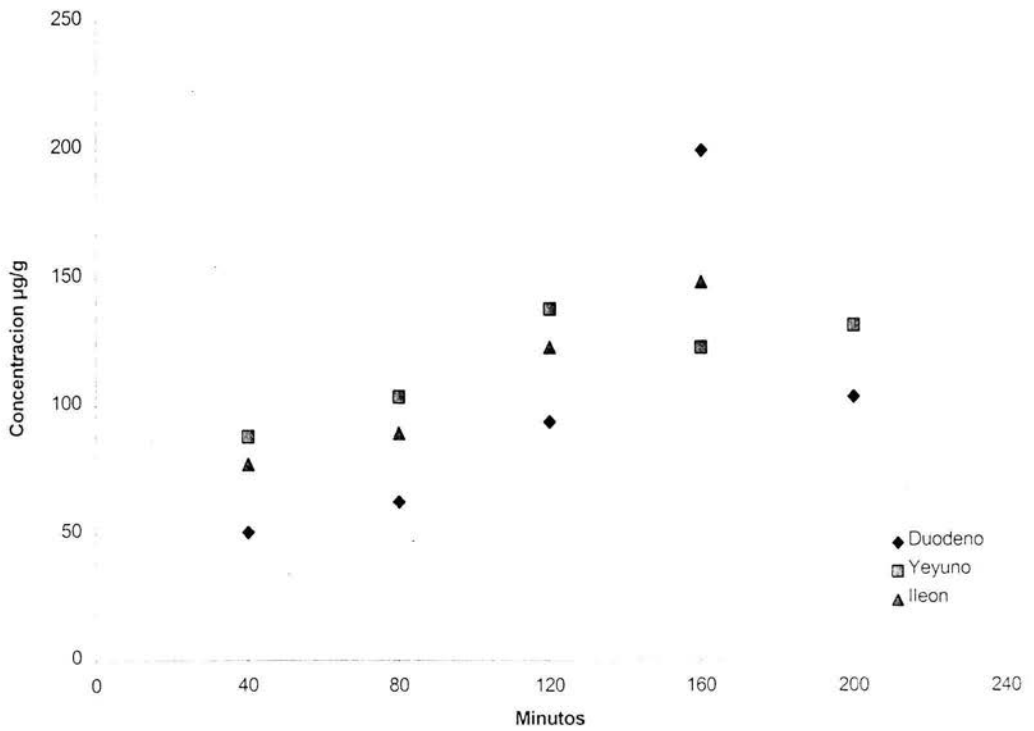


Figura 1. Concentración de pigmentos carotenoides en duodeno, yeyuno e ileon de pollos de engorda a la tercera semana de edad después de 40, 80, 120, 160 y 200 minutos del inicio del consumo de alimento con 80 ppm de xantófilas amarillas

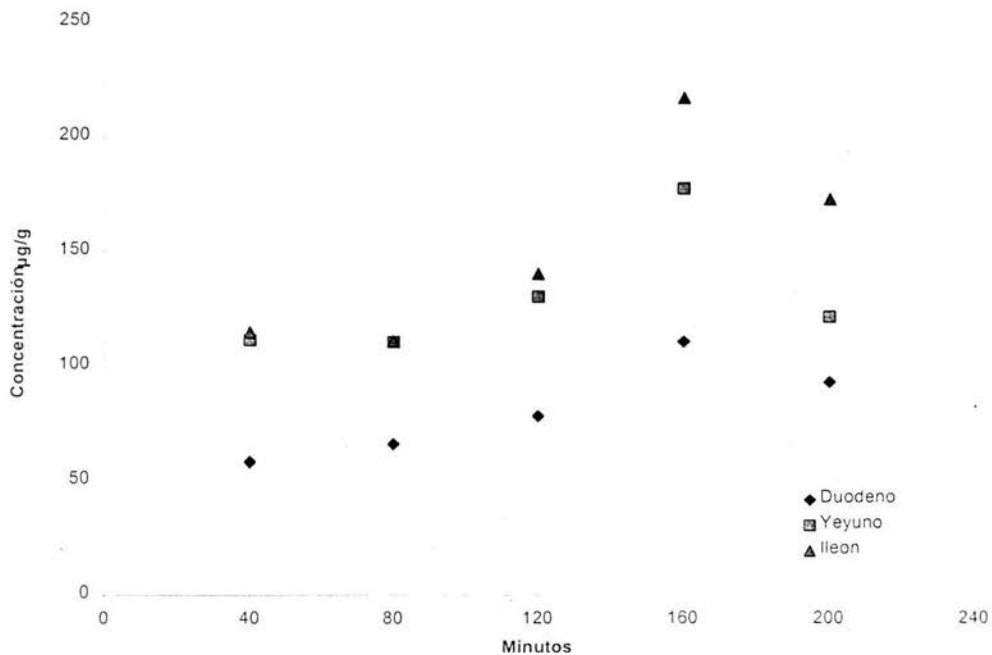


Figura 2. Concentración de pigmentos carotenoides en duodeno, yeyuno e ileon de pollos de engorda a la cuarta semana de edad después de 40, 80, 120, 160 y 200 minutos del inicio del consumo de alimento con 80 ppm de xantófilas amarillas

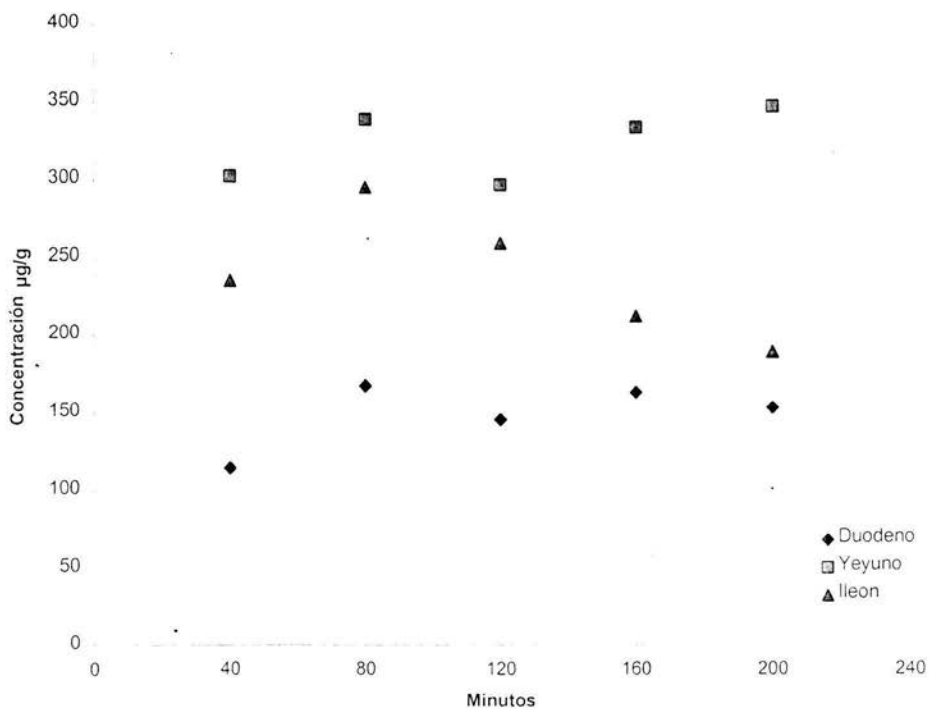


Figura 3. Concentración de pigmentos carotenoides en duodeno, yeyuno e ileon de pollos de engorda a la quinta semana de edad después de 40, 80, 120, 160 y 200 minutos del inicio del consumo de alimento con 80 ppm de xantófilas amarillas

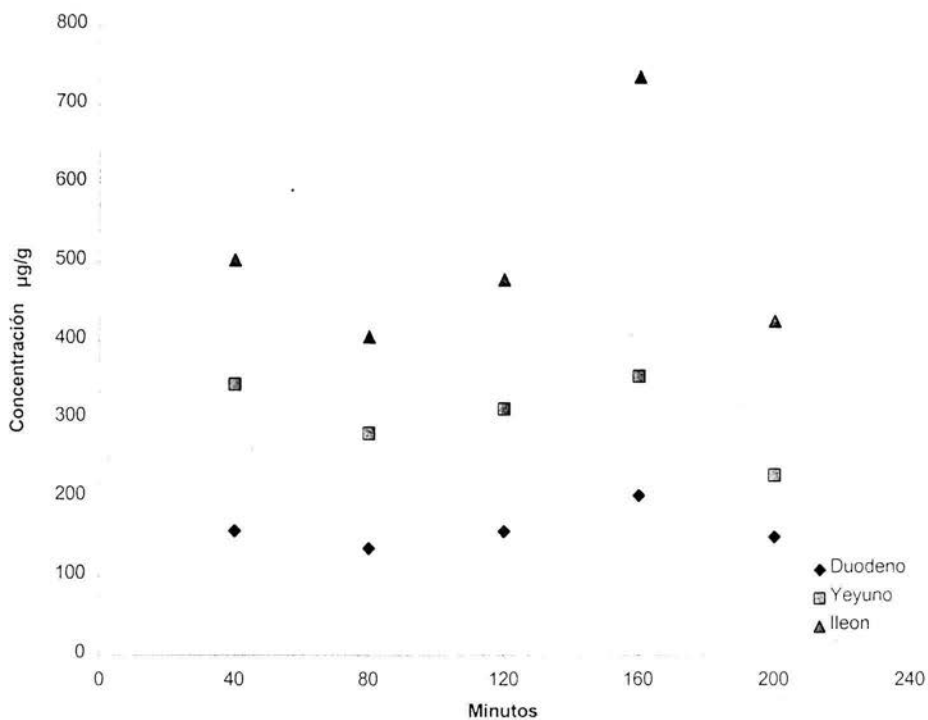


Figura 4. Concentración de pigmentos carotenoides en duodeno, yeyuno e ileon de pollos de engorda a la sexta semana de edad después de 40, 80, 120, 160 y 200 minutos del inicio del consumo de alimento con 80 ppm de xantófilas amarillas.

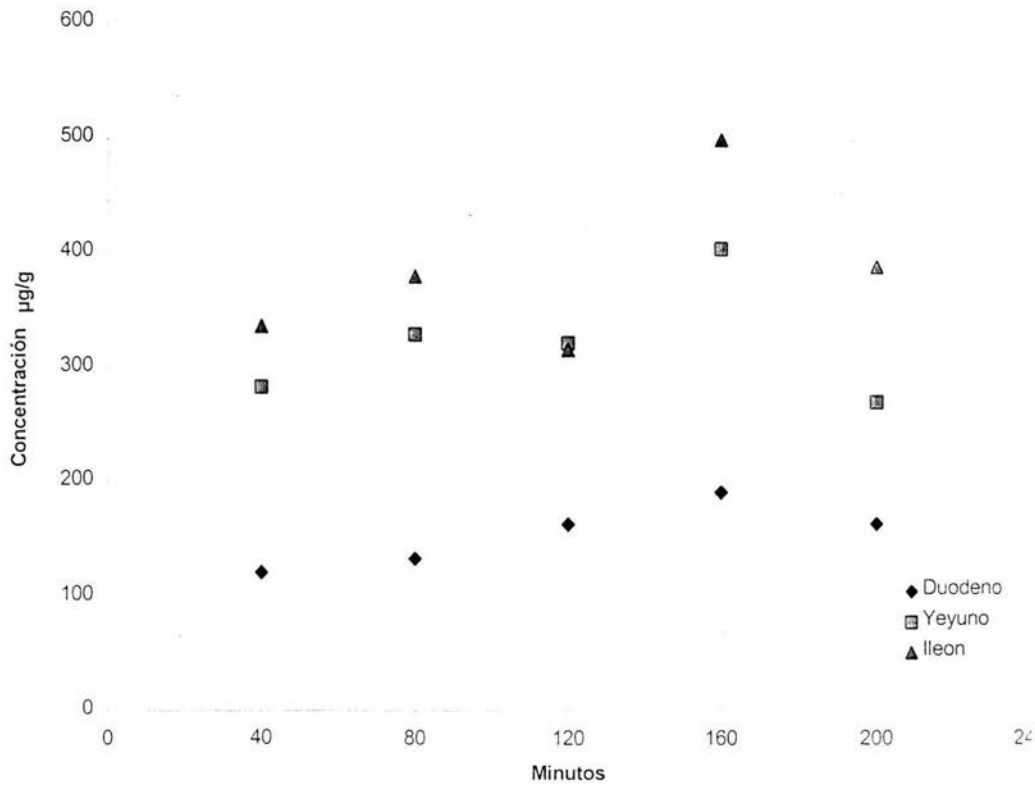


Figura 5. Concentración de pigmentos carotenoides en duodeno, yeyuno e ileon de pollos de engorda a la séptima semana de edad después de 40, 80, 120, 160 y 200 minutos del inicio del consumo de alimento con 80 ppm de xantófilas amarillas.

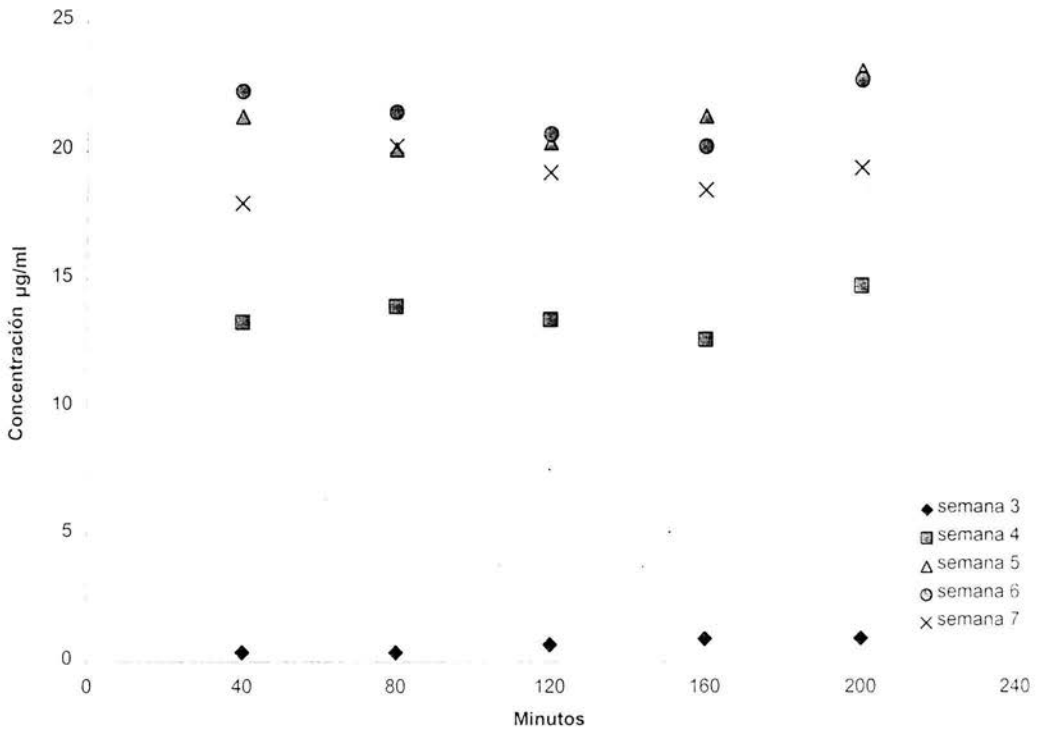
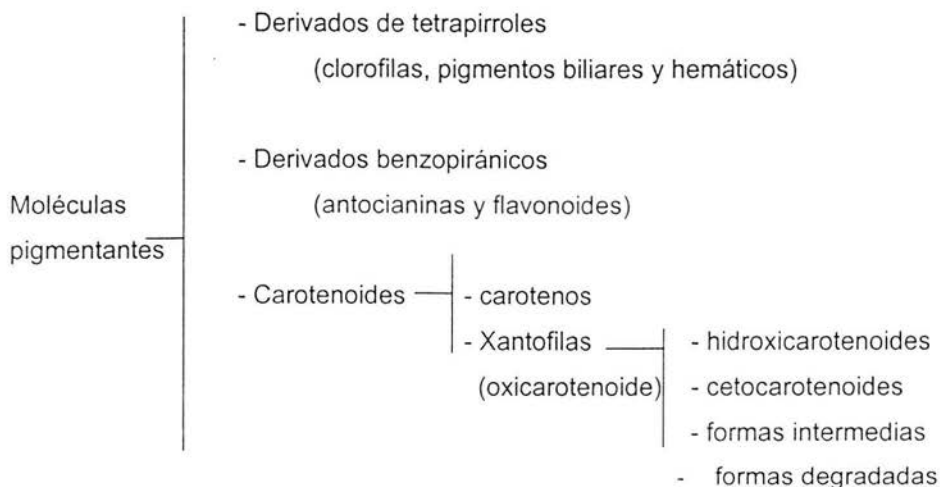


Figura 6. Concentración de pigmentos carotenoides en plasma de pollos de engorda a la semana 3, 4, 5, 6 y 7 de edad después de 40, 80, 120, 160 y 200 minutos del inicio del consumo de alimento con 80 ppm de xantófilas amarillas.



CUADRO 1. CLASIFICACIÓN DE LAS MOLÉCULAS PIGMENTANTES
Modificado de Ávila *et al* ⁶

Semana	Peso (kg)	Consumo acumulado (Kg)	Indice de Conversión
3	575.92 ± 29.52	0.747	1.29
4	979.80 ± 26.82	1.468	1.49
5	1458.38 ± 137.43	2.405	1.64
6	1972.25 ± 176.78	3.549	1.79
7	2403.46 ± 319.37	4.975	2.07

Media ± Desviación estándar

CUADRO 2. VALORES DE PESO CORPORAL PROMEDIO, CONSUMO DE ALIMENTO Y CONVERSIÓN ALIMENTICIA DE LAS AVES EXPERIMENTALES

CUADRO 3. Valores promedio de la concentración de pigmentos carotenoides en duodeno, yeyuno, ileon y heces ($\mu\text{g/g}$) de los pollos de engorda experimentales obtenidos a partir de la 3a. semana de edad a los 40, 80, 120, 160 y 200 minutos de iniciado el consumo de alimento con 80 ppm de xantófilas amarillas provenientes de flor de cempasúchitl.

	Minutos	Duodeno	Yeyuno	Ileon	Heces
3a. Semana	40	50.372	87.827	77.046	1393.067
	80	62.288	103.251	89.252	2354.673
	120	93.682	137.768	122.813	693.561
	160	199.417	122.625	148.283	476.837
	200	103.387	131.340	566.643	207.544
	r	0.65	0.81	0.80	-0.78
4a. Semana	40	58.152	111.365	114.814	202.076
	80	65.997	110.499	111.042	439.182
	120	77.938	130.360	140.316	129.533
	160	110.665	177.180	216.684	191.471
	200	92.880	121.519	172.705	133.371
	r	0.86	0.50	0.79	-0.48
5a. Semana	40	114.363	301.710	234.871	425.940
	80	166.991	338.279	294.550	535.920
	120	145.125	296.269	258.821	360.811
	160	162.671	333.213	211.784	220.342
	200	152.710	346.999	188.458	288.155
	r	0.55	0.59	-0.67	-0.76

		Minutos	Duodeno	Yeyuno	Ileon	Heces
6a.	Semana	40	157.082	343.928	502.077	543.258
		80	135.034	281.632	404.892	482.922
		120	156.350	312.207	477.599	249.486
		160	202.035	354.534	735.313	306.148
		200	149.534	228.221	425.116	410.445
		r	0.33	-0.49	0.21	-0.58
7a.	Semana	40	120.426	282.632	335.812	375.522
		80	132.897	328.995	379.819	419.700
		120	162.803	321.497	315.791	380.324
		160	190.604	403.450	499.090	510.574
		200	163.041	269.581	388.052	240.697
		r	0.82	0.15	0.50	-0.29

CUADRO 4. Valores promedio e intervalos de confianza de la concentración de pigmentos carotenoides en plasma ($\mu\text{g/ml}$) de los pollos de engorda experimentales obtenidos a partir de la 3a. semana de edad a los 40, 80, 120, 160 y 200 minutos de iniciado el consumo de alimento con 80 ppm de xantófilas amarillas provenientes de flor de compasúchitl.

3a. semana			
Minutos	Promedio	L.I.	L.S.
40	0.358	0.039	0.676
80	0.353	0.043	0.662
120	0.666	0.353	0.976
160	0.887	0.622	1.151
200	0.913	0.514	1.311
r	0.95		
4a. Semana			
40	13.312	11.17	15.453
80	13.931	11.793	16.068
120	13.418	11.428	15.407
160	12.624	9.405	15.842
200	14.717	12.145	17.288
r	0.31		
5a. Semana			
40	21.305	17.758	24.851
80	20.033	15.429	24.636
120	20.307	16.739	23.874
160	21.314	17.689	24.938
200	23.071	21.535	24.606
r	0.64		

6a. Semana			
Minutos	Promedio	L.I.	L.S.
40	22.285	18.688	25.881
80	21.473	19.006	23.939
120	20.625	17.961	23.288
160	20.139	16.622	23.655
200	22.727	20.877	24.576
r	0.07		
7a. Semana			
40	17.945	15.958	19.931
80	20.166	17.179	23.152
120	19.132	15.62	22.643
160	18.444	15.349	21.538
200	19.309	16.288	22.329
r	0.19		

SEMANA	PROMEDIO	Limite inferior	Limite superior
3	2.459	2.02	2.890
4	10.219	9.570	10.860
5	13.400	12.660	14.130
6	15.588	14.230	16.930
7	20.440	18.730	22.140

CUADRO 5. VALORES PROMEDIO SEMANALES E INTERVALOS DE CONFIANZA PARA AMARILLAMIENTO CUTÁNEO MEDIDO CON EL COLORÍMETRO DE REFLECTANCIA MINOLTA EN LOS POLLOS DE ENGORDA EXPERIMENTALES