



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

EVALUACION DE LA PIGMENTACION EN POLLO DE  
ENGORDA POR MEDIO DE LA CROMATOGRAFIA DE  
LIQUIDOS A ALTA PRESION (HPLC), ALIMENTADO CON  
DIETAS CONTAMINADAS CON AFLATOXINAS.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**  
PRESENTA  
**ALFREDO CANELA HIDALGO**

ASESORES: Phd MA. DEL PILAR CASTAÑEDA SERRANO  
MC. JUAN CARLOS DEL RIO GARCIA.



MEXICO, D. F.

2005

m.340266



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

**EVALUACIÓN DE LA PIGMENTACIÓN EN POLLO DE  
ENGORDA POR MEDIO DE LA CROMATOGRAFÍA DE  
LIQUIDOS A ALTA PRESIÓN (HPLC), ALIMENTADO CON  
DIETAS CONTAMINADAS CON AFLATOXINAS.**

**Tesis presentada ante la  
la división de estudios profesionales de la  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.**

**De la  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Para la obtención del título de  
Medico Veterinario Zootecnista**

**Por:  
Alfredo Canela Hidalgo.**

**Asesores: Phd Ma. del Pilar Castañeda Serrano.  
MC. Juan Carlos del Río García.**

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la  
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el  
contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Alfredo Canela  
Hidalgo

FECHA: 24 - enero - 05

FIRMA: [Firma manuscrita]

México, D.F 2004

## **DEDICATORIA**

**A mis padres Carlos Canela y Adela Hidalgo y mi hermano Carlos por su apoyo incondicional en todo momento y su esfuerzo para que yo pudiera llegar a la culminación de mi carrera y de este trabajo, pero principalmente por todo el amor que me han entregado, los amo.**

**A mi esposa Alejandra por siempre estar conmigo en las buenas y en las malas, por tu paciencia y el amor que me brindas todos los días, te amo.**

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por la formación como profesionalista y la oportunidad que me brindo de ser parte de esta casa de estudios de la cual me siento muy orgulloso

Al Doctor Ernesto Ávila por todo el apoyo y confianza que siempre me brindo, pero sobre todo a sus consejos y asesoría.

A mis asesores la Doctora Pilar Castañeda y Juan Carlos del Río, por el tiempo que me brindaron, sus conocimientos y su amistad. Gracias

A los miembros de mí jurado por sus sabios consejos y la experiencia que me brindaron para la culminación de este trabajo.

A mi Tía Lidia por ser una segunda madre para mí, por todo el amor que me has dado incondicionalmente, te amo.

A mis Primas y Sobrinas, con las cuales he pasado momentos inolvidables, gracias por todo lo que me han dado.

A los miembros de la OBB: Bruno Delgadillo, Ángel Moreno, Marco Antonio Márquez, Carlos Canela, Antonio Estrada, Aarón López, por todos los momentos agradables que vivimos juntos y los que nos faltan por vivir, gracias por su amistad.

A la familia Ramírez Barban, por su apoyo brindado y la confianza, que siempre han tenido en mí. Gracias

A mis amigos de la granja, Carlitos de la Cruz, Wendy, Aarón, Arisbeth, Mario y en especial a Antonio Estrada y Alejandro Neri, por que siempre conté con su

apoyo incondicional en todo momento sin ellos no hubiera podido concluir este trabajo.

Al Doctor Ezequiel Sanchez y la Doctora Elizabeth Posadas, por sus consejos pero sobre todo por la amistad que siempre me mostraron en todo momento.

Gracias

A los Doctores Benjamín, Arturo, Jaime y Tomas, por todos los conocimientos y experiencias que me compartieron durante mi estancia en el CEIEPA.

Al Doctor Andrés Ducoing por su ayuda en los estadísticos.

A Industrias ALCOSA, y en especial al Ingeniero Alejandro Ornelas, por creer que se pueden hacer cosas diferentes, Gracias por el tiempo y el pigmento donado para este trabajo.

## CONTENIDO

<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>1.0 INTRODUCCION</b>	<b>3</b>
<b>1.2 MARCO CONCEPTUAL</b>	<b>5</b>
<b>1.2.1 COMPOSICION QUIMICA DE LOS CAROTENOIDES</b>	<b>5</b>
<b>1.2.2 FISIOLÓGÍA DE LA ABSORCIÓN DE LOS PIGMENTOS</b>	<b>6</b>
<b>1.2.3 FACTORES QUE INFLUYEN Y AFECTAN LA PIGMENTACIÓN</b>	<b>8</b>
<b>1.2.4 METODOLOGÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA PIGMENTACION</b>	<b>21</b>
<b>2.0 HIPOTESIS</b>	<b>26</b>
<b>3.0 OBJETIVO</b>	<b>26</b>
<b>4.0 MATERIAL Y METODOS</b>	<b>27</b>
<b>5.0 RESULTADOS</b>	<b>31</b>
<b>6.0 DISCUSIÓN</b>	<b>33</b>
<b>7.0 CONCLUSIONES</b>	<b>36</b>
<b>8.0 REFERENCIAS</b>	<b>37</b>
<b>9.0 CUADROS</b>	<b>42</b>
<b>10.0 FIGURAS</b>	<b>52</b>

## LISTA DE CUADROS.

<b>Cuadro 1</b> Clasificación de los pigmentos según su capacidad pigmentante.	42
<b>Cuadro 2.</b> Composición de las Dietas para pollos de engorda	43
<b>Cuadro 3.</b> Pesos comparativos de las aves con diferentes niveles de aflatoxinas, de la 1 semana a la 6 semana de edad (g)	44
<b>Cuadro 4</b> Consumo de alimento de las aves con diferentes niveles de aflatoxina, de la 1 semana a la 6 semana de edad y consumo acumulado (g).	45
<b>Cuadro 5</b> Conversión alimenticia de las aves con diferentes niveles de aflatoxinas de la 1 semana a la 6 semana de edad y acumulada (g).	46
<b>Cuadro 6.</b> Concentraciones de componentes de los pigmentos en el hígado de las aves alimentadas con diferentes niveles de aflatoxinas, analizados mediante el análisis de cromatografía de líquidos de alta resolución.	47
<b>Cuadro 7</b> Concentraciones de componentes de los pigmentos en la piel de las aves alimentadas con diferentes niveles de aflatoxina, analizados mediante el análisis de cromatografía de líquidos de alta resolución.	48
<b>Cuadro 8</b> Resultados de las evaluaciones histopatológicas del hígado de los pollos alimentados con diferentes niveles de aflatoxinas.	49
<b>Cuadro 9.</b> Análisis de las frecuencias para las evaluaciones histopatológicas del hígado de los pollos alimentados con diferentes niveles de aflatoxina, por tratamiento	50
<b>Cuadro 10.</b> Coeficientes de correlación entre los componentes de los pigmentos y las lesiones histopatológicas	51

**LISTA DE FIGURAS.**

**FIGURA 1. Tabla tridimensional que muestra los valores del sistema CIEL ab. 52**

**Resumen.**

**Alfredo Canela Hidalgo. EVALUACIÓN DE LA PIGMENTACIÓN EN POLLO DE ENGORDA POR MEDIO DE LA CROMATOGRAFÍA DE LIQUIDOS A ALTA PRESIÓN (HPLC), ALIMENTADO CON DIETAS CONTAMINADAS CON AFLATOXINAS. (Bajo la dirección de MVZ, PhD Ma. Del Pilar Castañeda Serrano y MVZ, MC. Juan Carlos del Río García.)**

Para evaluar el daño ocasionado en tejidos y la pigmentación de la piel del pollo de engorda, causado por el consumo de aflatoxinas, se realizó un experimento con 198 pollos mixtos de 1 día de edad de la estirpe Ross, que fueron divididos aleatoriamente en tres tratamientos con seis repeticiones de 11 pollos cada una. El tratamiento 1 fue el grupo testigo sin micotoxinas, el tratamiento 2 tuvo una concentración total de 300 ppb de aflatoxinas y el tratamiento 3 con 500 ppb de aflatoxinas. Las dietas experimentales fueron elaboradas de acuerdo a los requerimientos del NRC a base de sorgo y pasta de soya. Los resultados obtenidos después de 42 días de experimentación no mostraron diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos, para los parámetros productivos. Sin embargo existió una diferencia numérica para el peso final de los pollos, siendo el tratamiento testigo el mejor en ganancia de peso con (2080.6g) y los tratamientos de 300 y 500 ppb fueron similares con (1986.4g) y (1981g) respectivamente. En el caso de los componentes de los pigmentos analizados mediante la Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC o CLAR), la concentración de diésteres de ácidos grasos en el hígado, presentaron diferencias estadísticas ( $P < 0.05$ ), en el tratamiento de 500 ppb de aflatoxina con respecto al tratamiento con 300 ppb. Sin embargo los componentes, de la pigmentación de la piel fueron similares entre los

tratamientos ( $P > 0.05$ ). Para la variable lesiones histopatológicas, se encontró que el tratamiento con 500ppb fue mayor ( $P < 0.05$ ) para hiperplasia de conductos biliares, siendo diferente únicamente con el grupo testigo. Del mismo modo en hiperplasia de epitelio biliar el tratamiento de 500 ppb fue significativamente mayor, ( $P < 0.05$ ) siendo diferente solamente con el tratamiento testigo, mientras que el tratamiento de 300 ppb no mostró diferencia estadística con respecto al tratamiento de 500 ppb y el testigo. Los resultados obtenidos en el presente estudio, sugieren que las concentraciones de diésteres de ácidos grasos en hígado de pollo de engorda aumentan cuando reciben una dieta con aflatoxinas a 500 ppb. Mientras que las lesiones hepáticas como hiperplasia de conductos biliares y del epitelio biliar, fueron observadas en el pollo de engorda cuando consumieron dietas con 500 ppb de aflatoxinas.

## **1.0 INTRODUCCIÓN.**

### **1.1 Marco contextual.**

#### **Perspectiva de la avicultura en México.**

La avicultura es una actividad altamente productiva, la cual por medio del aprovechamiento de líneas de aves genéticamente especializadas, se encarga de cubrir una gran parte de las necesidades de proteína de origen animal que se requieren en México <sup>(1)</sup>.

Su importancia radica en el papel estratégico que juega en la alimentación del mexicano en amplios estratos de la población, por ser una fuente que proporciona proteínas de origen animal de bajo precio en el mercado, esto se refleja en que 6 de cada 10 personas (61.41%) incluyen en su dieta productos avícolas. <sup>(1)</sup> Esto se explica por el hecho de que en los últimos 9 años (de 1994 al 2003), la producción de huevo, pollo y pavo han tenido tasas de crecimiento anual del 3.3%, 5.8% y 8.0% respectivamente. <sup>(1)</sup>

México ocupa el sexto lugar con un consumo de 22.3 kg por persona como consumidor de carne de pollo a nivel mundial en el 2003, por encima de la Unión Europea y Japón. <sup>(1)</sup>

En el mismo año, México ocupó el quinto lugar como productor de carne de pollo a nivel mundial, seguido de países como la India, Tailandia y Japón. <sup>(1)</sup>

Debido a esto la mayoría de las empresas han cambiado su visión de crianza y procesamiento de pollo hacia un concepto de calidad cuidando cada vez más los pasos de producción, ya que la preferencia del consumidor mexicano cada vez es más exigente y busca un pollo fresco, pigmentado, de buen peso, tamaño y apariencia. <sup>(2)</sup>

La apariencia visual, especialmente la pigmentación, es la característica más importante de los alimentos para determinar la selección por el consumidor ya que muchas veces relacionan el color con el sabor de los alimentos.

Una piel amarilla en los pollos de engorda se asocia con aves sanas, por eso muchos de los consumidores prefieren el color amarillo en la piel y lo relacionan a un ave libre de enfermedades. <sup>(4)</sup> Es decir la demanda que ejerce un ama de casa que prefiere un pollo fresco, sano, con apariencia de campo, con color fuerte y definido (sensación de salud), indica que este último es el elemento más importante en la decisión preferencial del consumidor y este como elemento de calidad determinante en el precio al productor. Es por ello la preocupación de tener una buena pigmentación tanto en la piel del pollo de engorda como en la yema del huevo. <sup>(5)</sup>

Los productos avícolas en México por lo general se prefieren con una tonalidad amarilla o amarilla naranja (yema del huevo, piel, y patas de pollo de engorda). Las cantidades de pigmento que se requieren suplementar a los alimentos de las aves, representan un considerable costo para los productores. <sup>(6)</sup> Actualmente en México las principales fuentes naturales concentradas de xantofilas empleadas para la formulación de raciones en avicultura son carotenoides de flor de cempasúchil y frutos del género *Capsicum*. <sup>(7)</sup> En la industria avícola uno de los problemas de importancia económica, es la pigmentación de la piel y tarsos del pollo de engorda. <sup>(8)</sup>

Debido a que la pigmentación del pollo es un mecanismo biológico gradual donde, el pigmento presente en la dieta es absorbido en el intestino, transportado por la sangre y depositado en sus órganos blanco (piel del pollo, grasa subcutánea y yema del huevo). <sup>(9)</sup>

## 1.2 Marco conceptual.

### 1.2.1 Composición química de los carotenoides.

Los pigmentos que se encuentran naturalmente en las plantas vegetales y granos como el maíz amarillo, son aprovechados por la industria avícola para pigmentar al pollo de engorda y se conocen como carotenoides. <sup>(11)</sup>

Los carotenoides son sustancias solubles en lípidos, de naturaleza terpenoide, esto significa, que están formados por subunidades repetidas de la molécula de cinco carbonos denominada isopreno. <sup>(12)</sup>

Los carotenoides se dividen en dos grupos:

- 1-Los carotenos que son hidrocarburos y contienen solo carbón e hidrogeno.
- 2- Xantofilas o oxicarotenoides que contienen oxigeno, carbón e hidrogeno y se consideran productos de la oxidación de los carotenos, por los átomos de oxígeno que contienen, por eso se conocen como oxicarotenoides <sup>(9)(10)</sup>.

En la naturaleza uno de los papeles más importantes de los carotenoides es la función como precursores de la vitamina A y sus análogos. Ningún animal tiene la capacidad de sintetizarla, sin embargo todos la requieren para funciones como la vista, la reproducción, el desarrollo de la piel y las mucosas, así como la resistencia a varias infecciones. En los complejos con proteínas actúan como efectores alostéricos en reacciones enzimáticas y como modificadores de la permeabilidad de las membranas. <sup>(11)</sup>

Algunos autores han clasificado a los carotenoides tomando en cuenta su capacidad pigmentante de la piel del pollo y la yema de huevo (Cuadro 1). <sup>(12)</sup>

La comprensión química de los carotenoides implica: Entender las xantofilas importantes para la pigmentación que se encuentran presentes en alimentos utilizados comúnmente, y tener conocimiento de los carotenoides contenidos en los ingredientes de la dieta. <sup>(13)</sup>

Entre los ingredientes más comúnmente empleados en la nutrición aviar para proporcionar una pigmentación sustancial en los productos avícolas se encuentran el maíz amarillo, el gluten de maíz y los extractos a partir de, cempasúchil o chiles del género capsicum además de los productos amarillos y rojos sintéticos. <sup>(13)</sup>

En la actualidad los carotenoides comerciales que tienen más importancia para el color amarillo en la avicultura son:

La luteína, pigmento amarillo presente en la alfalfa, maíz amarillo, gluten de maíz amarillo, harina de alfalfa y flor de cempasúchil. <sup>(14)</sup>

La zeaxantina, molécula de color amarillo-naranja presente también en los productos antes mencionados. <sup>(14)</sup>

El etil-éster del ácido apocarotenoico (apoéster) molécula de origen sintético, de color amarillo. <sup>(10)</sup> Existen otros carotenoides como la cantaxantina, citranaxantina, capsantina (pigmentos rojos) que se depositan cuantitativamente en la yema del huevo y la piel de pollo de engorda. Estos pigmentos son utilizados en la alimentación de las aves para complementar las fuentes de pigmento amarillo y lograr la coloración amarilla o amarilla-anaranjada. <sup>(14)</sup>

### **1.2.2 Fisiología de la absorción de pigmentos.**

Es interesante revisar brevemente la absorción y metabolismo de los pigmentos para entender su interrelación con una gran cantidad de entidades patológicas del pollo de engorda. El elemento amarillo pigmentante, en muchos pigmentos naturales es una xantofila llamada luteína la cual se encuentra disponible en forma libre. <sup>(15)</sup>

Los carotenoides se asimilan a nivel Intestinal, a nivel del duodeno y parte superior del yeyuno, el resto de carotenos son absorbidos en la parte superior y media del ileon. Esta absorción es promovida en presencia de ácidos y sales biliares atravesando la pared intestinal por mecanismos de difusión pasiva por efectos de gradientes en concentración, son transportados por la sangre y depositados en el hígado, para ser deacilados, esterificados y almacenados con el fin de ser disponible y distribuidos lentamente hacia órganos blancos como lo son los tejidos grasos, piel y patas. Por lo tanto, su capacidad pigmentante está relacionada con el grado de asimilación a nivel de intestino delgado en primer lugar y en segundo por la afinidad específica o preferencia de cada carotenoide por depositarse en un tejido determinado. <sup>(10) (13) (14) (15)</sup>

Un factor importante para la pigmentación es el nivel de grasa en el alimento pues el proceso de pigmentación en pollo de engorda y en huevos se basa firmemente en la química lipofílica de los carotenoides. <sup>(13) (16)</sup>

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 reesterificación de la luteína libre no es claro, pero puede ser favorecido por las condiciones existentes en el intestino. Después de cruzar la barrera intestinal, la luteína libre representa el 96% del total, mientras que el 4% restante es en forma mono-éster <sup>(13)</sup>

Los carotenoides presentes en el plasma no están esterificados y generalmente se concentran en la fracción de la lipoproteína de alta densidad que funciona como transportador de las xantofilas hacia los órganos blancos. <sup>(13)</sup>

En el hígado, la luteína libre representa cerca del 80% mientras que los monoesteres representan el restante 20%. En la grasa subcutánea, la luteína es esterificada y la forma dominante es la luteína diéster. <sup>(13)</sup>

### **1.2.3 Factores que influyen y afectan la pigmentación.**

#### **Zona geográfica:**

La demanda de pigmentación y las preferencias de los consumidores son muy variables entre países así como, 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. <sup>(13)</sup>

#### **Tipo de agente pigmentante:**

Respecto a los ingredientes pigmentantes debemos considerar dos aspectos claves que son el tipo de carotenoides y los productos comerciales que los tienen. Existe una gran cantidad de xantofilas, pero no todas tienen el mismo valor pigmentante para la piel del pollo y no siempre sustituibles unas por otras, en lo que respecta al color observado. <sup>(17)</sup>

Los productos naturales disponibles en el mercado nacional derivan de los pétalos de flor de cempasúchil (amarillo) y de chiles del genero *Capsicum spp* (rojo). En el caso de productos de flor los componentes que tienen un poder pigmentante alto son: la trans-luteína y la trans-zeaxantina. Para el pigmento rojo, los componentes de mayor interés son la trans-capsorrubina y la trans-capsantina que son los que aportan el color rojo. <sup>(13)</sup>

En el caso de fuentes sintéticas el agente pigmentante de los productos amarillos es el ácido etílico 8-β- apo-carotenolco, 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. <sup>(13)</sup>

**Niveles de inclusión en la dieta y tiempo de consumo:**

La concentración de xantofilas en el alimento va a variar dependiendo de las necesidades de la región. También debido a que las aves no son capaces de sintetizar los carotenoides de novo, dependen del consumo de ellos en el alimento. Si las aves no consumen la cantidad suficiente de carotenoides para saturar los tejidos de destino, no se observará el color esperado.

Se ha reportado en diversos experimentos que al ajustar el consumo de xantofilas a la misma cantidad en gramos por ave, los grados de pigmentación de la piel eran diferentes cuando se administraban repartidas en distintos periodos de ingestión quedando demostrado que la etapa más recomendable era dos a tres semanas antes del sacrificio, administrando una dosis de 40 a 60 gramos de xantofilas provenientes de extractos de flor de cempasúchil por tonelada de alimento, para adquirir una buena pigmentación amarilla. <sup>(10) (13) (14)</sup>  
(17)

**Composición de la ración:**

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 sebos 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. <sup>(13)</sup>

La adición creciente de grasa a partir de un 2% en el alimento hasta un máximo del 6%, mejora la absorción de carotenoides pigmentantes. Cuando los niveles se incrementan en mayor nivel los efectos son negativos, debido a un aumento en la velocidad de tránsito del alimento en el intestino.

La cantidad de grasa no es el único punto. De acuerdo al mecanismo de generación y absorción de micelas que permiten el transporte de lípidos, estos

requieren formar interfases con el agua proveniente 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 solo determina su energía metabolizable 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. <sup>(17) (10)</sup>

Los niveles de algunas vitaminas y antioxidantes pueden afectar el grado de pigmentación. La vitamina E cuya principal función es como antioxidante intra y extracelular, 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. Pero habrá así una disminución de los depósitos de carotenoides por lo tanto una menor pigmentación. Mientras mayor sea el nivel de grasa en el alimento, mayor debe ser el nivel de Vitamina E suplementada.

Otra vitamina relacionada con la pigmentación es la vitamina A. niveles superiores a 25000 U.I se reflejarán en el progresivo deterioro del grado de pigmentación, probablemente por alteración competitiva de la absorción de carotenoides. <sup>(17)</sup>

En el caso de los antioxidantes son utilizados en la industria de fabricación de alimentos destinados a los animales de granja, con el fin de retardar la oxidación de las grasas animales y los aceites vegetales empleados para incrementar el valor energético del alimento; así como a las vitaminas y los pigmentos.

Algunas sales metálicas en exceso como el manganeso, descomponen u oxidan las xantofilas. La rancidez oxidativa de las grasas no saturadas de las dietas puede causar además la destrucción de xantofilas.

Los antibióticos que se emplean a nivel nutricional en los alimentos para las aves favorecen una mejor pigmentación, lo anterior es debido a que controlan enfermedades subclínicas y mantienen el tracto intestinal sano, por lo que hay una mejor absorción de nutrimentos y pigmentos. <sup>(14)</sup>

#### **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 xantofilas, obteniéndose a mayor cantidad de grasa mayor pigmentación. <sup>(14)</sup>

#### **Genética de la parvada:**

No todas las líneas de pollo de engorda presentan la misma eficiencia para fijar pigmento en la piel, debido a diferencias metabólicas entre ellas, la razón probablemente tiene que ver con la diferente tasa de depósito de grasa subcutánea entre líneas. <sup>(18) (10)</sup>

#### **Condición de almacenamiento de los productos pigmentantes:**

La capacidad pigmentante de una xantofila puede variar de acuerdo al arreglo estructural en que se encuentre su molécula. <sup>(11)</sup>

El contacto prolongado del pigmento con el calor, la luz, el oxígeno y como resultado de la fabricación (isomerización) pueden alterar el porcentaje relativo de los componentes pigmentantes en el producto debido a que estos factores pueden transformar las formas TRANS a CIS afectando drásticamente su valor pigmentante. <sup>(13)</sup>

La proporción entre trans y cis carotenoides en los compuestos naturales es muy variable del 60 al 90% para los trans carotenoides y entre 30 y el 10 %

para los cis carotenoides. Los carotenoides en su forma trans son considerados como pigmentantes muy efectivos, por lo que puede concluirse que los carotenoides de la dieta con un alto porcentaje en configuraciones trans tendrán eficiencia pigmentante superior a aquellos con un porcentaje inferior de configuraciones trans. <sup>(19)</sup>

#### **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 el 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, con el único inconveniente de que la coloración uniforme en la yema se alcanza más tarde que las aves alimentadas con productos saponificados. <sup>(13)</sup>

#### **Instalaciones y manejo:**

El efecto de estas variables no requiere mucha ilustración, ya se sabe que animales sometidos a manejos inadecuados o que se encuentran en instalaciones deficientes, como lo son el tipo de comederos, de bebederos etc. mostrarán al menos una baja en el consumo de alimento, lo que traerá como consecuencia una pigmentación deficiente debido al inadecuado suministro de carotenoides. <sup>(10)</sup>

#### **Factores Tóxicos:**

Entre los factores tóxicos que alteran la pigmentación podemos mencionar efectos de sorgos con altos contenidos de taninos, la presencia de factores anti-nutricionales de la pasta de soya, aunque de mayor preocupación son las micotoxinas. <sup>(17)</sup>

### **Transporte y procesamiento:**

La finalización del ciclo productivo del pollo de engorda no es precisamente el final de los problemas de pigmentación. El estrés de la manipulación, captura, 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. <sup>(17)</sup>

Antes de llegar a la planta procesadora se producen pequeñas hemorragias, debido a la rotura de vasos capilares durante la captura, manipulación y transporte las cuales, se reflejarán en un cambio del aspecto de la canal. <sup>(17)</sup>

Se menciona que aves tranquilas tienen un proceso de desangrado mejor. El mal desangrado se refleja en coloración rojo rosacea en algunas partes de la canal. Esto puede disminuirse si se revisan aspectos tan críticos como el voltaje, amperaje del aturdidor y el tiempo de desangrado. El aturdimiento adecuado inmoviliza al ave y estimula la contracción cardíaca, facilitando el desangrado.

<sup>(20)</sup> Evitar el estrés del pollo también, nos ayuda a un mejor desplumado debido a que un pollo que muere alterado requerirá de mayor fuerza, temperatura y tiempo de escaldado para remover las plumas, lo que lo dañará la epidermis, por el contrario lograr el mínimo estrés del pollo facilitará que las plumas se desprendan fácilmente al aplicar la fuerza adecuada, temperatura y tiempo de escaldado, logrando que el pollo se desplume bien y que el daño en la epidermis sea nulo o mínimo. <sup>(2)</sup>

Para obtener un desplumado óptimo del 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, genéricamente esto se conoce como pollo "tallado" el

cual, recibe castigos económicos por mala presentación del producto en el mercado público. <sup>(10)</sup>

La temperatura óptima del agua de escaldado es de 52°C a 53°C y el tiempo recomendado es de un minuto con quince segundos a un minuto con treinta segundos, al sobrepasar esta temperatura o aumentar el tiempo de permanencia en los tanques se produce daño a la epidermis y arrastre del pigmento en la piel. <sup>(17) (2) (14)</sup>

El tipo de desplumadoras es otro factor muy importante para el buen cuidado de la epidermis, ya que las desplumadoras que contienen muchos dedos en sus masas serán muy agresivas en las zonas donde el pollo ya fue desplumado, por lo que es conveniente tener como desplumadoras finales aquellas que tengan de 6 a 8 dedos. La dureza de los dedos de las desplumadoras no debe exceder de sesenta y en algunos puntos deberá usarse dureza de cuarenta y cinco. <sup>(2)</sup>

#### **Estado de salud:**

La primera condición para alcanzar el grado de pigmentación deseado es trabajar con parvadas sanas. La tasa de deposición de carotenoides en la grasa y el tejido subcutáneo puede ser influida gravemente por la salud de las aves, cualquier tipo de enfermedad que disminuya el consumo de alimento, lesione las superficies y mecanismos de absorción, así como los sistemas de transporte, va a provocar una ingesta menor de carotenoides, así como su deposición y con ello el color final de la canal. <sup>(17) (10)</sup>

De los problemas de salud más habituales, los que tienen mayor importancia como agentes causales de despigmentación o pigmentación alterada, son enfermedad crónica respiratoria, Reovirus, coccidiosis, Newcastle y aflatoxinas.

Reovirus: En infecciones por reovirus se producen cambios inflamatorios severos en el páncreas, en donde hay bloqueo de los ductos pancreáticos y

disminución de enzimas digestivas en el jugo pancreático, provocando una alteración de la digestión y absorción de nutrientes. Hay reducción en la absorción de grasas 20 a 40% y severa despigmentación. <sup>(21)</sup>

Comúnmente la enfermedad se presenta entre la segunda y tercer semana de vida del pollito. Las aves afectadas están normalmente pálidas y se observa desorden de las plumas de las alas. Los signos generales indican parvadas muy dispares, poca mortalidad y no toda la parvada está afectada. <sup>(17)</sup>

### **Coccidiosis:**

La coccidiosis es una de las enfermedades más costosas y frecuentes en la producción avícola, a pesar de los adelantos en quimioterapia, manejo, nutrición y genética. <sup>(22)</sup>

Esta enfermedad afecta principalmente la utilización de nutrientes provocando retardo del crecimiento, reducción en la eficiencia alimenticia y despigmentación. En este proceso patológico habrá reducción en la ingestión de nutrientes y carotenoides; alteración de la digestión a través del aumento del tiempo de tránsito del alimento y de la disminución de la capacidad digestiva de varias enzimas. Asimismo, la absorción de nutrientes estará reducida debida tanto al daño directo provocado por el parásito, como por el cambio de la arquitectura de la mucosa que origina; hiperplasia general de la mucosa, además de, disminución del largo y número de microvellosidades. <sup>(23)</sup>

Se ha calculado que la coccidiosis subclínica produce un aumento del 2 al 8% en el índice de conversión alimenticia, una merma de 50-100 gramos en la ganancia de peso y una disminución del 6 al 20% en el nivel de carotenoides plasmáticos, lo que se asocia a una menor pigmentación de la piel del pollo de engorda. <sup>(24) (10)</sup>

### Aflatoxicosis:

Las aflatoxinas son metabolitos secundarios tóxicos de los hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* principalmente, que se diferencian de las toxinas bacterianas por carecer de naturaleza proteica o inmunogénica. <sup>(25)</sup>

Las micotoxinas en la industria avícola son de gran importancia ya que causan severos trastornos en la producción, incrementando el periodo de crianza y disminuyendo la ganancia de peso, lo que se traduce en pérdidas económicas para el productor. Además de ello tienen importancia en salubridad pública ya que los residuos de estas en los productos de origen animal causan severos daños en el hombre al consumirlos. <sup>(26)</sup>

En términos generales resulta difícil calcular el daño ocasionado por las micotoxinas ya que sus efectos son subjetivos, como por ejemplo: peor desempeño, vacunaciones fallidas asociadas a otras enfermedades que dificultan una evaluación más exacta. Por eso la gran cantidad de estudios no van dirigidos al efecto letal, sino a la repercusión económica que representa la ingesta de dosis subletales, las cuales además de producir inmunodepresión en el animal afecta todos los parámetros productivos <sup>(27)</sup>, debido a que las micotoxinas tienen como principal destino órganos como el intestino, el hígado y el riñón, los cuales son de suma importancia para el desarrollo del animal, en especial en lo que respecta a la digestión y a la absorción de nutrientes. <sup>(25)</sup>

La Intensificación de la avicultura, ha hecho a las aves una de las especies más vulnerables a la acción de las micotoxinas por existir una total dependencia de los alimentos concentrados para su alimentación

Las aflatoxinas B1, B2 y G1, G2 han sido identificadas como contaminantes naturales de alimento y materias primas para alimento de las aves, <sup>(28)</sup> las letras B y G se refieren a los colores azul (blue) y verde (green) de fluorescencia

observados bajo luz ultravioleta de onda larga. Generalmente AFB<sub>1</sub> es encontrada en mayores concentraciones que las otras aflatoxinas, siendo la más potente, con actividad carcinogénica, teratogénica y mutagénica siendo el hígado el órgano que afecta en mayor grado, por lo que es considerada hepatotóxica. <sup>(29)(30)</sup>. Es importante resaltar a *Aspergillus flavus*, como hongo patógeno para todas las especies de aves capaz de producir Aspergilosis en pollos y pavos. <sup>(28)</sup>

La cantidad de toxina producida, va a depender de diversos factores como los son: Humedad, temperatura y sustrato <sup>(28)(26)</sup>, lo cual va a permitir que pueda encontrarse más de una toxina en el sustrato. Es importante considerar esto, pues la presencia de hongos en los cereales o sustrato, no garantiza necesariamente la presencia de toxinas. De la misma manera, la ausencia de hongos tóxicos no garantiza la ausencia de micotoxinas. <sup>(25)</sup>

#### **Factores que influyen en la producción de aflatoxinas.**

Al inicio del crecimiento del hongo existe poca o ninguna producción de aflatoxinas, pero al reducirse los niveles de fosfatos y nitrógeno en el medio, el metabolismo primario se desorganiza, acumulándose varios metabolitos primarios, iniciando la producción de aflatoxinas. <sup>(29)</sup>

#### **Factores ambientales.**

**Humedad:** Es el factor más importante en el deterioro del grano, la cantidad de humedad ambiental necesaria está relacionada con la humedad del grano. *A. flavus* necesita una humedad relativa de 80% y un 18-18.5% de humedad en el grano. Los granos y cereales necesitan diferentes requerimientos de humedad para favorecer un crecimiento micótico determinado. **Temperatura:** La temperatura óptima para la producción de aflatoxina. Es de 24-35°C. en granos

y en alimento almacenado es de 19-27°C . Se ha observado que la toxina se produce entre 11 y 37°C. <sup>(28)</sup> <sup>(26)</sup>

Sustratos: Los hongos productores de aflatoxinas pueden encontrarse y crecer en productos como los son: Soya, Maíz, Cacahuete, Arroz, Avena y Sorgo. <sup>(26)</sup>

Los sustratos con altas concentraciones de carbohidratos y ácidos grasos aumentan la producción de aflatoxinas. Sustratos altos en proteínas y pobres en carbohidratos no aumentan la producción de aflatoxinas.

Daño al grano: La producción de toxinas en los cereales puede ocurrir en cualquier punto de la cadena de la producción agrícola: en la cosecha, el transporte y el almacenamiento. El ataque de insectos, daños mecánicos y el retraso en la cosecha afectan la integridad de los granos y proporcionan condiciones favorables para el desarrollo de hongos. <sup>(25)</sup>

pH: Durante el crecimiento de los hongos, el pH del sustrato puede fluctuar entre 4 hasta 5 como resultado de la actividad de los hongos. *A flavus* y *A parasiticus* son capaces de crecer sobre un amplio rango de valores de pH con un crecimiento óptimo en los rangos de 5 hasta 8. Sin embargo, la producción de las aflatoxinas ocurre a niveles reducidos de pH, menor a 4.0 con un límite inferior de 1.0. <sup>(29)</sup> <sup>(26)</sup>

#### **Acción de las micotoxinas sobre las aves.**

La aflatoxina B1 es clasificada como un componente altamente tóxico para muchas especies de animales y en casi todos los órganos de los animales. <sup>(28)</sup>

<sup>(26)</sup> Sus efectos biológicos se agrupan en cuatro categorías; daño hepático agudo o crónico, reducción en el rango de crecimiento, inducción de efectos teratogénicos e interferencia con los mecanismos de defensa y respuesta inmunológica.

Esta toxicidad va a depender de la dosis ingerida, del tiempo de exposición, de la especie, de la raza, de la edad y el sexo del animal que las consuman. La aflatoxicosis aguda con dosis altas (5-10 ppm) se caracteriza por muerte súbita debido a la falla hepática. Las aves presentan depresión, anorexia, estado comatoso y muerte, histológicamente se aprecia necrosis periportal asociada a la proliferación de conductos biliares y degeneración grasa del epitelio de los mismos. En los casos de intoxicación crónica con dosis menores de 5 ppm, puede presentarse pérdida gradual del apetito, disminución en la ganancia de peso, baja del ritmo de crecimiento y aumento del rango de conversión alimenticia de 2.0 a 2.3 o 2.4, ya que provoca falla en la utilización de nutrientes, lo que tiene un impacto económico importante, siendo capaz además de inducir carcinoma hepático, cambio grasa e hiperplasia de conductos biliares. <sup>(31)</sup>

En general las aflatoxinas actúan alterando la absorción o el metabolismo de los nutrientes y producen alteraciones a nivel endocrino, seguidas de la supresión del sistema inmunológico. Todos los sistemas orgánicos del animal se ven alterados por las micotoxinas, lo que hace difícil cualquier diagnóstico. <sup>(25)</sup>

La inmunosupresión causada por la aflatoxina ha sido demostrada en pollos y pavos. El mecanismo exacto de como la aflatoxina induce la inmunosupresión es desconocida. Pero los efectos adversos de la aflatoxina en el complemento, interferon y proteínas plasmáticas son tal vez el resultado del daño hepático y la inhibición de la síntesis de proteínas. Se ha observado que a grandes niveles de aflatoxina (0.6-10 ppm) se puede ver inhibida la síntesis de inmunoglobulinas IgG o IgA. Mientras que a niveles más bajos (0.2-0.5 ppm) la respuesta celular al parecer es afectada. <sup>(28)</sup>

En particular las aflatoxinas se han vinculado claramente con la reducción de la respuesta Inmunológica de las aves que padecen enfermedades específicas. Diversos estudios han demostrado que la aflatoxina interfiere en la respuesta inmunológica de los pollos de engorda vacunados contra la enfermedad de Gumboro. <sup>(25) (32)</sup>

Recientes Investigaciones han demostrado que la presencia de aflatoxinas en dietas de pollo de engorda, reduce los niveles de vitamina A séricos, exacerbando las deficiencias de Vitaminas A y E, lo que provoca una mayor susceptibilidad a enfermedades pues se ha visto que existe una relación entre los niveles de Vitamina A y la respuesta Inmune del ave. <sup>(30)</sup>

También se ha demostrado que las aflatoxinas afectan el metabolismo del calcio y fósforo al alterar el desarrollo del aparato locomotor favoreciendo la presentación de osteodistrofias. Ya que las aflatoxinas están presentes frecuentemente en los alimentos en dosis mínimas ( 0.02 a 0.4 mg/g ), son capaces de causar lesiones ultraestructurales en el hígado, interfiriendo con el metabolismo de la vitamina D3, sitio donde dicha vitamina sufre hidroxilación para ser transportada posteriormente a riñón y convertirse en metabolito activo. <sup>(31)</sup>

Las aflatoxinas han sido asociadas también en diversos trabajos a la disminución en la concentración de carotenoides en el plasma, debido a una reducción en la absorción y transporte de pigmentos, lo que origina pollos sin pigmento cutáneo. Los mecanismos de acción son variados:

- El efecto de reducción en la dieta de la concentración de carotenoides a causa del cambio de densidad del contenido intestinal por incremento en las secreciones intestinales.

- Depresión en la habilidad de la mucosa intestinal para absorber los carotenoides del contenido intestinal.
- Disminución en la habilidad para transportar carotenoides al suero.
- La acumulación de carotenoides en hígado se ve alterada sobre todo en forma de diéster.
- La deposición cutánea de carotenoides se afecta posiblemente por que los pasos enzimáticos que controlan la acetilación de los carotenoides se afecta.<sup>(33) (34)</sup>

Otro efecto que se ha descrito por algunos autores, para las aflatoxinas sobre las diferentes especies de animales domésticos que la consumen es la reducción en la concentración de hemoglobina y proteínas plasmáticas, disminución de la protrombina sérica alteraciones de los factores de coagulación sanguínea XI y XII.<sup>(35)</sup>

Se ha observado que la aflatoxina puede inhibir directamente la síntesis de DNA. Otros experimentos comprobaron in vitro que las enzimas de la síntesis son activas y que por lo tanto, la acción es directamente sobre la molécula del DNA e inhibe sus actividades primarias.

#### **1.2.4 Metodología para la evaluación de la pigmentación.**

La habilidad para describir un color en términos simples es difícil o casi imposible, pues aún teniendo una excelente visión, existen serias limitaciones que interfieren en la correcta evaluación del color de piel y tarsos en pollo de engorda.<sup>(36)</sup>

El color es una característica física de la materia. Cuando la luz choca contra una superficie, una parte es absorbida y la otra es emitida como ondas de diferentes longitudes, dependiendo de la longitud de onda, será el color

percibido por el ojo. Un concepto interesante con respecto a la forma en que el ojo humano percibe los colores es la saturación. Así cuando en una área existe un exceso de partículas de un color determinado, por ejemplo amarillo, el ojo humano percibe un color diferente, el anaranjado. <sup>(10)</sup>

Hay muchos métodos para evaluar la pigmentación en piel de pollo y la yema del huevo. La selección del mejor método o del más adecuado debe ser en función de alguna situación particular, debido a que un solo método no es adecuado para llenar todas las posibles expectativas. <sup>(5)</sup>

Por los diferentes criterios de interpretación de los pigmentos, se ha tenido que desarrollar, métodos tanto indirectos como directos. <sup>(7)</sup>

1. Método de comparación directo o visual: 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 quince tonalidades, desde amarillo pálido hasta naranja intenso. La desventaja de este método es que los patrones de coloración no son una medida exacta, ya que varía de una persona a otra; no describe con precisión el color por incapacidad de los ojos a distinguir las diferencias verdaderas en concentración de pigmentos y puede haber variación entre lectores. <sup>(5)</sup>
2. Colorimetría de reflectancia: Por los diferentes criterios de interpretación de los pigmentos, se ha tenido que desarrollar, métodos más confiables y precisos como el colorímetro de reflectancia. La colorimetría de reflectancia es una medición matemática de la reflexión de un haz de luz de intensidad conocida y estos pueden ser con equipos portátiles o no portátiles, pueden emplearse tanto en interiores como en exteriores, sin

c/ue esto implique diferencias en las lecturas y no necesitan una preparación especial ni previa de la muestra, motivo por el cual ha ido difundiéndose más su uso.<sup>(7) (37)</sup>

Con la finalidad de evitar la subjetividad en la evaluación del color de la piel de pollo, se utiliza como método de referencia la medición del color con el colorímetro Minolta CR 300. Este instrumento puede medir hasta 20 colores diferentes, sin embargo, en el caso de las mediciones para la piel del pollo, se usan tres variables, L\* la luminosidad va de blanco al negro, a\* es el eje de los rojos-verdes y el b\* el de los amarillos-azules.

Como se ilustra en la (Figura 1).<sup>(10) (38)</sup>

La colorimetría de reflectancia en la avicultura utiliza el sistema CIELAB que evalúa:

- L\* Luminosidad: la cual va de cero, negro absoluto, hasta el 100 que corresponde al blanco absoluto. En el caso de la piel del pollo, el rango aceptable para esta variable es entre 64 a 72.
- a\* Enrojecimiento, que oscila de -60 a +60, donde los valores con tendencia negativa corresponden a los colores verdes y los de tendencia positiva corresponden a los rojos. El valor mínimo para esta variable es 2.
- b\* Amarillamiento y azulamiento, varían de -60 a +100; siendo los azules los valores negativos, mientras que los amarillos cifras positivas. Aquí el valor mínimo es el 41.<sup>(7) (10)</sup>

El uso del colorímetro de reflectancia tiene las siguientes ventajas:

- Elimina la subjetividad de lecturas
- Elimina el factor de fatiga del evaluador
- Evita la variación entre distintos evaluadores

- Posee patrones de referencia
- Se expresa en forma numérica

Las desventajas serían:

- El precio relativamente alto por lo que no cualquiera puede adquirirlo.
- No cualquiera puede interpretar los colores y tonos en forma numérica.
- El lugar de disparo y la cantidad que se hagan sobre una misma muestra, son consideraciones que llevan a conclusiones dispares.<sup>(7)</sup>

(17)

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.<sup>(38)</sup>

#### **Método Indirecto.**

Los indirectos son el método aprobado HPLC o CLAR (Cromatografía de líquidos de alta resolución)<sup>(39)</sup> los cuales se basan en la concentración y perfil de xantofilas contenidas en una muestra analizada como lo son; alimento, suero, piel de la pechuga, piel de los tarsos yemas de huevo y órganos como el hígado. 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  $\text{cm}^2$  de piel para el caso del pollo de engorda o microgramos por gramo de yema.<sup>(14)</sup>

Se consideran Indirectos por que correlacionan el valor obtenido de la muestra con un determinado color observado, aunque esta correlación no dejará de ser siempre una estimación.<sup>(40)</sup>

Recientemente se ha estandarizado una metodología de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC o CLAR), para la medición no solamente de pigmentos carotenoides, sino hasta metabolitos de ellos en diferentes sitios fisiológicos como lo son el hígado y plasma. Convirtiéndose así en una herramienta útil y necesaria en la industria avícola. La única desventaja sería que es un procedimiento costoso. <sup>(41)</sup>

**2.0 HIPOTESIS:**

Existe una relación entre los componentes de las xantofilas en hígado y piel analizados mediante la técnica del HPLC con lesiones histopatológicas y variables productivas de pollos de engorda alimentados con dietas contaminadas con aflatoxinas.

**3.0 OBJETIVO:**

Determinar la relación entre los patrones de los componentes de las xantofilas mediante la técnica del HPLC en hígado y piel con respecto a evaluaciones histopatológicas y parámetros productivos en pollo de engorda criado con un alimento contaminado con aflatoxinas.

#### **4.0 Material y Métodos.**

##### **Producción de micotoxinas.**

Las micotoxinas se obtuvieron mediante contaminación natural, la cual se realizó, en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, en la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS), de la Universidad Nacional Autónoma de México. Como sustrato se utilizó maíz (AS 910 de la empresa Aggro Empress), el cual se contaminó con *Aspergillus flavus* Link el cual produce aflatoxinas B1 y B2. La concentración de aflatoxina depende de la especie de hongo y condiciones de temperatura y humedad. Por lo tanto se infectaron 50 Kg de maíz, los cuales se dividieron en frascos de vidrio con 1.5 Kg cada uno, a estos se les agregó 57 ml. del hongo *Aspergillus flavus* Link y 84 ml. de agua destilada para lograr una humedad del 18%, luego se homogeneizaron para que todos los granos fueran infectados y que toda la solución fuera absorbida por el maíz. Posteriormente se colocaron en una incubadora a 27°C y se esperó a que creciera durante 15 días, pasado este periodo el hongo se sometió a estrés, disminuyendo la temperatura para que libere sus toxinas (4°C), durante 8 días para favorecer la producción de metabolitos de desecho, entre ellos las aflatoxinas.

Para la determinación y cuantificación de las aflatoxinas se le realizó una cromatografía de capa fina a una muestra del maíz contaminado, del cual se saco un extracto, el cual revelo que existía una concentración de aproximadamente 85% de aflatoxina B1 y un 15 % de aflatoxina B2, .

La determinación de aflatoxinas totales se llevó a cabo por medio del método de inmunofluorescencia en minicolumna, o (Aflatest y bio - code), el cual consistió en el siguiente procedimiento; se tomó una muestra de 50g del sustrato, la cual se licuó a alta velocidad, adicionándole 100ml de metanol al 80% y 5g de sal

por un minuto, luego se filtró usando papel filtro Watman #1 predoblado y de lo que se recuperó se tomó 1ml, al cual se le adicionó 49ml de agua destilada, posteriormente se volvió a filtrar, usando un filtro de fibra de vidrio, de lo que se recuperó se tomó 1ml el cual se hizo pasar por goteo lento a través de minicolumnas VICAM, las cuales contienen anticuerpos monoclonales. Este procedimiento se realizó utilizando una bomba pump (VICAM), el siguiente paso fue adicionar 10ml de agua destilada la cual sirvió para lavar cualquier residuo de toxinas que quede en la columna de vidrio. Por último se hizo pasar 1ml de metanol HPLC por la minicolumna, para recuperar las toxinas, una vez realizado se les adicionó un revelador (Bromuro al 0.03) el cual sirvió para poder hacer la lectura en el fluorómetro (Serie 4).

#### **Prueba experimental.**

Se llevó a cabo en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPA), perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. El centro esta ubicado en Zapotitlán, Tlahuac, Distrito Federal.

Se utilizaron 198 pollos mixtos de 1 día de edad de la estirpe Ross, que fueron divididos aleatoriamente en tres tratamientos con seis repeticiones de 11 pollos cada una. El tratamiento 1 fue el grupo testigo sin micotoxinas, el tratamiento 2 tuvo una concentración total de 300 ppb de aflatoxinas y el tratamiento 3 con 500 ppb.

Las dietas experimentales (Cuadro 2), fueron elaboradas de acuerdo a los requerimientos del NRC y la alimentación fue dividida en dos fases: <sup>(42)</sup>

Iniciación:(0 -21 días de edad) con 22% de proteína cruda y 3000 kilocalorías de EM/Kg.

Finalización: (22 - 42 días de edad) con 20% de proteína cruda y 3100 kilocalorías de EM/Kg y 90 ppm de xantofilas amarillas de flor de cempasúchil.

La alimentación fue a libre acceso durante todo el ciclo. Semanalmente se evaluó, peso corporal, consumo de alimento, conversión alimenticia y la mortalidad fue evaluada mediante la necropsia para determinar la causa de muerte.

#### **Toma de muestras.**

El muestreo se realizó al finalizar el ciclo productivo (42 días). Para lo cual se tomaron aleatoriamente 5 aves por repetición, las cuales se sacrificaron mediante dislocación cervical.

En estas canales se obtuvo el hígado (sin vesícula biliar), del cual se tomó una muestra de 1cm<sup>3</sup>, la cual fue colocada en una solución de formol al 10%, para su estudio histopatológico. Para determinar las lesiones sufridas por la aflatoxicosis, se hizo una escala de evaluación, la cual consistió en ubicar 5 campos visuales en el microscopio e identificar las lesiones de la siguiente manera, si en ese campo se localizaban:

- de 1 a 2 se consideró como leve,
- de 3 a 4 como moderada y
- de 5 en adelante como severa.

Esto fue para todas las variables histopatológicas evaluadas. Después de cada réplica se obtuvo un promedio de cada lesión para su análisis estadístico.

El resto del hígado fue macerado, para obtener 10 gramos que fueron colocados en 30ml de Heat (mezcla de solventes = hexano, etanol, acetona y toluéno). Durante 24 hrs todas las muestras de hígados fueron cubiertas con papel aluminio para evitar ser expuestas a la luz transcurrido el tiempo, se evaluaron las muestras mediante el cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC).

Para realizar la cuantificación del pigmento se obtuvieron otros 10 gramos del macerado, a los cuales se les extrajo la humedad mediante la utilización de una estufa bacteriológica durante 24 hrs, posteriormente fue pesada. Además se cuantificaron los pigmentos en la piel de la pechuga en las canales del pollo.

#### **Análisis estadístico.**

Las variables productivas (índice de conversión, consumo de alimento y pesos semanales) fueron evaluadas mediante un análisis multivariado para observaciones repetidas incluyendo en el modelo al tratamiento y la réplica dentro del tratamiento.

Los resultados obtenidos en las concentraciones de diésteres, luteína y zeaxantina, en hígado y piel de la pechuga fueron analizados mediante análisis de varianza completamente aleatorizado incluyendo el tratamiento y la repetición dentro del tratamiento. Para evaluar los resultados obtenidos de las evaluaciones histopatológicas del hígado mediante el mismo análisis estadístico los datos fueron transformados y se hizo un Análisis de las frecuencias

Los porcentajes de mortalidad general fueron evaluados mediante Chi - cuadrada ( $\chi^2$ ), utilizando un análisis de contingencia por tratamiento.

Adicionalmente los resultados de los componentes de los pigmentos mediante HPLC o CLAR y los resultados de las evaluaciones histopatológicas fueron analizados mediante correlaciones simples y de Spearman respectivamente. <sup>(43)</sup>

## **5.0 Resultados.**

Los resultados obtenidos en los parámetros productivos de peso, conversión alimenticia y consumo de alimento se observan en los Cuadros 3, 4 y 5 respectivamente. Para la variable peso semanal, no se observó diferencia significativa entre tratamientos ( $P < 0.05$ ) durante las semanas evaluadas; sin embargo el mayor peso de los animales se registró en el tratamiento testigo (2080.63 g ) y el menor peso (1981.61 g ) en el tratamiento con 500 ppb de aflatoxinas. El consumo de alimento no mostró diferencias significativas entre tratamientos ( $P < 0.05$ ) siendo que con la dieta de 500 ppb se observó el menor consumo de alimento (3900.9 g ) y el mayor consumo se observó en el tratamiento de 300 ppb (4.028.g ). Para la variable conversión alimenticia tampoco se observaron diferencias significativas entre tratamientos ( $P < 0.05$ ), siendo que la mejor conversión alimenticia se observó en la dieta testigo (1.92) y la peor (2.06) se registró en el tratamiento de 300 ppb.

Los resultados obtenidos en las concentraciones de componentes de los pigmentos, se muestran en el Cuadro 6. Se encontró diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) en la concentración de diésteres de ácidos grasos en el hígado, siendo el tratamiento de 500ppb significativamente mayor al tratamiento con 300 ppb y similar al testigo. Mientras que el tratamiento de 300 ppb y testigo no mostraron diferencia significativa entre ellos.

Los resultados de la luteína y zeaxantina no se mostraron diferencias estadísticas entre tratamientos.

Los resultados de los componentes del pigmento de la piel de la pechuga, evaluado por medio del HPLC, fueron similares ( $P > 0.05$ ) entre los tratamientos 1, 2 y 3 como lo muestra el Cuadro 7.

Los resultados de las evaluaciones histopatológicas del hígado Cuadro 8, muestran que el tratamiento de 500ppb fue significativamente mayor ( $P < 0.05$ ) para hiperplasia de conductos biliares, seguido por el tratamiento de 300 ppb, siendo ambos diferentes únicamente con el grupo testigo. Del mismo modo en hiperplasia de epitelio biliar el tratamiento de 500 ppb fue significativamente mayor, ( $P < 0.05$ ) siendo diferente solamente con el tratamiento testigo, mientras que el tratamiento de 300 ppb no mostró diferencia estadística con respecto al tratamiento de 500ppb y testigo. En el cuadro 9 se muestra el resultado del análisis de frecuencia realizado.

En el caso de degeneración grasa, los heterofilos, linfocitos y necrosis no se encontraron diferencia estadística entre tratamientos.

La mortalidad obtenida para los grupos experimentales fue de 6.1% para el testigo, 4.5% para el tratamiento de 300 ppb y 6.1% para el tratamiento de 500 ppb, sin que se observaran diferencias significativas entre tratamientos. ( $P > 0.05$ )

Los resultados de las correlaciones simples mostraron un comportamiento inversamente proporcional (-0.7441) entre el valor de la luteína y diéster ( $P < 0.0001$ ), tendencia que se observó también entre la correlación de zeaxantina y diéster (-0.7027) ( $P < 0.0001$ ). Mientras que la correlación entre luteína y zeaxantina fue directamente proporcional (0.8651) ( $P < 0.0001$ ). Mientras que las correlaciones simples entre los componentes de los pigmentos y las evaluaciones histopatológicas Cuadro 10, muestran la ausencia de relación entre ambas variables dado los valores de probabilidad obtenidos.

## **6.0 Discusión:**

Los resultados obtenidos en los parámetros productivos, no mostraron diferencia ( $P>0.05$ ) entre tratamientos, para las variables evaluadas de peso semanal, conversión alimenticia. Estos resultados no coinciden con lo reportado por Del Río y col <sup>(31)</sup>, quienes a dosis de 400 ppb observaron reducciones en parámetros productivos. Por otro lado otros autores <sup>(28)</sup>, reportan que a niveles de 4 000 ppb de aflatoxina B1 por Kg de peso vivo, las aves presentaron decaimiento, disminución en el consumo de agua y alimento. De acuerdo a algunos autores la dosis utilizada en aflatoxinas en el presente estudio se considera baja para afectar el desempeño productivo de las aves y la pigmentación de la piel.

### **Concentraciones de componentes de los pigmentos.**

La concentración de diésteres de ácidos grasos en el hígado, fue mayor con el tratamiento, de 500 ppb de aflatoxina con, esto se puede deber al daño hepático existente, el cual afecta al metabolismo de los carotenoides, pues en forma normal 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 diéster. Pero en presencia de aflatoxinas se altera la esterificación de la luteína en el contenido intestinal, disminuye la absorción y transporte de luteína, incrementa el secuestro de de luteína en el hígado debido

a la baja disponibilidad de las formas esterificadas y por consiguiente, disminuye el depósito de pigmento en la piel y yema de huevo. <sup>(44) (45)</sup>

Este impacto depende del nivel de aflatoxina recibida. Como consecuencia de la ingestión de aflatoxinas, el patrón de carotenoides del hígado se ve modificado presentándose una 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. Y esta acumulación de diésteres va a aumentar, si el nivel de aflatoxinas lo hace también. <sup>(44) (45)</sup>

En las lesiones histopatológicas se encontró que en el tratamiento de 500ppb fue significativamente mayor ( $P < 0.05$ ) para hiperplasia de conductos biliares, siendo diferente únicamente con el grupo testigo. Esto coincide con lo reportado por Del Río y col. <sup>31</sup> quien menciona que la principal lesión microscópica del hígado es la proliferación de conductos biliares y la vacuolización del citoplasma de los hepatocitos. Del mismo modo en hiperplasia de epitelio biliar el tratamiento de 500 ppb fue significativamente mayor, ( $P < 0.05$ ) siendo diferente solamente con el tratamiento testigo, mientras que el tratamiento de 300 ppb no mostró diferencia estadística con respecto al tratamiento de 500ppb y el testigo. Esto coincide con lo señalado en estudios <sup>(28)</sup>, que reportan que la proliferación de epitelio biliar ocurre durante las primeras 86 horas después de haber sido consumida la aflatoxina.

Se observaron otros hallazgos histopatológicas como degeneración grasa hepática, debido a que la intoxicación con aflatoxinas incrementa la acumulación de lípidos en el hígado acompañada de una severa depresión enzimática. Esto coincide por lo reportado por algunos autores. <sup>(28) (26)</sup>

Los resultados obtenidos en las correlaciones simples indican que los diésteres de ácidos grasos poseen una relación inversamente proporcional con la luteína y la zeaxantina en hígado, lo que sugiere que el metabolismo se modifica. Mientras que no se encontró correlación entre los valores de los componentes de los pigmentos y las lesiones histopatológicas. Es importante mencionar que en el presente estudio los valores promedio para las lesiones histopatológicas fueron menores de 1, lo que correspondería en nuestra escala de evaluación como leve. Información que nos señala que a dosis de 300 y de 500 ppb las lesiones hepáticas no son severas.

Esto aunado con los resultados de mortalidad sugiere que las dosis utilizadas en el presente estudio corresponden a una intoxicación leve. Sin embargo este nivel de aflatoxicosis modifica el metabolismo hepático de los pigmentos al presentarse mayor acumulación de diésteres, sin causar lesiones irreversibles en el hígado o efecto negativo en los parámetros productivos y mortalidad. Por lo tanto es importante continuar trabajando en los efectos de la aflatoxicosis a niveles mayores, así como su interacción con otras micotoxinas reportadas en campo como las ocratoxinas que pueden afectar la pigmentación y los parámetros productivos en el pollo de engorda.

## **7.0 Conclusiones**

Las concentraciones de diésteres de ácidos grasos en hígado de pollo de engorda aumentan cuando reciben una dieta con aflatoxinas de 500 ppb.

Lesiones hepáticas leves como hiperplasia de conductos biliares y del epitelio biliar, fueron observadas en pollos de engorda alimentados con dietas contaminadas con niveles de 500 ppb de aflatoxinas.

Por lo tanto se concluye que al haber una aflatoxicosis la concentración de diésteres va aumentar más en el hígado y la hiperplasia de conductos biliares y la de epitelio biliar es más severa.

## 8.0 Referencias.

1. Compendio de Indicadores Económicos del Sector Avícola 2003-2004. Unión Nacional de Avicultores, Dirección de Estudios Económicos, abril 2004.
2. Ornelas A. Influencia del procesamiento en el golpeo y la pigmentación en la canal de pollo. Industrias ALCOSA. 2000; 57-62.
3. Williams D. Origin and impact of color on consumer preference for food, Poultry Sci 1992: 71; 744-746.
4. Sunde M. The scientific way to pigment poultry products. Poultry Sci 1992: 71; 709-710.
5. Tirado FJ. Evaluación de la capacidad pigmentante en pollos de engorda, de dos productos altos en zeaxantina provenientes de flor de cempasuchil. Universidad de Colima, Posgrado interinstitucional en ciencias pecuarias. 1999; 2-24
6. Middendorf DF, Childs GS, Cravens WW. A rapid bioassay for the comparison of xantopyll availability from various sources. Poultry Sci 1980: 59; 1442-1454.
7. Tirado FJ. Pigmentos y pigmentación. X Ciclo de conferencias Internacionales Sobre Avicultura, AMENA: 1991; 181- 197
8. Cuca GM, Avila GE y Pro MA. Alimentación de las aves 8a. Edición Universidad Autónoma de Chapingo. Edo de Méx, 1996.
9. Tyczkowski JK, Hamilton PB. Absorption, transport and deposition in chickens of lutein diester, a carotenoid extracted from marigold (*Tagetes erecta*). Poultry Sci 1986 :65; 1526-1531.
10. Fernández S. Pigmentación en la avicultura. Industrias Roche, Diplomado en Producción Avícola, UNAM. 2001; 150-157

11. Septien FJ. Los pigmentos en la industria de los alimentos balanceados. Industrias Alcosa, Diplomado en producción avícola, UNAM. 1994
12. Viliesid F. Sobre la naturaleza de los pigmentos carotenoides. Boletín técnico No 1. industrias ALCOSA, 1999.
13. José Luis vicente salvador Diplomado en producción avícola. Nutrición y alimentación avícola. Segunda edición 2001: 145:157.)
14. Ávila GE. Pigmentantes en la avicultura. en: anabólicos y aditivos en la producción pecuaria. Sistema de Educación Continua en Producción Animal en México, AC. 1990: 239-250.
15. Dussán GL, Ibarra MB. La pigmentación trabajo en equipo. III Jornada Medico Avícola. Departamento de producción avícola. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia UNAM. México D.F 1999; 62-64.
16. Tyczkowski JK, Shaeffer, Hamilton PB. Influence of dietary lipids on pigmentation of young chickens. Poultry Sci. 1989: 68; 1246-1254
17. Piraces SF, Cortes CR. Factores que afectan la pigmentación de pollo de carne. Productos ROCHE. X Ciclo de conferencias internacionales sobre avicultura, AMENA: 1991; 103-127.
18. Fletcher DL, Papa CM, Tirado FX. The effect of saponification on the broiler coloring capability of marigold extracts. Poultry Sci 19777; 56:86-90.
19. Borja V. Factores que afectan a la pigmentación natural en avicultura. Selecciones Avícolas Mayo 1997: 276-279.
20. Lipstein B. Meat quality in broilers with particular referentes to pigmentation. Recent advances in animal Nutrition Cap. 2. Univ. Nottingham. Shool of Agriculture. 1984.

21. Hamilton BP. Pale bird síndrome. Proceedings Maryland Nutrition Conference. 1984: 33-42.
22. Calnek BW. Enfermedades de las aves. Segunda edición. Editorial Manual moderno 2000 capítulo 34 pag. 892 – 911.
23. Allen PC. Biochemical aspects of the carotenoid malabsorption during coccidiosis in chickens. Vth International Coccidiosis conference. 1989; 17-20.
24. Tyczkowski JK, Schaeffer LJ, Hamilton PB. Measurement of malaabsorption of carotenoids in chickens with Pale-Bird Syndrome<sup>1</sup> Poultry Sci 1991; 70: 2275-2279.
25. Santin E. Micotoxicosis: Demostraciones practicas de daño en animales. Estrategias de control. 14ª Ronda Latinoamericana de Alltech 2004.
26. Rosiles R. Petrone VM. Intoxicación por micotoxinas en aves. Diplomado en producción avícola, UNAM. 2001; 178-213.
27. Carabaño JM. Comportamiento productivo de los pollos de engorde ante la presencia de aflatoxina B1 en la ración. XV Congreso Latino Americano de Avicultura. Cancún Quintana Roo México. 1997;45-46.
28. Leeson S. Díaz G and Summers JD. Poultry metabolic disorders and mycotoxins. 1995. Chapter 14: 249-298
29. Lara MJ. Estudio comparativo de *A. flavus* Link y *A. Parasiticus* Speare en la producción de aflatoxinas bajo diferentes condiciones de humedad y Temperatura. Tesis de Maestría. Cuautilan Izcalli, Edo. de México 2004.
30. Pimpukdee K., Kubena LF. Aflatoxin-Induced toxicity and depletion of hepatic vitmin A in young broiler chicks: Protection of Chicks in the

- presence of low levels of NovaSil PLUS in the diet. Poultry Sci. 2004  
83:737-744.
31. Del Río García JC, Rosiles R, Casaubon MT, Ávila GE. 25 –  
Hidroxicolecalciferol (25-OH-D3) y Aflatoxina B1, sobre el rendimiento  
productivo en pollo de engorda. VII Jornadas Médico Avícolas.  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM. 1998; 94-98.
  32. Azzam AH, Gabal MA. Interaction of aflatoxin in the feed and  
immunization against selected infectious disease. I Infectious bursal  
disease. Avian pathology 1997; 317-325.
  33. Schaeffer JL, Tyczkowski JK, Hamilton PB. Alterations in carotenoid  
metabolism during Ochratoxicosis in young broiler chickens. Pou Sci  
1987;66 318-324.
  34. Schaeffer JL, Tyczkowski JK, Hamilton PB. Depletion of oxycarotenoid  
pigments in chickens and the failure of aflatoxina to affect it. Pou Sci  
1988; 67 1080-1086.
  35. Quezada T., Cuellar T., Martínez A. Algunas alteraciones hepáticas y  
renales de pollo de engorda intoxicados con aflatoxina B1. VI Jornada  
Médico Avícola UNAM. FMVZ. Depto. Producción Animal : Aves. 12 –  
14 Marzo 1997
  36. Becerril GM. Evaluación del poder pigmentante de luteína y  
capsantina en pollo de engorda y gallinas de postura con un  
colorímetro de reflectancia. (Tesis de Maestría) México DF.  
Universidad Nacional Autónoma de México: Facultad de Medicina  
Veterinaria y Zootecnia 1989.
  37. Becerril GMJ. Pigmentación con luteína y capsantina en pollos de  
engorda y huevo. I, II, III. Tec. Avipec 1988-1989; No 10,11,12.

38. Janky DM. The use of the minolta Reflectance Chromameter II™. For pigmentation evaluation of broiler shanks. Poultry Sci 1986: 65;491-496
39. García MAR, Rosiles MR, Bautista OJ, Ávila GE. Capacidad de adsorción in Vitro de ocratoxina A de secuestrantes de micotoxinas comercializados en México. Veterinaria México, 2004; 35 351:358.
40. Cortés CR, Leal MJ. La medición de la intensidad del color de la piel del pollo de engorda. Tec. Avipec 1997: 109; 38-39
41. Hamilton PB The use of High Performancer liquid chromatography for studying pigmentation. Poultry Science 1992 : 71;718-724.
42. National. Reserch council 1994 Nutrient Requeriments of poultry Nacional academy press.1994
43. Steel RGD, Torrie JH. Bioestadística, principios y procedimientos. 2ª. Ed. México D.F: Mc Graw Hill, 1985.)
44. Tyczkowski JK y Hamilton PB Lutein as a model dihydroxycarotenoid for the study of pigmentation in chickens. Poultry Science 1986:65; 1141-1145.
45. Osborne DJ, Huff WE, Hamilton PB and Burmeister HR. Comparison of ochratoxin, aflatoxina 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.

## 9.0 Cuadros.

**Cuadro1. Clasificación de los pigmentos según su capacidad pigmentante.**

PRECURSORES DE VIT. A	NO	$\alpha$ -CAROTENO
	PIGMENTAN	$\beta$ -CAROTENO
NO PRECURSORES DE VIT. A	NO	VIOLAXANTINA
	PIGMENTAN	NEOXANTINA
NO PRECURSORES DE VIT. A	NO	LUTEÍNA, AMARILLO
	PIGMENTAN	ZEAXANTINA (SINTÉTICO) NARANJA
NO PRECURSORES DE VIT. A	NO	CANTAXANTINA (SINTÉTICO) ROJO
	PIGMENTAN	CAPSANTINA ROJO
NO PRECURSORES DE VIT. A	NO	CITRANAXANTINA (SINTÉTICO) ROJO
	PIGMENTAN	ESTER ETÍLICO DEL ÁCIDO (-8 APOCAROTENICO (SINTÉTICO) AMARILLO

**Cuadro 2. Composición de las Dietas para pollos de engorda.**

<b>INGREDIENTE</b>	<b>Iniciador de 0-21</b>	<b>Finalización de 22-42</b>
<b>Kg/Ton</b>	<b>días</b>	<b>Días</b>
Sorgo 9%	568.50	590.500
Pasta de soya 46%	357.60	320.440
Aceite Vegetal	28.98	42.800
Fosfato de Calcio	18.08	16.146
Carbonato de Calcio	15.90	13.881
Sal (NaCl)	4.40	3.804
Vitaminas***	2.50	2.500
DL- Metionina	2.24	1.881
Cloruro de Colina	1.00	0.800
Pigmento**	0.00	6.000
Anticoccidiano	0.50	0.600
L- Treonina	-	0.348
Bacitracina - Zinc	0.30	0.300
Total	1000	1000.00
<b>Análisis Calculado</b>		
Proteína Cruda (%)	22.00	20.00
Lisina (%)	1.200	1.053
Metionina (%)	0.580	0.480
Metionina + Cistina	0.900	0.830
Fósforo Disponible	0.500	0.45
Calcio Total (%)	1.00	0.90
EM (Kcal/ Kg)	3000	3100

\*A los tratamientos 2 y 3 se les substituyeron los kilogramos de sorgo por el maíz blanco contaminado dependiendo el nivel de aflatoxina deseado.

\*\* Los niveles de xantofilas de 90 ppm de xantofilas amarillas se adicionaron con Phxafil

\*\*\* Vitamina A (12000,000 UI), Vitamina D3 (2,500,000), Vitamina E (15,000 UI), Vitamina K (2.0g), Vitamina B1 (2.25g), Vitamina B2 (7.5g), Vitamina B6 (3.5g), Vitamina B12 (20 mg), Ac. Pantoténico (12.5g), Ac. Fólico (1.5g), Biotina (125 mg), Niacina (45 g), Hierro (50g), Zinc (50g), Manganeso (110g), Cobre (12g).

**Cuadro 3. Pesos comparativos de las aves con diferentes niveles de aflatoxinas, de la 1 semana a la 6 semana de edad (g).**

Tratamiento	SEMANAS					
	1	2	3	4	5	6
Testigo	120.7	283.8	565.4	944.7	1421.3	2080.6
300 ppb	127.7	303.0	599.6	928.0	1379.1	1986.4
500 ppb	128.3	308.3	301.6	888.3	1341.9	1981.6

N.S (P>0.05)

**Cuadro 4. Consumo de alimento de las aves con diferentes niveles de aflatoxina, de la 1 semana a la 6 semana de edad y consumo acumulado (g).**

Tratamiento	SEMA NAS						Acumulado
	1	2	3	4	5	6	
Testigo	106.5	239.5	485.2	688.3	980.6	1504.7	4004.8
300 ppb	108.0	252.3	535.9	678.0	979.4	1474.5	4028.1
500 ppb	110.6	231.3	543.8	630.5	938.8	1445.9	3900.9

N.S (P>0.05)

**Cuadro 5. Conversión alimenticia de las aves con diferentes niveles de aflatoxinas de la 1 semana a la 6 semana de edad y acumulada (g).**

TRATAMIENTO	SEMANAS						Acumulado
	1	2	3	4	5	6	
Testigo	1.2	1.5	1.7	1.8	2.1	2.3	1.96
300 ppb	1.1	1.5	1.8	2.1	2.2	2.4	2.06
500 ppb	1.2	1.3	1.9	2.1	2.2	2.3	2.00

N.S (P>0.05)

**Cuadro 6. Concentraciones de componentes de los pigmentos en el hígado de las aves alimentadas con diferentes niveles de aflatoxinas, analizados mediante el análisis de cromatografía de líquidos de alta resolución.**

Tratamiento	mg/Kg		
	Diester	Luteína	Zeaxantina
Testigo	6.4 <sup>ab</sup>	60.3	5.4
300 ppb	5.4 <sup>b</sup>	62.4	5.6
500 ppb	7.4 <sup>a</sup>	60.1	5.3
Error Estándar	1.3	2.4	0.2

Los valores por columna con diferente literal indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ )

**Cuadro 7. Concentraciones de componentes de los pigmentos en la piel de las aves alimentadas con diferentes niveles de aflatoxina, analizados mediante el análisis de cromatografía de líquidos de alta resolución.**

Tratamiento	mg/kg		
	Diester	Luteína	Zeaxantina
Testigo	19.1	42.6	4.9
300 ppb	18.1	43.2	4.8
500 ppb	21.3	43.0	4.8

N.S (P>0.05)

**Cuadro 8. Resultados de las evaluaciones histopatológicas del hígado de los pollos alimentados con diferentes niveles de aflatoxinas.**

Tratamiento	Hiperplasia de conductos biliares	EE	Hiperplasia del epitelio biliar	EE	Heterófilos	EE	Linfocitos	EE
Testigo	0.59 <sup>b</sup>	0.14	0.45 <sup>b</sup>	0.09	0.83	0.24	0.79	0.12
300 ppb	1.48 <sup>a</sup>	0.12	0.63 <sup>ab</sup>	0.10	0.56	0.24	0.73	0.09
500 ppb	1.55 <sup>a</sup>	0.13	0.98 <sup>a</sup>	0.10	0.64	0.21	0.55	0.19
	R <sup>2</sup> 0.63		R <sup>2</sup> 0.564		R <sup>2</sup> 0.389		R <sup>2</sup> 0.425	

EE= Error Estándar

Los valores por columna con diferente literal indican diferencia significativa (P<0.05)

**Cuadro 9. Análisis de las frecuencias para las evaluaciones histopatológicas del hígado de los pollos alimentados con diferentes niveles de aflatoxina, por tratamiento**

Tratamiento	Hiperplasia de conductos biliares	Hiperplasia del epitelio biliar	Heterófilos	Linfocitos	Degen. grasa	Necrosis
Testigo	56.67 % (17/30)	43.33% (13/30)	30% (9/30)	40% (12/30)	53.33% (16/30)	20% (6/30)
300 ppb	66.67% (20/30)	36.67% (11/30)	30 (9/30)	63.33% (19/30)	36.67% (11/30)	20% (6/30)
500 ppb	66.67% (20/30)	46.67% (14/30)	40% (12/30)	13.33% (4/30)	33.33% (10/30)	16.67% (5/30)
Probabilidad	0.6501	0.727	0.637	0.0004	0.2411	0.930
n	90	90	90	90	90	90

Los valores están expresados como porcentaje de presentación de lesiones, siendo la n por tratamiento de 30

**Cuadro 10. Coeficientes de correlación entre los componentes de los pigmentos y las lesiones histopatológicas**

	Luteína	Zeaxantina	Diester
Hiperplasia de conductos biliares	-0.0818 Prob 0.5489	-0.1460 Prob 0.2828	0.1811 Prob 0.1817
Hiperplasia del epitelio biliar	0.0168 Prob 0.9215	-0.1645 Prob 0.3307	0.1431 Prob 0.3981
Heterofilos	0.1943 Prob 0.3219	0.3228 Prob 0.0938	-0.2717 Prob 0.1620
Linfocitos	0.22914 Prob 0.1924	0.0986 Prob 0.5792	-0.1343 Prob 0.4488
Degeneración grasa	-0.1443 Prob 0.4011	-0.1265 Prob 0.4623	0.0410 Prob 0.8124
Necrosis	-0.1046 Prob 0.6895	-0.1624 Prob 0.5335	-0.0619 Prob 0.8133

## 10.0 Figuras.

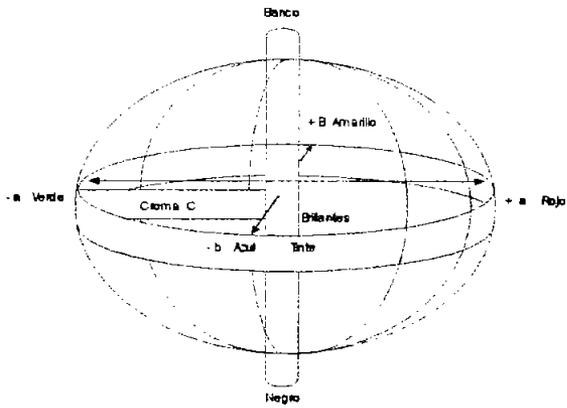


FIGURA 1. Tabla tridimensional que muestra los valores del sistema CIELab.