

EVALUACION DE LA CAPACIDAD PIGMENTANTE
DE CAROTENOIDES EN JABONES DE DESECHO DEL
REFINAMIENTO DEL ACEITE DE PALMA AFRICANA
(*ELAIS GUINEENSIS*) EN LA YEMA DE HUEVO

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

EVALUACION DE LA CAPACIDAD PIGMENTANTE
DE CAROTENOIDES EN JABONES DE DESECHO DEL
REFINAMIENTO DEL ACEITE DE PALMA AFRICANA
(ELAIS GUINEENSIS) EN LA YEMA DE HUEVO

GERDA MARIA HUERTAS CASTELLANOS

BIBLIOTECA
DE LA
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Trabajo de investigación presentado para optar
al grado académico de Licenciada en Biología

Guatemala

1987

Vo. Bo.:

(f) Concepción² Inés Boffa
Licenciada Concepción de Bosque

Tribunal:

(f) Concepción Inés Boffa
Licenciada Concepción de Bosque

(f) Margaret Dix
Doctora Margaret Dix

(f) Ricardo Bressani
Doctor Ricardo Bressani

Fecha de aprobación: 3 de julio de 1987.

DEDICO ESTA TESIS

A DIOS

A Mis Padres

MIGUEL ENRIQUE HUERTAS

BLANCA EVA CASTELLANOS DE HUERTAS

A Mis Hermanos

MIGUEL EDUARDO

SALVADOR ENRIQUE

EVA SUSANNA

A Mis Familiares

A Mis Amigos y Compañeros

A Mis Catedráticos

AGRADECIMIENTOS

- Al International Foundation for Science, Suecia por el financiamiento del presente trabajo y a la Universidad del Valle de Guatemala,
- Al Dr. Ricardo Bressani y al Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) por todo su apoyo y asistencia en la parte experimental.
- Al señor Jorge Mario González de la finca experimental San Antonio Pachalí (INCAP) por el cuidado de las aves.
- Al señor Clark MacDonalt de LA ROCHE por el obsequio de pigmentos y por literatura.
- A la Licenciada Concepción de Bosque por toda su confianza y consejos brindados.
- A la Ingeniera Elvira G. de Mejía por toda su ayuda y apoyo.
- A la Doctora Margaret Dix por su comprensión y consejos recibidos durante toda mi carrera.
- A los Ingenieros Arnoldo García y Jaime Leonel Sosa por su ayuda en el análisis estadístico.
- A Edwin Castellanos por la elaboración de los jabones acidulados así como, el análisis del contenido de carotenoides de las materias primas.
- A Humberto Yoc por reactivos y materiales.
- Al Dr. Nicolás Irving por el obsequio del antioxidante BHT.
- A José Antonio Castillo por el trabajo fotográfico, consejos y amistad.
- A mis tios José Santacruz Noriega y Lydia Castellanos de Santacruz por todo su cariño y apoyo brindado.
- A todas aquellas personas que en alguna u otra forma contribuyeron en la realización del presente trabajo.

CONTENIDO

	Páginas
RESUMEN	i
I. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	3
A. Digestión en Pollos	3
B. El Huevo de la Gallina	3
C. Requerimientos Nutritivos	4
D. Características Físicas y Químicas de los Carotenoides	8
E. Factores que afectan la Pigmentación en Pollos	9
F. Estudios hechos sobre Pigmentación de Yema de Huevo y Pollos de Engorde	12
III. OBJETIVOS	19
IV. MATERIALES Y METODOS	21
V. RESULTADOS	27
VI. DISCUSION	37
VII. CONCLUSIONES	43
VIII. RECOMENDACIONES	45
IX. LITERATURA CITADA	47

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Peso mínimo por docena de huevos para los E.E.U.U. y Guatemala	6
2. Recomendaciones por la Real Escuela de Avicultura para las aves ponedoras en batería	7
3. Sitios de deposición de 4 carotenoides en gallinas ponedoras y polluelos	18
4. Composición de la dieta basal utilizada durante las 6 semanas de experimentación	23
5. Tratamientos utilizados durante el ensayo	25
6. Consumo promedio de alimento por semana	28
7. Número promedio de huevos ovopositados por tratamiento por semana	29
8. Peso promedio en gramos de huevos ovopositados por tratamiento por semana	32
9. Evaluación de color de yema de huevo en el abanico de color Hoffman-La Roche	32

	Página
10. Evaluación del color de la yema de huevo (ug de B-caroteno/g yema)	34
11. Concentraciones de carotenoides y vitamina A en los hígados de gallinas sacrificadas al final de las 6 semanas de experimentación	35
12. Análisis visual y espectrofotométrico de una docena de huevos comerciales	40

LISTA DE DIAGRAMAS Y FIGURAS

Diagrama	Páginas
1. Elaboración del jabón acidulado a partir del aceite crudo de palma africana	22
Figura	
1. Reducción del contenido de B-caroteno y de carotenoides pigmentantes en los alimentos de pollos de engorde durante el almacenamiento	10
2. Configuraciones de isómeros de la molécula de B-caroteno	11
3. Carotenoides encontrados en la yema de huevo	13

APENDICES

A.	Extracción de carotenoides de aceite y jabones de palma africana	51
B.	Cálculos para la elaboración de los tratamientos	53
C.	Evaluación de color de yema según el método de la A.O.A.C. (1980)	57
D.	Determinación de carotenoides totales en hígados de gallinas según el método de Olson (1979)	61
E.	Resumen de análisis de varianza: Comportamiento de los 8 tratamientos durante cada semana	63
F.	Resumen de análisis de varianza: Comportamiento de cada uno de los 8 tratamientos durante las 6 semanas de experimentación	64

RESUMEN

La capacidad pigmentante del aceite crudo de palma africana (*Elaeis guineensis* var. *tenera*) y del jabón acidulado resultante del refinamiento del aceite, se evaluó en gallinas ponedoras coloradas raza Shaver Starcross. El aceite crudo y niveles dietéticos de jabón acidulado se ensayaron por un período de 6 semanas. Los jabones acidulados y el aceite crudo lograron una pigmentación del 41% del pigmentante sintético comercial. No se observaron alteraciones en la producción y peso de los huevos.

I. INTRODUCCION

En Guatemala, el aceite de palma africana está alcanzando gran importancia como fuente calórica en la alimentación de animales y en la industria de jabones. En otros países latinoamericanos, como Costa Rica, el aceite refinado sirve para el consumo humano. El proceso de refinamiento del aceite no sólo resulta en la producción del aceite, también de subproductos como jabones y tierras activadas con un alto contenido de carotenoides.

Arriaga(1985) encontró que el aceite de palma africana, *Elais guineensis* Jacq. variedad **tenera**, podría contener hasta 540 ppm de carotenoides y los jabones del mismo, hasta 393 ppm. El concluyó que los jabones podrían ser utilizados como un suplemento dietético para las aves. Estos desechos podrían ser aprovechados como fuente de pigmentos, para ser utilizados en la industria avícola sustituyendo el pigmento procedente del extranjero. Con la sustitución total o parcial de los pigmentos importados, se lograría una reducción en el costo de productos avícolas para el productor y para el consumidor.

Los carotenoides como pigmentantes en la industria avícola, son muy importantes para el consumidor. Moraleda(1971) informó que los pollos de engorde bien pigmentados estaban más en demanda por los consumidores, ya que poseían un color agradable y más apetecible. Además, el ave sana almacena los carotenoides pigmentantes de su dieta en el tejido adiposo subcutáneo mientras que el ave enferma, especialmente la que sufre de trastornos digestivos o de infecciones con parásitos, no pueden absorber estos pigmentos eficientemente(Hoffman-La Roche). Así también, los huevos de aves ponedoras con yema bien pigmentada indican la buena alimentación y salud de éstas.

El contenido del alimento puede afectar el color de la yema, piel, pico y tarsos del ave. Ciertos alimentos pueden producir colores desagradables, especialmente en la yema de huevo. Por ejemplo, una ración conteniendo más de

5% de semilla de algodón molida produce una coloración verde olivo o café o manchas oscuras al sufrir cierto tiempo de almacenamiento (Morrison, 1959).

Los carotenoides además de su capacidad pigmentante, desempeñan otras funciones biológicas como la actividad provitamínica A, mejoramiento de la fertilidad y tasa de eclosabilidad, aumento de la resistencia y la viabilidad y finalmente disminuye la encefalomalacia en aves (Hencken, 1982).

En el presente estudio se evaluaron las dietas de gallinas utilizando carotenoides provenientes del jabón, un desecho del refinamiento del aceite de palma africana, como pigmentante en la yema de huevo. Se evaluó la coloración de la yema con el abanico de colores Hoffman-La Roche y la prueba espectrofotométrica para el color de yema según el método de la A.O.A.C. (1980).

II. ANTECEDENTES

A. Digestión en Pollos

La digestión en pollos es muy diferente a animales grandes. El pico sustituye a los labios y los dientes. La masticación no se lleva a cabo en la boca y por lo tanto no hay necesidad de saliva. El alimento en la boca es forzado hacia abajo al esófago y luego al buche donde se almacena temporalmente. Los granos enteros pueden permanecer en este órgano 12 horas o más. Ocurre poca o ninguna secreción de enzimas y el alimento llega a sufrir un leve ablandamiento. Dentro de 24 horas casi todo el alimento ha salido de este sitio y pasa a la segunda parte del esófago, el proventrículo un estómago glandular que segrega el jugo gástrico. La comida continúa su paso a la molleja, un estómago muscular con cubierta dura y córnea que funciona como un aparato de maceración. Allí, el alimento es macerado por la acción de la molleja y partículas de arena. De la molleja el alimento parcialmente digerido, pasa al intestino delgado en el cual los procesos digestivos son similares a otros animales de granja. La mayor parte de la digestión gástrica se lleva a cabo en la primera parte del intestino delgado. El intestino grueso en pollos tiene poca capacidad y es de menor importancia en la digestión. Consiste de un recto corto y 2 ciegos en la unión del intestino delgado y el recto. La orina, en forma de pasta blanca, y las heces se evacúan ambas por la cloaca. Los desechos nitrogenados se excretan como ácido úrico y uratos (Morrison, 1959).

B. El Huevo

El huevo consiste básicamente de 31% de yema, 59% de albúmina y 10% de cáscara. El desarrollo del huevo empieza en el ovario donde se forma la yema. Esta se deposita en capas concéntricas y cuando termina su desarrollo, se

rompe el folículo y la yema cubierta por una membrana, pasa al oviducto. Aquí se añade la albúmina y finalmente se agrega la cáscara. El huevo se compone aproximadamente del 66% de agua, 13% de proteína, 10.5% de grasa y 10.5% de cenizas(Maynard et al. 1962).

La cantidad de lípidos en la yema varían entre el 32% y 36% aproximadamente, y esta variación se puede atribuir más al linaje del ave que a la dieta. La fracción lipídica de la yema contiene aproximadamente el 66% de triglicéridos, el 25% de fosfolípidos, el 5% de colesterol y menores cantidades de otros lípidos. La composición de los ácidos grasos de los lípidos en la yema son influenciados por los tipos de ácidos grasos en la dieta de la gallina. La cantidad total de ácidos grasos saturados (principalmente palmítico y esteárico) no cambian con una alteración en la composición de ácidos grasos en la dieta. El ácido linoleico de la yema aumenta cuando el ácido oleico disminuye al elevar el nivel de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta(Fennema, 1976).

El peso del huevo es un criterio importante para su comercialización y depende de la edad y calidad de alimentación de la gallina. En el cuadro 1 se presentan los pesos mínimos por docena de huevos para los Estados Unidos y Guatemala (1985). Se ha demostrado que aceites vegetales adicionados aumenta el peso del huevo aunque se efectúe una dilución con celulosa para mantener el nivel de energía constante. Investigaciones realizadas en la Estación Experimental de Washington, muestran que mucho del efecto de la grasa sobre el peso del huevo se debe al ácido linoleico presente en la misma(Titus y Fritz, 1971).

C. Requerimientos Nutritivos

En el presente estudio se utilizaron sólo gallinas ponedoras y se incluye el Cuadro 2 que muestra sus requerimientos nutritivos(Datos obtenidos de material didáctico del curso de Avicultura en la Universidad del Valle de Guatemala).

Además, se deben considerar los siguientes factores: 1. Variar los principios inmediatos; energía, calcio y fósforo, según la época del año, 2. No agregar vitamina E mientras que la fórmula contenga un buen antioxidante y la calidad de los ingredientes sea excelente (ausencia de grasas insaturadas), 3. Utilizar derivados sintéticos a base de manadiona que tienen varias veces mayor actividad fisiológica que la vitamina K.

**Cuadro I: Peso mínimo por docena de huevos para los
Estados Unidos y Guatemala**

Categoría	Peso en Guate. (g)	Peso en E.E.U.U. (g)	Onzas
Peewee	42	35	15
Pequeño	49	42	18
Mediano	56	49	21
Grande	63	56	24
Extra Grande	70	63	27
Gigante	--	70	30

_____. 1956. U.S. weight classes for consumer grades for shell eggs.
Egg grading manual, Agricultural Handbook No. 75 U.S. Department
of Agriculture.

Cuadro 2: Recomendaciones por la Real Escuela de Avicultura para las raciones de aves ponedors en batería (Según Tejada, 1985).

FACTOR NUTRITIVO	CANTIDAD
Proteína bruta %	16.5 - 18
Fibra bruta %	3 - 6
Calorías productivas por kilo	1900 - 2100
Relación Calorías productivas/proteína	116 - 126
Calorías metabolizables por Kilo	2720 - 3000
Relación Calorías metabolizables/proteína	164 - 180
Calcio %	2.7 - 4.0
Fósforo total %(mínimo de 0.45%)	0.65 - 0.9
VITAMINAS:	
A U.I. por kg	9000 - 12000
D3 U.I. por kg	1100 - 1700
E	?
K1	?
B2 mg por kg	3.0 - 5.0
B12	?
Acido nicotínico mg por kg	35 - 45
Acido pantoténico mg por kg	8 - 13
Colina (mínimo) mg por kg	1000
MINERALES:	
Cinc mg por kg	33 - 50
sal común %	0.4
cobalto mg por kg	-----
cobre mg por kg	3 - 4

hierro mg por kg	30 - 40
magnesio mg por kg	300
manganeso mg por kg	40
potasio %	0.02
sodio mg por kg	0.12
yodo mg por kg	0.5 - 1.0

D. Características Físicas y Químicas de los Carotenoides

Los carotenoides son compuestos isoprenoides que se dividen en dos grupos, carotenos y xantofilas. Entre los carotenos, se encuentra el B-caroteno, cuya molécula al ser partida a la mitad, forma teóricamente dos moléculas de la vitamina A1. Las xantofilas son similares a la molécula de B-caroteno pero se encuentran oxidadas por un grupo hidroxilo o cetona. A diferencia de los carotenos, las xantofilas pierden total o parcialmente sus actividades provitamínicas A. Por ello, intervienen en escasa medida en el metabolismo de las aves y se depositan, casi sin modificarse, como pigmentos en los tejidos de los pollos o en la yema de huevo(Hencken, 1982).

En los humanos, los carotenos provenientes de vegetales son absorbidos como tales y son disueltos en la porción lípida de las lipoproteínas. La concentración normal de carotenoides en sangre humana se encuentra entre 2 y 4 micromoles. Personas que ingieren mucho vegetal con alto contenido de carotenoides(como zanahorias) sufren de carotenemia. Su piel se torna de un color amarillo. La licopenia, es parecida a la carotenemia, aunque mucho más rara. Esta, ocurre en personas que comen mucho tomate, el cual, contiene el pigmento licopeno. La tez de estas personas es de un color rojo-anaranjado fuerte. Ambas enfermedades se pueden eliminar con la disminución en la ingesta de vegetales con altos contenidos de carotenoides(McGilvery, 1970).

Los carotenoides de materiales vegetales no son estables ya que pierden su actividad pigmentante durante el almacenamiento. En la siguiente figura se puede observar la reducción de actividad en B-caroteno, luteína y zeaxantina durante el período de almacenamiento (Véase la figura 1).

Hencken(1982) hizo un estudio sobre la influencia de diversas xantofilas y del entorno en la pigmentación del pollo de engorde. Encontró que el poder pigmentante de las distintas xantofilas se deben a ciertos criterios como su digestibilidad, pérdidas metabólicas, matíz, y afinidad específica (pigmentación preferente de determinados tejidos por un tipo de carotenoide). La digestibilidad depende principalmente de la estructura química y de su solubilidad. Además las xantofilas de vegetales frescos o congelados se aprovechan mejor que las procedentes de vegetales previamente desecados. Esto se debe al hecho de que las xantofilas en vegetales frescos como la zeaxantina y la luteína, se hallan en forma holo-trans, como se observa en la figura 2a. Durante la desecación y el almacenamiento se produce una isomerización parcial de la xantofila, la cual da lugar a una forma cis, como se muestra en la figura 2b. Hencken concluyó que la forma trans es más eficiente como pigmento que la forma cis.

E. Factores que Afectan la Pigmentación en Pollos

Hencken(1982) determinó que los siguientes factores afectan o pueden llegar a influir en el aprovechamiento de las xantofilas por el pollo:

1. La variedad y localización del cultivo fuente de carotenoides.
2. El clima, los abonos y la forma de cosechar la fuente de carotenoides.
3. La época de cosecha, la degradación oxidativa o enzimática durante el almacenamiento.

Figura 1: Reducción del contenido de B-caroteno y de carotenoides pigmentantes en los alimentos de pollos de engorde durante el almacenamiento (según Fässler y col. 1962 citado en ROCHE).

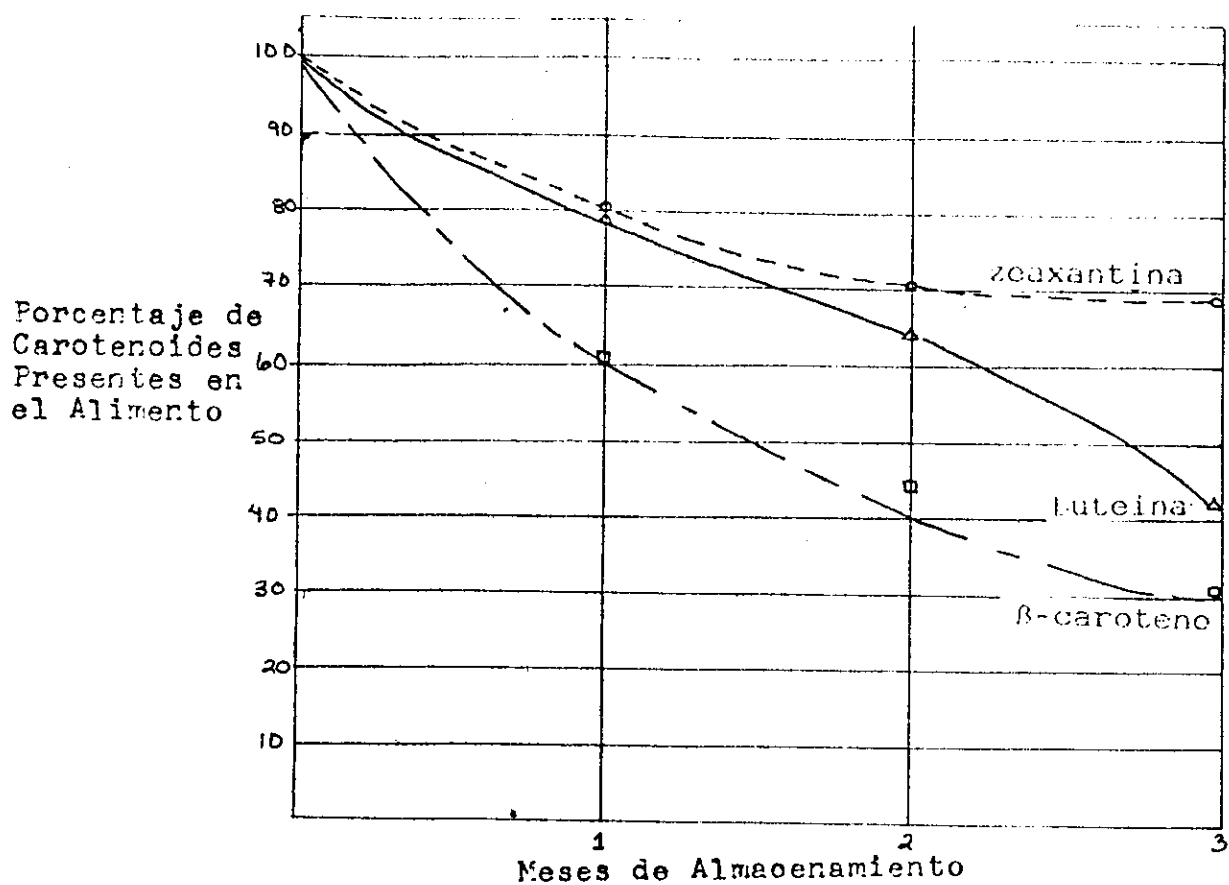
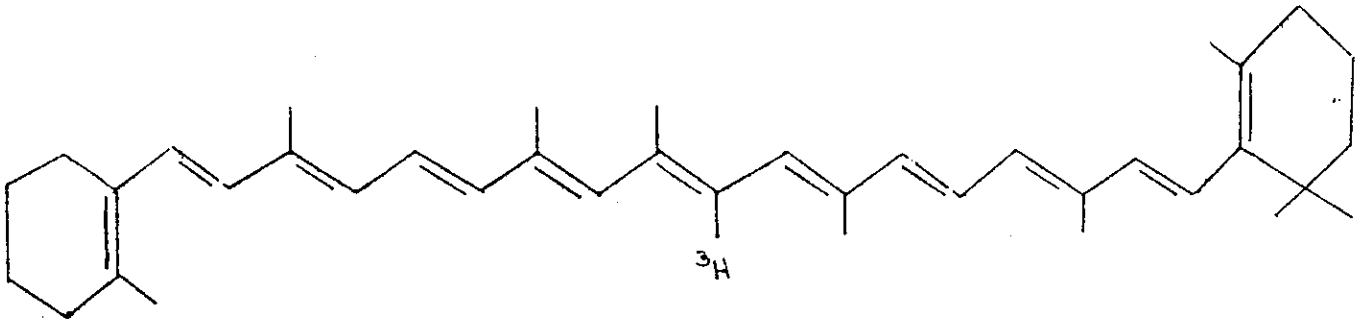
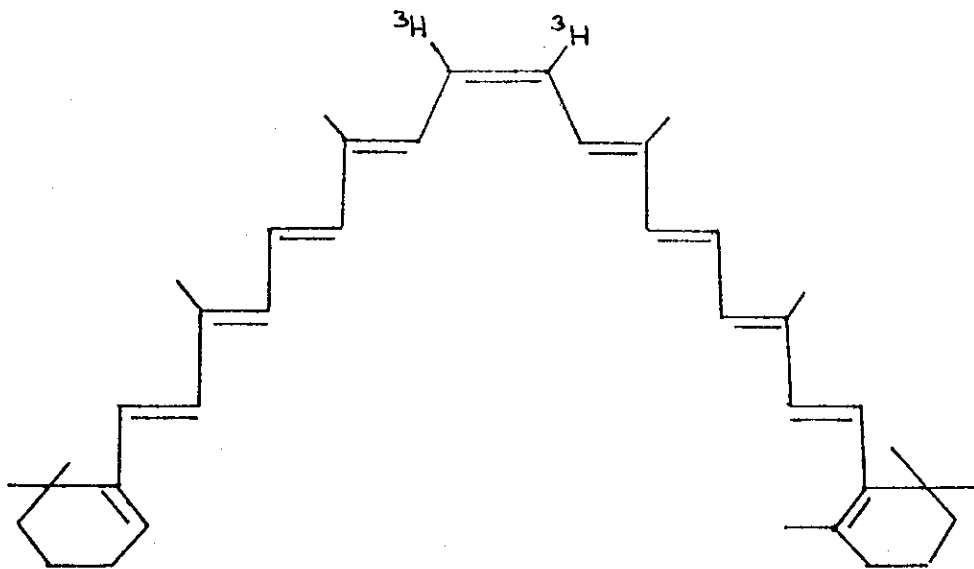


Figura 2: Configuraciones de isómeros de la molécula de B-caroteno(Hencken, 1982).

a. Holo-trans-B-caroteno



b. 15,15' -cis-B-caroteno



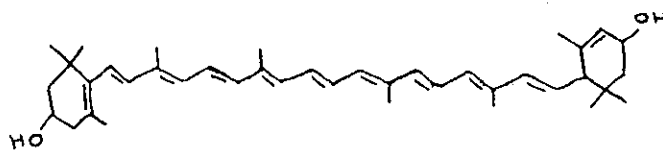
4. La miscibilidad y la estabilidad física de los componentes y su distribución homogénea.
5. El ambiente, la composición de la dieta y enfermedades pasadas por el pollo, como por ejemplo:
 - infecciones del intestino
 - coccidiosis
 - aflatoxinas y ocratoxinas
6. Componentes alimenticios como:
 - vitaminas A y E
 - antioxidantes y pro-oxidantes
 - antibióticos, antihelmínticos y coccidiostáticos
7. Otros factores, como por ejemplo:
 - edad del pollo
 - cantidad de luz que recibe el pollo
 - aptitudes genéticas del individuo para absorber o depositar las xantofilas.

F. Estudios Hechos sobre Pigmentación de Yema de Huevo y Pollos de Engorde

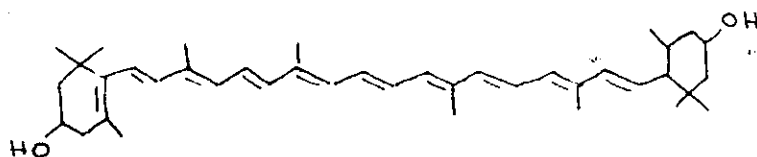
En los estudios más antiguos sobre el contenido de pigmento en yema de huevo se determinó que el pigmento no era saponificable y que no tenía ningún parecido a la bilirrubina. Se clasificó el pigmento como 'luteína' o 'lipocromo' en conjunto con los pigmentos de los ovarios, plasma sanguínea, grasa láctea, zanahorias etc. Luego en investigaciones siguientes se encontró que los pigmentos contenidos en la yema eran idénticos a las xantofilas encontradas en las flores. Además, se pudo determinar la presencia de 9 diferentes carotenoides (Véase la figura 3) (Wildfeuer et al, 1967).

Figura 3: Carotenoides encontrados en la yema de huevo:

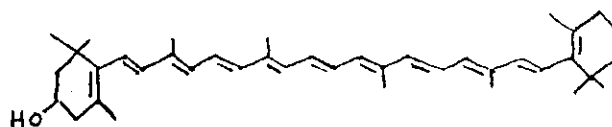
Xantofila(Luteína)



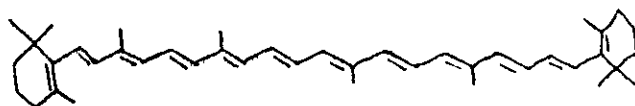
Zeaxantina



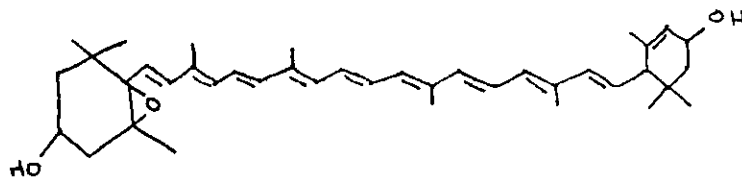
Cryptoxantina



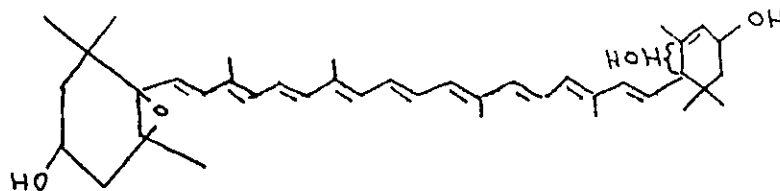
B-caroteno



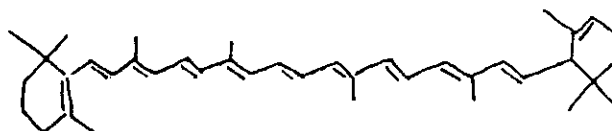
Isoluteína



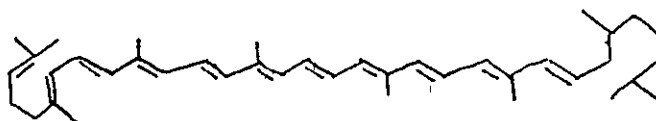
Neoxantina



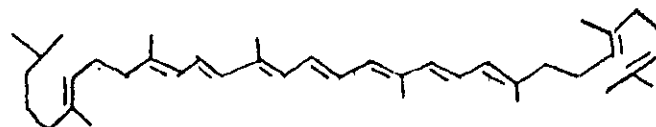
Alfa-caroteno



Lycopeno



Gama-caroteno



Forsythe(1958) estudió la concentración de xantofilas por un método en que se substituye el dicromato de potasio acuoso por el B-caroteno cristalino. El método consistía en preparar soluciones estándar de B-caroteno, construir una curva estándar utilizando el fotómetro Cenco-Sheard-Sanford con filtro de 440 m μ y otro con un filtro de 410 m μ , así como espectrofotómetros de varios tipos con transmisiones de 450 ± 5.0 m μ . Ya construída la curva se determinaba el contenido de xantofilas en una muestra conocida de yema de huevo. Forsythe, determinó que el espectrofotómetro, como instrumento analítico, era el más preciso. En 1960, Marusich y colaboradores, todavía utilizaron el método del dicromato de potasio(además de pruebas colorimétricas) para evaluar visualmente la eficiencia de varios carotenoides en la pigmentación de la yema. El dicromato de potasio se utilizó a 15 diferentes concentraciones ascendentes. Los resultados que obtuvieron mostraron que la cantaxantina es la más efectiva en depositarse, produciendo yemas anaranjadas o rojo-anaranjadas. La isozeaxantina o diacetato de isozeaxantina y la capsantina también pigmentaron las yemas de un color naranja. La violaxantina era inefectiva como pigmentante. La zeaxantina, éter dimetílico de isozeaxantina y B-apo-8' -carotenal, todos impartieron un buen color a las yemas comparable al obtenido por el alimento comercial. Encontraron que la eficiencia de deposición de carotenoides individuales en la yema variaba considerablemente y era influenciada por la raza de la gallina.

Se han hecho numerosos estudios acerca de la pigmentación en yema y piel de pollos utilizando carotenoides de fuentes vegetales. Jensen(1963) estudió tres especies de algas marinas para pigmentar la yema. Estas tres especies, *Ascophyllum nodosum*(L.) Le Jol., *Fucus vesiculosus* L. y *Fucus serratus* L., contienen B-caroteno, violaxantina y fucoxantina. La adición del 10% de *F. vesicu-*

losus y 15% de *F. serratus* a la dieta basal, resultó en un aumento respectivamente, de 10 y 7.5 veces en el contenido de carotenoides en la yema. La violaxantina y fucoxantina presentes en las dietas no fueron depositadas en la yema como tales sino que fueron parcialmente convertidas a furanoides y otros derivados epoxídicos. Las xantofilas en *Tagetes erecta*, una Compositae, fueron estudiadas por Brambila y colaboradores(1963), en la pigmentación de yema y piel. Por el alto contenido de xantofilas (12.5 - 13.6 mg/g de B-caroteno) observaron buena pigmentación de piel y de yema. Encontraron que a niveles bajos de xantofilas en la dieta eran mejor utilizados que los niveles altos y que una pigmentación se producía cuando sólo se daban pétalos molidos de *T. erecta* a niveles del 0.25%, lo cual corresponde a un contenido de xantofilas de aproximadamente 13.6 mg/lb. de alimento.

La 'paprika' o pimentón español también se ha estudiado como pigmentante de yema. Esta sustancia es soluble en grasa y se cree que ésta propiedad influye en la pigmentación. Se encontró que las yemas alcanzaron su máximo color de 10 a 12 días. Se cree que la grasa actuó como portador y aumentó así la deposición del pigmento en la yema(Mackay et. al. 1963).

En investigaciones sobre el uso de las guías de camote en la pigmentación de la yema y piel en pollos, se encontró que éstas pigmentan la yema casi del mismo color que imparte el alfalfa, aunque al comparar los colores con el abanico Hoffmann-La Roche, la coloración de la yema pigmentada con el camote era menor que la pigmentada por el alfalfa. Esto se debió al bajo contenido de luteína en la guía del camote (31.6 ug/g de yema) comparado con 39.9 ug/g de yema con alfalfa. Las desventajas de esta fuente de pigmento es que está sujeto a variaciones por especie, tiempo de cosecha, aplicación de fertilizantes, etc. (Garlich et. al. 1974).

Fletcher y Halloran(1981) estudiaron la pigmentación de yema combinando los concentrados comercialmente disponibles de *T. erecta* y *Capsicum annum*. Combinaron los concentrados variando las concentraciones de ambos ya que *T. erecta* posee xantofilas amarillas y *C. annum* posee xantofilas rojas. Concluyeron que la coloración de yema producida por estos concentrados combinados era más apropiado para la industria de pastas, mayonesa, etc. y no para venta comercial.

Lipstein, Bornstein y Budowski(1966) utilizaron los subproductos del refinamiento del aceite de soya como fuente de pigmento para pollos de engorde. Es el único estudio hecho que considera las grasas como fuente de xantofilas. Las grasas estables o estabilizadas tienen la ventaja de que tienden a proteger las xantofilas contra la oxidación y pueden mejorar su absorción por el animal pero la desventaja es que, al aumentar el nivel energético en las raciones, causa que los pollos consuman menos alimento y así también, menos xantofilas. Utilizaron jabones acidulados de soya y la lecitina de soya para determinar la capacidad pigmentante de cada sustancia. Encontraron que el grado de pigmentación debido a xantofilas derivadas de jabones aumentaba linealmente con el aumento de la concentración dietética de xantofilas. La lecitina de soya no resultó ser un buen pigmentante de la piel. En 1969, los mismos autores probaron la lecitina de soya y el jabón acidulado de soya para determinar la capacidad pigmentante en la yema de huevo. Concluyeron que la lecitina de soya tiene una mejor capacidad pigmentante en la yema que los jabones acidulados. Creen que la baja eficiencia de los jabones se debe a la proporción baja de luteína entre las xantofilas y también, en general, a la baja utilización de xantofilas derivadas de jabones.

Marusich y Bauerfeind(1970) han hecho estudios con oxycarotenoides puros

como: El ácido de éter etílico β -apo-8' -carotenoíco, β -apo-8' carotenal, éter dimetílico de zeaxantina, cantaxantina, y equinona además de maíz blanco, maíz amarillo y sorgo. Encontraron que la ración de maíz blanco con el éster apo-etílico era el más eficiente en pigmentar la yema del huevo. Estudios con pollos de engorde utilizaron 2 oxycarotenoides puros: 4,4' diceto- β -caroteno(cantaxantina) y el éster apoetílico mezclados con oxycarotenoides de gluten de maíz, algas, *Tagetes* sp. y alfalfa. Por evaluación visual con el abanico de colores Hoffmann-La Roche se concluyó una vez más, que el éster apo-etílico resultó más eficiente en una ración baja en pigmento a nivel de 10-20 g/tonelada de alimento.

Otros estudios han determinado y aislado pigmentos presentes en la yema y en la piel. Estos pigmentos se han llegado a correlacionar con pigmentos presentes en el alimento. Smith y Perdue(1966) aislaron 6 diferentes pigmentos posibles de la piel en pollos. Determinaron que la distribución de estos pigmentos en la piel, no corresponde a la distribución en el alimento. En cambio, sí encontraron una correspondencia en la distribución de 4 pigmentos depositados en la yema con la distribución en el alimento.

Livingston et. al.(1970) aislaron luteína, zeaxantina, criptoxantina y la zeinoxantina de alfalfa y gluten de maíz. Estos mismos carotenoides los encontraron presentes en los tarsos de pollos de engorde que se alimentaban con estos vegetales. Encontraron que xantofilas extraídas de estas dos fuentes estaban más disponibles para pigmentar la piel.

Williams y colaboradores(1973) estudiaron la utilización de diferentes carotenoides por gallinas ponedoras y polluelos. Determinaron que en un período de 8 a 10 días se alcanzaba un valor constante en el contenido de carotenoides.

El cuadro 3 presenta los resultados obtenidos por dichos autores:

Cuadro 3: Sitios de deposición de 4 carotenoides en gallinas ponedoras y polluelos(Williams et. al. 1963).

Sitio	Pigmento			
	Bixina	Luteína	Zeaxantina	-caroteno
Membrana				
digital	0	0	+	-
Yema	++	+	0	0
Plasma	0	+	+	-
Tejido				
adiposo	0	+	+	-
Hígado	0	+	+	-

0 = ausente + = presente
 - = poco ++ = bastante

Además de estudios sobre sitios de deposición, también se ha investigado la actividad biológica de los carotenoides. Marusich y Bauerfeind(1963) determinaron que la vitamina A(alcohol) es mucho más efectiva en aumentar reservas en el hígado que el β -caroteno cuando se da a niveles altos en el alimento; 2000 - 10,000 unidades internacionales/lb de alimento. No observaron diferencias en el crecimiento de los grupos con niveles distintos de vitamina A ya que todos los grupos mostraron valores positivos para la vitamina A almacenada en

el hígado. Un año más tarde Budowski y colaboradores(1964) investigaron la actividad vitamínica A del jabón acidulado de soya en polluelos. Encontraron que los jabones acidulados de soya aumentaron el almacenamiento de vitamina A en el hígado de polluelos, así como, su supervivencia al ser criados a base de dietas deficientes en vitamina A. Creen que el pigmento provitamínico A es un artefacto formado por la acidulación de luteína con ácido sulfúrico. Ellos asociaron este pigmento con 3'hidroxi-3,4-dehidro- β -caroteno un producto de deshidratación de luteína.

En el presente estudio, los objetivos principales son:

1. Determinar la capacidad pigmentante de los carotenoides provenientes del aceite crudo y el jabón acidulado de aceite de palma africana, *Elais guineensis* var. *tenera*, en la yema de huevo.
2. Determinar en cuanto tiempo se estabiliza el color o contenido de xantofilas después de empezar cada tratamiento.
3. Comparar los efectos de los diferentes tratamientos con respecto al número de huevos ovopositados, peso promedio de los huevos y cantidad de alimento consumido.
4. Determinar la concentración de carotenoides presentes en el hígado de las gallinas con los niveles más altos de carotenoides.

IV. MATERIALES Y METODOS

A. Materiales

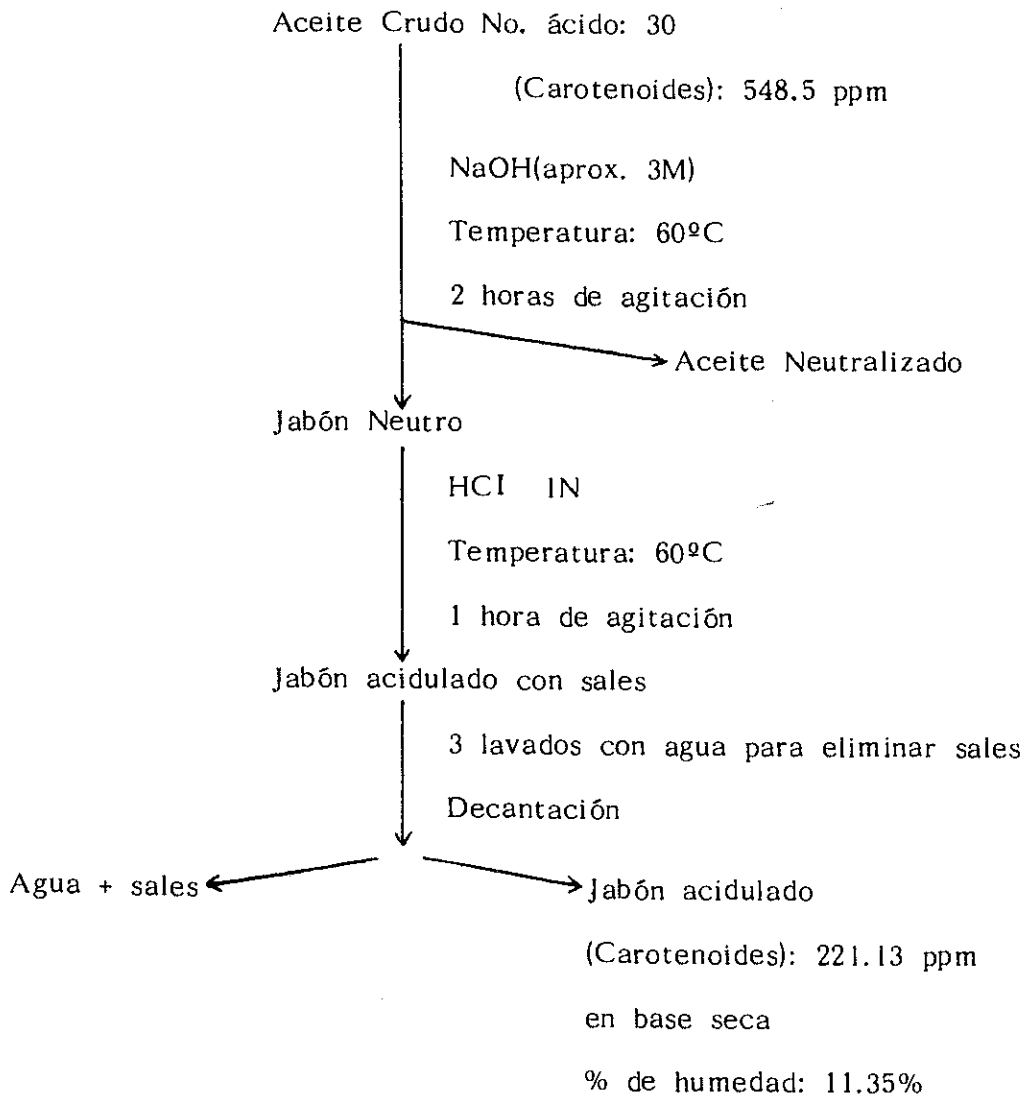
1. Aceite crudo de palma africana proveniente de la finca Buena Vista, San Sebastián, Retalhuleu con un número ácido de 30. El proceso de obtención del jabón acidulado a partir del aceite crudo de palma africana se muestra en el Diagrama 1. Se obtuvieron 400 lb. de jabón acidulado con un promedio del 11.35% de humedad.
2. Aceite crudo con un número ácido de 9. Este aceite se utilizó para el tratamiento con aceite en el ensayo biológico ya que era más fresco y adecuado para su ingesta por la gallina.
3. Carophyll-yellow al 10% marca La Roche. Se utilizó como control positivo de las dietas experimentales (100 gramos en total).
4. Dieta Basal. Concentrado libre de carotenoides elaborado especialmente para gallinas ponedoras. Con este concentrado se depletaron las gallinas al principio del experimento y también sirvió como el control negativo durante el período de experimentación(Cuadro 4).
5. Animales de experimentación. 150 pollas de 19 semanas de edad, raza Shaver Starcross se alimentaron con un concentrado comercial para ponedoras marca "PURINA" hasta que alcanzaron el 80 - 90% de postura.

B. Métodos

1. Fase de Depleción

Se inició el período de depleción alimentando a las gallinas con la dieta basal, cuya composición se muestra en el cuadro 4, hasta lograr hue-

Diagrama 1: Proceso de obtención del jabón acidulado a partir del aceite crudo de palma africana



Cuadro 4: Composición de la dieta basal utilizada durante las 6 semanas de experimentación.

Ingrediente	%
Maicillo Molido	55.00
Harina de Algodón 38%	10.00
Harina de Soya	14.00
Harina de Carne	8.00
Melaza	3.08
Carbonato de Calcio	7.00
Sal	0.25
Grit	1.00
Premezcla Vitamínica	0.25
Cloruro de Colina 50%	0.125
Metionina	0.15
Afrecho de arroz (como vehículo de premezcla)	1.145
	100.00

Composición Química Proximal

Ingrediente	%		
Proteína	18.61	Metionina	0.41
Grasa	3.41	Met/Cistina	0.71
Fibra Cruda	4.09	Lisina	0.89
Calcio	3.64	Triptófano	0.197
Fósforo Disponible	0.57	Energía Me-	
Arginina	1.35	tabolizable	1255 Kcal/lb

vos con yemas sin pigmentación. Posteriormente, las gallinas se dividieron en 8 grupos de 18 gallinas por grupo, de modo que cada tratamiento tuviese 2 repeticiones de 9 gallinas. Los grupos fueron alojados en 16 apartados de 2 por 3 metros cada uno. Cada apartado contenía un bebedero, 1 comedero, 2 sitios para ovopositar y un sitio para perchar.

2. Fase de Repleción

a. Las dietas se elaboraron en base al contenido de carotenoides de cada materia prima. El método de análisis de carotenoides del jabón acidulado y el aceite crudo así como los cálculos se encuentran en los apéndices A y B, respectivamente.

b. El cuadro 5 muestra los tratamientos utilizados durante el ensayo. Se eligieron los niveles de 20, 25 y 30 ppm de carotenoides. Agua y alimento fueron ofrecidos **ad libitum** a las gallinas durante las 6 semanas de experimentación.

c. Parámetros evaluados y metodología

Para todos los tratamientos se evaluaron los siguientes parámetros:

1. Consumo de alimento
2. Producción de huevos
3. Pigmentación de la yema
4. Peso de los huevos

Con el fin de evaluar la pigmentación de las yemas se colectaron 30 huevos por tratamiento cada semana. Para propósitos del análisis visual, se utilizaron 15 huevos de cada tratamiento. Los 15 huevos se dividieron en 3 réplicas de 5 huevos. A cada huevo se le separó la yema de la clara y se comparó el color de la yema con los valores del abanico de co-

Cuadro 5: Tratamientos utilizados durante el ensayo

Tratamiento	Concentración de Carotenoides(ppm)	Peso de materia prima/25 Kg de dieta basal
Carophyll		
1A	20	5.0 gramos
2A	25	6.25 gramos
3A	30	7.50 gramos
Jabón		
1B	20	2.52 Kilogramos
2B	25	3.15 kilogramos
3B	30	3.78 Kilogramos
Aceite Crudo		
1C	25	1.14 Kilogramos
1C*	37	1.71 Kilogramos
Control Negativo		
1D	--	dieta basal libre de carotenoides

* Se aumentó la concentración en las últimas 2 semanas de experimentación. Cada porción de 25 Kilogramos de dieta se dividió en dos recipientes, 1 recipiente por réplica.

lor Hoffmann-La Roche. Se homogenizaron las 5 yemas de cada réplica para obtener 3 muestras representativas para el análisis espectrofotométrico de la A.O.A.C.(1980)(Véase Apéndice C). Un día después de finalizar el experimento, se sacrificaron 2 gallinas de cada uno de los siguientes tratamientos(8 gallinas en total):

Carophyll 3A

Jabón 3B

Aceite Crudo 1C*

Dieta Basal 1D

Se extrajo el hígado para determinar posibles respuestas fisiológicas del ave a las dietas que estaban consumiendo. Al disectar las aves se hicieron las siguientes observaciones:

1. Color de tejido adiposo
2. Color y consistencia del hígado
3. Apariencia de otros órganos.

Cada hígado se introdujo en un frasco de 4 onzas esterilizado. Cada frasco se rotuló con la fecha, el tratamiento y el número de réplica. Se transportaron al laboratorio a baja temperatura en una hielera. En el laboratorio se cubrieron los frascos con papel de aluminio para protegerlos de la luz y luego se colocaron en un congelador para almacenarlos hasta su análisis. El contenido de carotenoides en los hígados se determinó por el método de Olson(1979), el cual se observa en el Apéndice D.

V. RESULTADOS

Los resultados de los parámetros evaluados se presentan en los cuadros números 6 al 11 y en los casos en que F fue significativa en la evaluación de color de yema (Véase Apéndices E y F para el resumen de los análisis de varianza), se aplicó la prueba de Tukey para la comparación de medias. A los resultados del análisis de carotenoides en los hígados no se les realizó análisis estadístico por ser una cantidad inapropiada de muestras.

El cuadro 6 muestra el consumo de alimento por semana. Se observó un rango de 7.32 a 9.47 kg consumidos durante las 6 semanas. No hubo diferencia significativa entre los tratamientos durante las 6 semanas de experimentación, pero se puede observar que en la sexta semana hubo una disminución en el promedio en todos los tratamientos, con excepción al control negativo (sin pigmento). La disminución fue de menor grado en la dieta con jabón acidulado de 30 ppm de carotenoides (Jabón 3B). En la primera semana se muestra un consumo bajo en los tratamientos con Carophyll-yellow de 20 y 25 ppm de carotenoides comparado con otros tratamientos. En la segunda semana hay un aumento de consumo en todos los tratamientos y en las siguientes semanas, se observa una leve variación.

La producción promedio de huevos por semana se muestra en el cuadro 7. El rango de producción se encontró entre 42 y 58 huevos por semana. No hubo diferencia significativa entre tratamientos durante cada semana. Pero si hubo diferencia significativa ($P < 0.05$) entre semanas en los tratamientos de jabón acidulado con 20, 25 y 30 ppm de carotenoides. La diferencia se debe a que en la primera semana se produjo el promedio más bajo de huevos comparado con las semanas posteriores.

Cuadro 6: Consumo promedio de alimento por semana (Kg)*

Tratamiento	Semana					
	1	2	3	4	5	6
Carophyll 1A	7.72±0.20	8.25±0.50	8.26±0.10	8.08±0.10	7.78±0.20	7.71±0.20
Carophyll 2A	7.80±0.70	8.20±0.50	8.24±1.00	8.48±0.40	8.11±0.60	7.32±0.80
Carophyll 3A	8.00±0.80	9.03±0.20	8.14±0.90	8.21±1.10	8.11±1.20	7.63±0.80
Jabón 1B	8.31±0.30	9.47±0.60	8.93±0.60	9.03±0.40	8.38±1.00	7.43±0.60
Jabón 2B	8.60±0.70	8.76±0.70	8.95±0.70	8.36±0.30	8.32±0.40	7.56±0.10
Jabón 3B	8.36±0.30	8.87±0.60	8.78±0.20	8.35±0.10	8.40±0.10	8.21±0.03
Aceite Crudo 1C	8.41±0.30	8.69±0.10	8.32±0.50	8.77±0.40	7.90±0.80	7.88±0.03
Sin Pigmento 1D	8.22±0.30	9.04±0.30	8.83±0.80	8.90±0.60	7.62±0.30	7.67±0.40

* Promedio de dos réplicas D.E.

Cuadro 7: Número promedio de huevos* ovopositados por tratamiento por semana

Tratamiento	Semana					
	1	2	3	4	5	6
Carophyll 1A	49±0.0	52±8.5	57±0.7	53±2.1	57±0.0	54±1.4
Carophyll 2A	50±1.4	54±4.2	54±6.4	56±2.8	56±5.7	55±5.7
Carophyll 3A	49±6.4	50±4.2	49±0.7	51±1.4	54±2.8	54±3.5
Jabón 1B	46±1.4	52±0.0	54±4.9	55±0.0	56±1.4	54±2.1
Jabón 2B	46±1.4	52±1.4	57±0.7	56±0.7	57±1.4	56±2.8
Jabón 3B	47±0.7	54±1.4	58±2.1	54±0.0	56±2.1	55±0.7
Aceite Crudo 1C	42±6.4	48±8.5	57±6.4	54±3.5	52±0.7	51±0.7
Sin Pigmento 1D	48±0.7	56±1.4	56±4.2	57±0.7	57±3.5	54±1.4

* El promedio de huevos producidos de 2 réplicas±D.E.

El cuadro 8 muestra el peso promedio de huevos por semana con un rango de peso promedio de 55 a 61 gramos. No hubo diferencia significativa entre los tratamientos durante cada semana. El tratamiento con jabón acidulado de 25 ppm de carotenoides fue el único que mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) entre semanas.

En los cuadros 9 y 10 se observan los promedios con sus desviaciones estándar del color de yema evaluada por el abanico y espectrofotómetro, respectivamente. Las evaluaciones se iniciaron hasta la segunda semana, debido a que la primera semana fue para la adaptación de las gallinas a los tratamientos y a los apartados.

El cuadro 9 muestra la evaluación de color de yema con el abanico Hoffmann-La Roche. Se observó un rango en valores de 2.3 a 12.4. Hubo diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos durante las semanas así como diferencias entre semanas para los tratamientos de Carophyll 1A, Jabón 1B, 2B, 3B, Aceite Crudo 1C y Sin pigmento 1D. A todos los tratamientos se les aplicó la prueba de Tukey para la comparación de medias y se resume con las letras minúsculas a,b,c,d,e. En general, los tratamientos con Carophyll presentaron los valores más altos de color de yema, mientras que los tratamientos con jabón acidulado y aceite crudo presentaron los siguientes mejores valores promedios de color. El control sin pigmento mostró los promedios más bajos durante todas las semanas. En el aceite crudo, se puede observar un aumento en el promedio en la cuarta semana. Esto se debe a que se aumentó la cantidad de aceite 1.5% más de la cantidad inicial. El valor promedio llega a ser mayor o similar al tratamiento con jabón acidulado con 30 ppm de carotenoides.

La evaluación de color de yema por medio del método espectrofotométrico

Cuadro 8: Peso promedio en gramos* de huevos ovopositados por tratamiento por semana

Tratamiento	Semana					
	1	2	3	4	5	6
Carophyll 1A	57±0.7	58±1.4	59±2.1	59±1.4	60±2.1	60±1.4
Carophyll 2A	56±1.4	57±0.7	58±0.7	58±0.3	59±0.7	59±0.7
Carophyll 3A	56±2.8	58±2.8	59±2.8	60±3.5	60±3.5	61±4.2
Jabón 1B	55±1.4	57±1.4	59±1.4	60±2.1	60±0.7	60±1.4
Jabón 2B	56±0.0	58±0.7	58±0.0	59±0.7	59±0.0	60±0.7
Jabón 3B	56±1.4	59±2.1	60±1.4	61±0.7	60±0.7	61±0.7
Aceite Crudo 1C	56±2.1	57±2.1	59±2.8	59±0.0	59±2.1	60±0.7
Sin Pigmento 1D	56±1.4	58±1.4	59±0.7	59±0.7	59±0.7	59±0.0

* Peso promedio de dos réplicas±D.E.

Cuadro 9: Evaluación de color de yema de huevo en el abanico de color Hoffmann-La Roche*

Tratamiento	Semana					
	2	3	4	5	6	
Carophyll 1A	9.7±1.5a**	11.3±0.8ab	10.5±1.2a	11.1±1.2b	11.2±0.8b	
Carophyll 2A	10.9±1.4ab	11.1±1.4ab	11.0±1.3a	11.9±1.4ab	12.1±1.0a	
Carophyll 3A	11.9±0.7b	12.0±0.9a	11.9±1.0a	12.4±0.8a	12.3±1.3a	
Jabón 1B	4.3±0.6c	5.1±0.7c	4.7±0.8b	5.2±0.4c	5.5±0.5c	
Jabón 2B	3.6±0.6c	4.7±0.6c	4.5±0.9b	4.7±0.8c	5.0±0.8c	
Jabón 3B	3.6±1.1c	4.6±0.9cd	5.0±0.8b	5.5±0.6c	5.0±0.8c	
Aceite Crudo 1C	3.5±1.2d	4.0±0.9de	5.4±0.5b	5.4±1.0c	5.1±1.0c	
Sin Pigmento	2.3±1.2d	2.9±1.0c	2.3±1.2c	3.4±1.5d	2.5±0.6d	

* Promedio de 15 yemas ± D.E.

**Resumen de la Prueba de Tukey, el cual muestra diferencias significativas entre los tratamientos comparando las medias.

Valor obtenido del huevo comercial: 7.9±0.99

co de la A.O.A.C. se observa en el cuadro 10. El rango se encuentra entre 1.8 a 107.3ug de β -caroteno/g yema. Hubo diferencia significativa entre los tratamientos durante la semanas ($P < 0.05$). Así también, hubo diferencias significativas (altamente significativas, $P < 0.01$) entre semanas en los tratamientos con jabón acidulado para obtener niveles de 20, 25 y 30 ppm de carotenoides. En el tratamiento Jabón 1B (20 ppm de carotenoides) el valor promedio fue menor en la segunda semana, luego alcanza el máximo valor la quinta semana para volver a disminuir la última semana. Lo mismo ocurre con el tratamiento Jabón 2B. En el tratamiento Jabón 3B se observa un aumento que llega a nivelarse en la quinta y sexta semana.

Si se compara las evaluaciones del color de la yema de huevo correspondientes a los tratamientos con jabón acidulado y aceite crudo por el abanico de color (cuadro 9) y por espectrofotometría (cuadro 10), los valores son similares entre sí. Con la Prueba de Tukey para la comparación de medias se puede observar que los mejores tratamientos para color de yema son los de Carophyll-yellow. Con la misma prueba también se observa que no existe diferencia significativa entre los controles sin pigmento y los grupos experimentales (Jabón acidulado y Aceite Crudo). Pero sí se presenta una diferencia en los promedios de valores mínimos de 2 ug de β -caroteno/g de yema a un valor máximo de 3 ug de β -caroteno/g de yema.

El cuadro 11 presenta la concentración de carotenoides y vitamina A en los hígados de las gallinas. Se observa que la concentración de carotenoides son muy variables para las réplicas de los tratamientos de Carophyll 3A y Jabón 3B. Los tratamientos con aceite crudo y sin pigmento tienen valores entre réplicas muy similares. Los valores del tratamiento con aceite crudo y sin pigmento tienen valores entre réplicas muy similares. Los valores del tratamiento con

Cuadro 10: Evaluación del color de la yema de huevo de Beta-caroteno/(ug de Beta-caroteno/g yema)*

Tratamiento	Semana					
	2	3	4	5	6	
Carophyll 1A	52.6±12.5b	74.2±10.4a	68.9±11.2b	76.4±23.4b	69.4± 8.9b	
Carophyll 2A	73.9± 9.5a	74.1± 8.1a	88.7± 9.4ab	90.6±11.8ab	80.9± 7.0ab	
Carophyll 3A	76.6± 3.1a	93.6±15.6a	105.4±24.0a	107.3±11.4a	88.7±11.9a	
Jabón 1B	3.3± 0.2c	5.1± 0.4b	5.4± 0.6c	9.9± 4.1c	3.4± 0.3c	
Jabón 2B	4.5± 0.5c	3.2± 0.7b	5.6± 1.3c	5.7± 0.8c	4.9± 0.5c	
Jabón 3B	4.4± 0.3c	4.4± 1.3b	5.3± 0.8c	6.3± 1.3c	6.4± 0.2c	
Aceite Crudo 1C	5.3± 0.9c	6.4± 1.6b	4.9± 1.5c	6.2± 2.6c	6.4± 1.2c	
Sin Pigmento 1D	3.1± 0.4c	2.6± 0.6b	1.8± 0.3c	2.9± 1.1c	2.8± 0.3c	

* Promedio de 3 réplicas±D.E.

a, b, c, muestran las diferencias significativas en color según la prueba de Tukey.

Valor obtenido del huevo comercial: 5.9±0.88 ug B-caroteno/g

yema.

Cuadro 11: Concentraciones de carotenoides y vitamina A en los hígados de gallinas sacrificadas al final de las 6 semanas de experimentación.

Tratamiento	# de réplica	Concentración de carotenoides (ug carot/g hig.)	Concentración de Vitamina A (ug. retinol/g hig.)
Carophyll 3 A	1	10.1	232.2
	2	6.1	149.8
Jabón 3B	1	1.7	105.1
	2	12.5	418.1
Aceite Crudo			
IC	1	8.1	365.8
	2	9.9	447.7
Sin Pigmento			
ID	1	1.8	297.3
	2	2.0	285.6

aceite crudo se aproximan a 9 ug de carotenoides/g de hígado y los del tratamiento sin pigmento se acercan a 2 ug de carotenoides/g de hígado. Los valores obtenidos de vitamina A para los tratamientos con Carophyll 3A y Sin Pigmento ID son muy similares aunque los valores del tratamiento de Carophyll 3A son menores que a los del tratamiento Sin Pigmento ID. Los tratamientos de Jabón 3B y Aceite Crudo 1C presentan valores mayores de vitamina A. Los hígados eran bastante amarillos y frágiles comparados con los hígados de los tratamientos con Carophyll 3A y el Control, los cuales presentaban hígados rosados y de una textura consistente. En todas las aves sacrificadas se encontró tejido adiposo amarillento. En una réplica del Aceite Crudo 1C y una de Carophyll 3A se encontró un riñón más grande de lo normal. En la otra réplica del Carophyll 3A había una vesícula más grande de lo normal. En una réplica del tratamiento Jabón 3B se encontró un hígado con pequeñas perforaciones al cual, le corresponde el valor más alto de carotenoides(12.5 ug de carotenoides/g de hígado).

VI. DISCUSION

En la primera semana de experimentación se observó un bajo consumo de alimento debido al cambio de ambiente que sufrieron las gallinas ya que inicialmente estaban alojadas en un compartimiento común por aproximadamente 11 semanas antes de ser reagrupadas en los apartados. Los animales son muy sensibles a cambios y como una posible consecuencia hubo producción de huevos con cáscara suave y una disminución en su consumo de alimento.

En la última semana también se muestra una baja en el consumo de alimento y producción de huevos. Entre los posibles factores que pudieran haber causado el bajo consumo está un cambio brusco en la temperatura, posiblemente a un aumento ya que el ensayo terminó en el mes de marzo. La baja en la producción de huevos en la última semana probablemente se debió a que las gallinas alcanzaron cierta etapa en su producción en la cual empieza a descender la cantidad de huevos ovopositados. Para esta época las gallinas cumplían 37 semanas y 3 días. Según la Guía de Manejo para la producción de huevos de la Starcross 288(1985), hay a esta edad un descenso en la postura, pero era mayor a la que se obtuvo con estas gallinas, ya que se trabajó con gallinas coloradas en el presente estudio y la guía hace referencia a gallinas blancas. Se observa que a 37 semanas de edad el porcentaje de producción de la gallina blanca es del 89.8% mientras que en este estudio se mostró un 86% de producción.

Las yemas de huevos provenientes de tratamientos con jabón acidulado y aceite crudo eran aparentemente más frágiles comparadas con las yemas del control sin pigmento y tratamientos con Carophyll-yellow. Es posible que las yemas fueron afectadas por el exceso de grasas incluidas en las dietas. Las gallinas tienen únicamente tres vías de disponer del exceso de grasa: 1) depositarla

en el tejido adiposo de la misma gallina, 2) depositarla en la yema y 3) oxidarla para energía (Ewing, 1963). Como se refieren en los antecedentes, la composición de ácidos grasos en la dieta tienen cierta influencia en los ácidos grasos del huevo. El aceite de palma africana tiene el 45.5% de ácido palmítico del total de ácidos grasos pero no influye en los ácidos grasos de la yema. Existen también, altos porcentajes de los ácidos grasos insaturados oleico (34.6%) y linoleico (11.81%) los cuales influyen en la composición de ácidos grasos de la yema. Puede ser que los niveles altos de estos ácidos grasos insaturados u otros componentes del aceite crudo o jabón acidulado de palma causen un cambio en las características de la yema de huevo.

Comparando los pesos promedios con el cuadro 1 presentado en antecedentes, los pesos promedios se categorizan en Mediano para Guatemala y Grande para los E.E.U.U. Se observa que conforme pasaron las 6 semanas hay un aumento en peso en todos los tratamientos. Sin embargo, el tratamiento sin pigmento y el de Carophyll 2A alcanzaron un promedio máximo de 59 g mientras que todos los otros tratamientos aumentaron 1 a 2 gramos más. Probablemente el aumento en peso promedio se deba más a la edad de las gallinas que a la fuente de pigmento. En todo caso, en lo único que pudo haber contribuido el aceite crudo y el jabón acidulado es aumentar al peso con mayor rapidez que en los tratamientos con Carophyll-yellow.

El color de yema analizada con el abanico muestra una diferencia muy grande entre los valores obtenidos para los tratamientos con Carophyll-yellow y los tratamientos experimentales (jabón acidulado y aceite crudo). Posiblemente las concentraciones usadas de Carophyll-yellow son muy altas para huevos comerciales y más adecuadas a la elaboración de pastas u otros productos de la industria alimenticia. Se realizó un análisis de color de yema con el abanico y

espectrofotométrico de una docena de huevos adquiridos al azar en pequeñas tiendas del vecindario para obtener una idea general del color de yema consumida por la población Guatemalteca. El valor promedio en el abanico de color era de 7.9 ± 0.9 como se observa en el cuadro 12. El valor más cercano fue el de 9.7 ± 1.5 obtenido en la segunda semana en el tratamiento Carophyll 1A(20 ppm de carotenoides). El valor más cercano de los tratamientos experimentales fue el Jabón 1B(20 ppm de carotenoides) de la última semana, con un valor de 5.5 ± 0.5 . Como se puede observar, ambos valores son los niveles más bajos de carotenoides y ambos tienen una diferencia de ± 2 con el valor promedio obtenido de los huevos comerciales.

El nivel más bajo de carotenoides(20 ppm) de los tratamientos presenta los valores más altos de color evaluados por el abanico en la segunda, tercera y sexta semana. Puede suponerse que se aprovechan mejor los niveles bajos de carotenoides para la pigmentación de la yema de huevo que los niveles altos. Lo anterior, concuerda con resultados obtenidos por Brambila et al.(1963). Sin embargo, se ha comprobado que el uso de fuentes lípidicas de carotenoides permite una mejor deposición de pigmentos en la yema(Mackay et al. 1963). Además, se ha demostrado que el contenido de carotenoides en la dieta y el valor del color de la yema en el abanico no es lineal. Los efectos de coloración alcanzan un límite, que aunque se adicione más pigmento a la dieta, el aumento del color de la yema es mínimo. Este límite se encuentra en la región del valor 8 en el abanico(ROCHE, 1974).

En la evaluación de color de la yema por el método espectrofotométrico, se presentan niveles mucho mayores de carotenoides en los tratamientos con Carophyll-yellow que en los tratamientos con jabón acidulado y aceite crudo de palma africana. Según los resultados de la prueba de Tukey, no existe diferen-

cia estadísticamente significativa entre los valores de los tratamientos experimentales con el control sin pigmento (Véase cuadro 10). Posiblemente la prueba no es lo suficiente sensible a los datos. Al comparar los cuadros 9 y 10 el contenido de carotenoides por espectrofotometría no coincide exactamente con el valor del abanico en los tratamientos con Carophyll-yellow. El contenido de pigmento de la yema puede ser mayor o menor sin afectar necesariamente el valor del abanico. Igualmente, yemas con contenidos básicamente idénticos de pigmentos pueden tener un valor mayor o menor en el abanico de acuerdo a si el componente luteína (amarillo limón) o el componente zeaxantina (amarillo dorado) predominan en el contenido total de pigmentos (ROCHE, 1974).

Comparando los valores de carotenoides en los huevos comerciales con los grupos experimentales se observa que los comerciales tienen un promedio de 5.93 ± 0.88 ug de β -caroteno/g de yema y se encuentran valores semejantes en las últimas semanas en los tratamientos de Jabón 3B y Aceite Crudo 1C.

Al final del período de experimentación se sacrificaron ocho gallinas de tratamientos con el nivel más alto de carotenoides (30 ppm), el de aceite crudo y el control sin pigmento, para determinar si los niveles de grasa y pigmentos influían en algún aspecto del metabolismo de la gallina. El hígado es un órgano que funciona no sólo en el metabolismo de grasas sino que también, en el almacenamiento de carotenoides en especial, los carotenos provitamina A. Como se esperaba, el control sin pigmento y el Carophyll 3A tenían concentraciones muy similares de vitamina A. Variaban los valores en un rango de 149.8 - 297.3 ug de retinol/g de hígado. Las concentraciones para Jabón 3B y Aceite Crudo variaban entre 105.1 - 447.7 ug de retinol/g de hígado. Las variaciones encontradas en los valores obtenidos de carotenoides y de vitamina A pueden deberse a 1) los hábitos de ingesta individual de las aves, 2) diferencias en el

Cuadro 12: Análisis visual y espectrofotométrico de una docena de huevos comerciales

réplica	# de huevo	color en abanico Hoffman-La Roche	ug de B-caroteno g de yema
	1	10	
	2	7	6.51
1	3	9	
	4	8	
	5	8	
	6	8	6.36
2	7	6	
	8	8	
	9	8	
	10	8	4.92
3	11	7	
	12	8	
		7.9±0.9 *	5.93±0.88*

*Promedio ± D.E.

metabolismo de cada ave y 3) el tiempo que pasaron(12 semanas) los hígados almacenados(Véase metodología) antes de su análisis.

En ningún momento se manifestaron síntomas, como diarrea, que indicaran que los altos niveles de grasas(mayores que el 6%), estuvieron causando daños fisiológicos en las gallinas. Al sacrificar las 8 gallinas se pudo observar pequeñas perforaciones hepáticas y áreas hemorrágicas en gallinas de tratamientos con jabón acidulado y aceite crudo. Además, la consistencia de los mismos hígados era suave y frágil.

Otra observación acerca de las dietas con jabón acidulado y aceite crudo de palma africana fue que no hubo ningún enranciamiento. Aparentemente, los altos niveles de tocoferoles protegieron los ácidos grasos de la oxidación. En la cuarta y quinta semana se agregó BHT(1.004 g/25 kg de alimento) a los tratamientos con jabones acidulados y aceite crudo, pero no se observó ningún cambio o efecto sobre las gallinas ni sobre la ración.

Desde el punto de vista nutricional, el aceite de palma tiene mucho que ofrecer. Es una buena fuente de ácidos grasos esenciales, de vitamina E en forma de tocoferoles, de vitamina A en forma de α , β y γ carotenos y en pigmentos como licopeno y xantofilas(Cornelius, 1977). Todos estos compuestos se podrían aprovechar para la nutrición de animales domésticos y el humano.

VII. CONCLUSIONES

1. Los carotenoides provenientes del jabón acidulado y del aceite crudo de la palma africana, *Elais guineensis* var. *tenera* tienen una capacidad pigmentante visual del 41% de la capacidad del Carophyll-yellow.
2. El color de la yema alcanza su máximo color visual después de la tercera semana con el jabón acidulado y aceite crudo, mientras que el Carophyll-yellow sobrepasa el mismo valor de color en la segunda semana de experimentación.
3. No hay efectos significativos en la producción promedio de huevos, peso promedio de los huevos y consumo de alimento.
4. Hay una tendencia a altas concentraciones de carotenoides y vitamina A en hígados de gallinas recibiendo dietas con altos niveles de jabón acidulado y aceite crudo y éstos pueden considerarse tóxicos para el ave.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Estudiar los efectos de diferentes niveles de jabón acidulado y aceite crudo de palma sobre los niveles de ácidos grasos en la yema de huevo e hígado del ave.
2. Estudiar la posibilidad de complementar el pigmento comercial con los jabones acidulados y el aceite crudo de palma africana y determinar los costos de la complementación de dichas fuentes de pigmentos para su utilización en la industria avícola.
3. Determinar la toxicidad de los compuestos presentes en el aceite crudo y jabón acidulado de la palma africana en aves y/o ratas.
4. Estudiar la capacidad provitamínica A del aceite crudo y el jabón acidulado de la palma para su utilización en animales domésticos y humanos.

IX. LITERATURA CITADA

1. Arriaga, E.A. 1985. Cuantificación de carotenoides en el aceite de palma y en los desechos de su refinamiento. Trabajo de investigación presentado para optar al grado académico de Licenciado en Química. Universidad del Valle de Guatemala. 94 pp.
2. Brambila, S., J.A. Pino y C. Mendoza. 1963. Studies with a natural source of xanthophylls for the pigmentation of egg yolks and skin in poultry. *Poultry Science* 42(2): 294-300.
3. Budowski, P., I. Ascarelli, J. Gross, I. Nir y A. Bondi. 1964. Vitamin A activity of acidulated soapstocks in chicks. *Journal of the Oil Chemical Society* 41:441-445.
4. Cornelius, J.A. 1977. Palm oil palm kernel oil. *Prog. Chem. Fats and other Lipids*. Pergamon Press, Great Britain 15: 5-27.
5. Couch, J.R. y F.M. Farr. 1969. Canthaxanthin and B-apo 8' -carotenal as feed additives for increasing egg yolk pigmentation. *Poultry Science* 48(3): 1377-1378.
6. Ewing, W.R. 1963. *Poultry nutrition*. 5a. ed. The Ray Ewing Co. Division of Hoffman-La Roche. Pasadena, California. U.S.A. 1475 pp.
7. Fennema, O.R.(Ed.) 1976. *Principles of food science: part I food chemistry*. Marcel Dekker, Inc. New York. 791 pp.
8. Fletcher, D.L. y H.R. Halloran. 1981. An evaluation of a commercially available marigold concentrate and paprika oleoresin on egg yolk pigmentation. *Poultry Science* 60(8): 1846-1853.
9. Forsythe, R.H. 1958.. Report on color in eggs. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemistry* 41: 274-276.

10. Garlich, J.D., D.M. Bryante, H. Covington, D. Camblee y A Purcell. 1974. Egg yolk and broiler pigmentation with sweet potatoe vine meal. *Poultry Science* 53(2): 693-699.
11. Horwitzm, W.(Ed.). 1980. *Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists*. 13a. ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C. pp. 275, 230-231.
12. Hencken, H. 1982. Influencia de diversas xantofilas y del entorno en la pigmentación de pollos de engorde. *Animal Nutrition Events*. F. Hoffman-La Roche & Co., Basel, Suiza.
13. Jensen, A. 1963. The effect of seaweed carotenoids on egg yolk coloration. *Poultry Science* 42(4): 912-916.
14. Lipstein, B., S. Bornstein y P. Budowski. 1967. Byproducts of the refining of soybean oil as pigment sources for poultry. *Poultry Science* 46: 627-638.
15. Livingston, A.L., D. Kuzmicky, R.E. Knowles y G. Kohler. 1970. The nature and deposition of the carotenoids from alfalfa and corn gluten meal in chicken skin. *Poultry Science* 49(6): 1678-1683.
16. Mackay, E., G.H. Mountney y E.C. Nabor. 1963. Yolk color resulting from different levels of paprika extract in the ration. *Poultry Science* 42(1): 32-36.
17. Marusich, W. y J.C. Bauerfeind. 1970a. Oxycarotenoids in poultry pigmentation: 1. Yolk Studies. *Poultry Science* 49(6): 1555-1566.
18. Marusich, W. y J.C. Bauerfeind. 1970b. Oxycarotenoids in poultry pigmentation: 2. Broiler Studies. *Poultry Science* 49(6): 1567-1579.
19. Marusich, W., E. de Ritter y J.C. Bauerfeind. 1960. Evaluation of carotenoid pigments of coloring egg yolks. *Poultry Science* 39: 1338-1345.

20. Maynard, L.A. y J.K. Loosli. 1962. Animal Nutrition. 5a. ed. McGraw-Hill Book Co., Inc. New York. pp. 448-449.
21. McGilvery, R.W. 1970. Biochemistry a functional approach. W.B. Saunders Co., Philadelphia. 641 pp.
22. Moraleda, P. 1971. Pigmentation of table poultry. Animal Nutrition Events. F. Hoffman-La Roche & Co., Basel, Suiza.
23. Morrison, F.B. 1959. Feeds and feeding. 22a. ed. The Morrison Publishing Co., Clinton, Iowa. pp. 930-931.
24. Olson, J.A. 1979. A simple dual assay for vitamin A and carotenoids in human liver. Nutrition Reports International 19: 807.
25. Smith, I.D. y H.S. Perdue. 1966. Isolation and tentative identification of the carotenoids present in chicken skin and egg yolks. Poultry Science 45: 577-580.
26. Tejada, R. 1985. Material didáctico para el curso de Avicultura en la Universidad del Valle de Guatemala (fotocopias).
27. Titus, W.H. y J.C. Fritz. 1971. The scientific feeding of chickens, 5a. ed. The Interstate Printers & Publishers, Inc. Danville, Illinois, U.S.A. 313 pp.
28. Weber, R.(Ed.) 1965. The biochemistry of animal development: descriptive biochemistry of animal development. Vol. I. Academic Press, New York, U.S.A. 648 pp.
29. Wildfeuer, I. y L. Acker. 1967. The effect of adding carotenoids to the feed on the color of chicken egg yolks. Zeitschiffür Lebensmittel-Untersuchung und forschung 133(6): 341-352.
30. Williams, W.P., R.E. Davies y J.R. Couch. 1963. The utilization of carotenoids by the hen and chick. Poultry Science 42(3): 691-699.

31. -----, 1974. 2a. ed. Egg yolk pigmentation with Carophyll. F. Hoffman-La Roche & Co. Ltd. Basel, Suiza.
32. -----, 1985. Starcross 288 guía de manejo para la producción de huevos. Shaver Poultry Breeding Farms Limited, Canada. 33 pp.
33. -----, 1956. U.S. weight classes for consumer grades for shell eggs. Egg grading manual, Agricultural Handbook No. 75 U.S. Department of Agriculture.
34. -----, -----, Pigmentación de las aves de carne con carophyll. F. Hoffman-La Roche & Co. Ltd. Basel, Suiza.

APENDICE A

EXTRACCION DE CAROTENOIDES DE ACEITE Y JABONES
DE PALMA AFRICANA

(Adaptación de Davies 1976 en Arriaga 1985)

1. Se pesa en triplicado, aproximadamente 1 gramo de aceite derretido en baño de maría. Se disuelve en 25 ml. de éter dietílico destilado. En el caso de los jabones, se pesan 5 gramos y se disuelven en 50 ml. de agua destilada.
2. Se burbujea nitrógeno por 10 minutos en obscuridad.
3. Se adicionan 8 ml. de KOH al 60% peso/peso. Se continua burbujeando nitrógeno.
4. Se calienta en baño de maría de agua hirviendo por 10 minutos. Se continua burbujeando nitrógeno.
5. Se adicionan 75 ml. de agua destilada y se continua burbujeando nitrógeno mientras se enfría el material.
6. Se transvasa el material a una ampolla de decantación de 200 ml. y se extrae con 25 ml. de éter dietílico(destilado). Se debe adicionar etanol al 95% para disolver emulsiones.
7. Se separa la fase etérea y la fase acuosa. Se vuelve a extraer dos veces con porciones de 25 ml. de éter dietílico.
8. Se lava la fase etérea con 2 porciones de agua destilada (30 ml.), luego se pone a secar media hora sobre sulfato de sodio anhidro(Fisher).

9. Se filtra el extracto en papel filtro ordinario (filtrado rápido) y se rotoevapora hasta 25 o 10 ml según el nivel de carotenoides.
10. Se afora con éter dietílico destilado.
11. Se determina la concentración de carotenoides haciendo una curva estándar con β -caroteno. Se lee la absorbancia a una longitud de onda de 451 nm.

APENDICE B

CALCULOS PARA LA ELABORACION DE LOS TRATAMIENTOS

En base a un consumo de 198.4 g/día/gallina y teniendo 18 gallinas por tratamiento durante 42 días, se tendrá un consumo total por fase de:

$$198.4 \text{ g/día} \times 42 \text{ días} \times 18 \text{ gallinas} = 150.0 \text{ kg de alimento.}$$

Los niveles a usar son: 20, 25 y 30 ppm. El total de carotenoides a adicionar por tratamiento son:

1. $150.0 \text{ kg de alimento} \times 20 \text{ mg carotenoides/kg de alimento} = 3000 \text{ mg de carotenoides}$
2. $150.0 \text{ kg de alimento} \times 25 \text{ mg carotenoides/kg de alimento} = 3750 \text{ mg de carotenoides}$
3. $150.0 \text{ kg de alimento} \times 30 \text{ mg carotenoides/kg de alimento} = 4500 \text{ mg de carotenoides}$

El total de carotenoides necesarios son: 11250 mg.

Preparación de Dietas

- A. Tratamientos con Carophyll-yellow al 10%. Cálculo de cantidad de carophyll a adicionar:

20 ppm:

$$3000 \text{ mg carot.} \times 100 \text{ mg carophyll/10 mg de carot.} = 30.0 \text{ g de carophyll.}$$

25 ppm:

$$3750 \text{ mg carot.} \times 100 \text{ mg carophyll/10 mg carot.} = 37.5 \text{ g de carophyll}$$

30 ppm:

$4500 \text{ mg carot.} \times 100 \text{ mg carophyll}/10 \text{ mg carot.} = 45.0 \text{ g de carophyll}$

B. Tratamientos con jabón acidulado

Cálculo de nivel de carotenoides en base a jabón acidulado seco:

-réplicas:

208.75 ppm

233.50 ppm

-promedio: 221.13 ppm

-Humedad presente en jabón acidulado:

-réplicas: 10.6%

12.40%

-promedio: 11.53%

Cálculo por niveles:

20 ppm:

$3000 \text{ mg carot.} \times \text{kg jabón ac.}/221.13 \text{ mg carot.} = 13.57 \text{ kg de jabón ac. seco}$

% de jabón ac. en la dieta: $13.57 \text{ kg}/150 \text{ kg de alimento} \times 100 = 9.04\%$

Como se dispone de jabón acidulado húmedo, se debe pesar:

$13.57 \text{ kg jabón ac. seco} + (13.57 \times 0.1135) = 15.13 \text{ kg de jabón acidulado húmedo.}$

Es decir que para preparar 150.0 kg de dieta se necesitan 15.13 kg de jabón acidulado húmedo. En este estudio se prepararon 25 kg de dieta/semana entonces se pesó:

$15.13 \text{ kg de jabón ac. húmedo}/150.0 \text{ kg de dieta} \times 25 \text{ kg de dieta} = 2.52 \text{ kg de jabón ac. húmedo.}$

25 ppm:

$3750 \text{ mg carot.} \times \text{kg jabón ac.} / 221.13 \text{ mg carot.} = 16.96 \text{ kg de jabón ac. seco}$

% de jabón ac. en la dieta: $16.96 \text{ kg jabón ac. seco} / 150.0 \text{ kg de dieta} \times 100 = 11.31\%$

Como se dispone de jabón acidulado húmedo, se debe pesar:

$16.96 \text{ kg jabón ac. seco} + (16.96 \times 0.1153) = 18.92 \text{ kg de jabón ac. húmedo.}$

Es decir, para preparar 150.0 kg de dieta se necesitan 18.92 kg de jabón ac. húmedo. En este estudio se prepararon 25 kg de dieta/semana entonces se pesaron:

$18.92 \text{ kg de jabón ac. húmedo} / 150.0 \text{ kg de dieta} \times 25 \text{ kg de dieta} = 3.15 \text{ kg de jabón ac. húmedo.}$

30 ppm:

$4500 \text{ mg carot.} \times \text{kg jabón ac.} / 221.13 \text{ mg carot.} = 20.35 \text{ kg de jabón ac. seco.}$

% de jabón acidulado en la dieta: $20.35 \text{ kg jabón ac. seco} / 150.0 \text{ kg de dieta} \times 100 = 13.57\%$.

Se disponía de jabón acidulado húmedo entonces se pesó:

$20.35 \text{ kg jabón ac. seco} + (20.35 \times 0.1153) = 22.69 \text{ kg de jabón ac. húmedo.}$

Para preparar 150.0 kg de dieta se necesitan 22.69 kg de jabón acidulado húmedo. Como se prepararon 25 kg de dieta en este estudio se pesó:

$22.69 \text{ kg jabón ac. húmedo} / 150.0 \text{ kg de dieta} \times 25 \text{ kg de dieta} = 3.78 \text{ kg de jabón ac. húmedo.}$

C. Tratamiento con aceite crudo de palma africana(1 nivel: 25 ppm)

Nivel de carotenoides en el aceite crudo de palma africana:

réplicas: 541 ppm

556 ppm

promedio: 548.5 ppm

Cantidad de aceite a usar para 25 ppm:

$25 \text{ mg/kg de dieta} \times 1 \text{ kg de aceite} / 548.5 \text{ mg carot.} \times 150.0 \text{ kg de dieta} = 6.84 \text{ kg de aceite crudo de palma africana.}$

Es decir, para 150.0 kg de dieta se necesitan 6.84 kg de aceite. En este estudio se utilizaron 25 kg de dieta por semana, entonces se pesaron:

$6.84 \text{ kg de aceite} / 150.0 \text{ kg de dieta} \times 25 \text{ kg de dieta} = 1.14 \text{ kg de aceite crudo.}$

COMENTARIOS

1. Se trabajó con los valores promedios de nivel de carotenoides y humedad de los jabones considerándose como réplicas cada uno de los toneles que los contienen. Se recomienda que se pesen cantidades iguales y suficientemente homogenizadas de cada tonel para poder aplicar los cálculos correctamente.
2. El aceite de palma a temperatura ambiente es sólido por esto, se calculó en Kilogramos de aceite.
3. El porcentaje de jabones en la dieta es alto para mantener los niveles establecidos de carotenoides. Los porcentajes de jabones acidulados húmedos en las dietas son:

20 ppm:

$2.52 \text{ kg jabón ac.} / 25 \text{ kg dieta} \times 100 = 10.08\%$

25 ppm:

$3.15 \text{ kg jabón ac.} / 25 \text{ kg dieta} \times 100 = 12.60\%$

30 ppm:

$3.78 \text{ kg jabón ac.} / 25 \text{ kg dieta} \times 100 = 15.12\%$

APENDICE C

EVALUACION DE COLOR DE YEMA SEGUN EL METODO
DE LA A.O.A.C. (1980)A. Preparación de soluciones estandar de β -caroteno

1. Solución "stock" de aproximadamente 6 ug/ml. Se pesan 5 gramos de una solución 0.03% de β -caroteno y se transfiere a un balón aforado de 250 ml. con acetona grado analítico. Luego se diluye hasta el volumen con acetona.

2. Las soluciones para la curva se hacen diluyendo las siguientes cantidades de solución "stock" con acetona en balones de 100 ml: 10 ml., 20 ml., 30 ml., 45 ml., 60 ml., y 75 ml. para dar las respectivas concentraciones de 0.6, 1.2, 1.8, 2.7, 3.6 y 4.5 ug/ml. Se utiliza acetona como blanco. Las soluciones permanecen estables por una semana en la obscuridad y bajo refrigeración.

B. Preparación de la curva estandar

1. Se determina el porcentaje de absorbancia de las soluciones diluidas estandar lo más rápido posible en un espectrofotómetro a 450 nm.

2. Se gráfica los microgramos de β -caroteno versus el porcentaje de absorbancia en papel milimetrado.

C. Determinación de color de yema

1. Se pesan 1.22 gramos de yema líquida en un beaker de 50 ml. Se adiciona 1 a 2 ml. de acetona y se agita hasta formar una pasta cremosa.

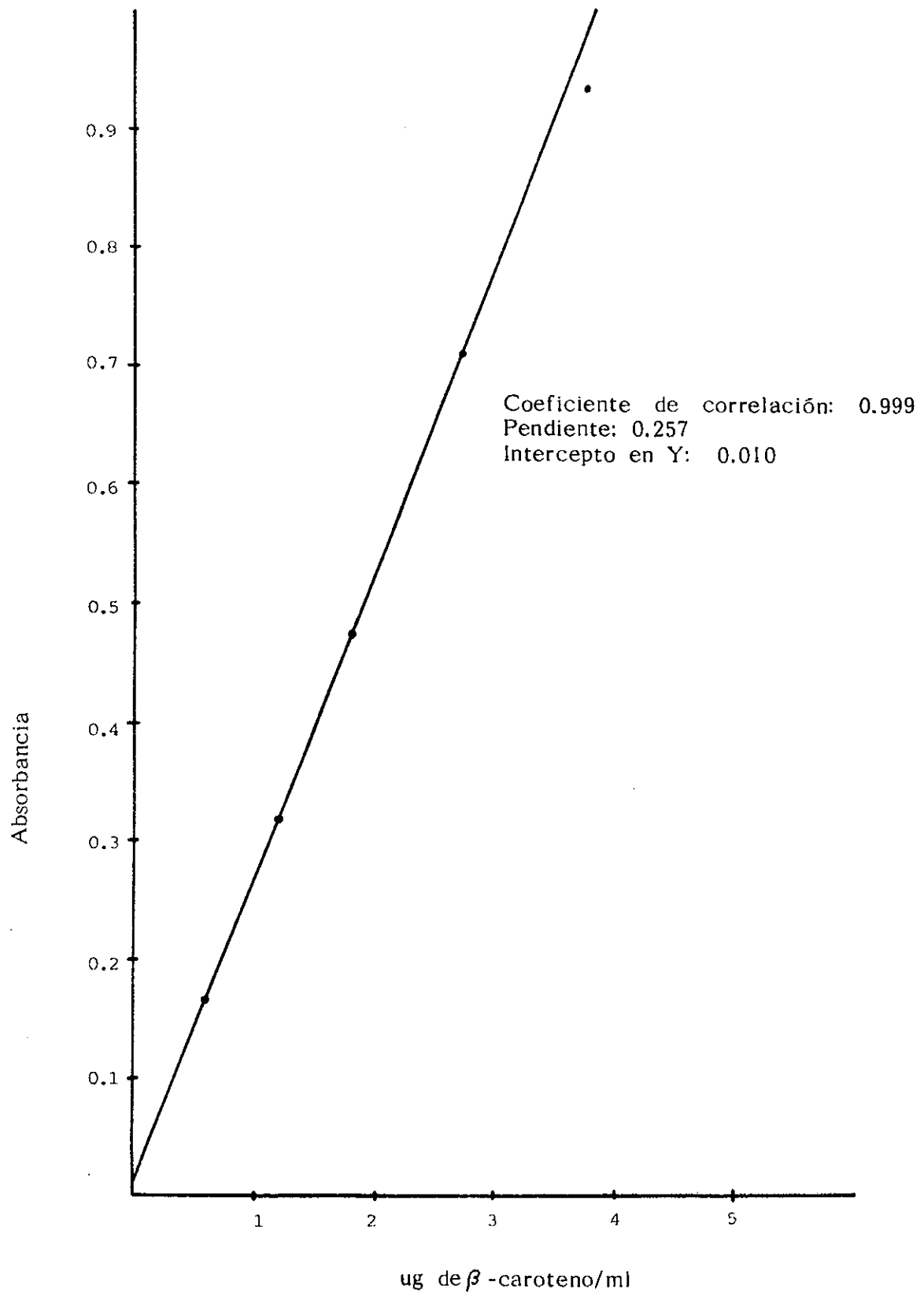
2. Se adicionan 25 ml. de acetona, se mezcla bien y se filtra en papel filtro Whatman #5 o similar, en la obscuridad.

3. Se lava el material en el papel filtro con porciones sucesivas de acetona. El filtrado se recibe en un balón de 50 ml.

4. Se diluye al volumen con acetona y se determina el porcentaje de absorbancia lo más rápido posible a 450 nm.

5. Se reporta el color de la yema en microgramos de β -caroteno/ gramo de muestra de yema.

Curva estandar para determinar la concentración de
carotenoides en la yema de huevo



APENDICE D

DETERMINACION DE CAROTENOIDES TOTALES EN HIGADOS DE GALLINAS SEGUN EL METODO DE OLSON(1979) PARA DETERMINAR CAROTENOIDES EN HIGADO DE HUMANO

MATERIALES

Balanza

Espectrofotómetro de luz visible y ultravioleta(Spectronic 21)

Erlenmeyer con tapaderas de rosca de 250 ml.

Sulfato de Sodio anhidro, grado reactivo

Micropipetas graduadas de 1 ml.

Cloroformo, grado reactivo, estabilizado con 0.75% etanol.

Etanol absoluto, grado reactivo.

PROCEDIMIENTO

Se pesa 5 gramos al 0.1 gramo más cercano en un matraz de tapadera de rosca y se agrega 12.5 gramos de sulfato de sodio anhidro. Se macera cuidadosamente el hígado con una espátula para formar una pasta viscosa. Se agrega 25 ml. de cloroformo y agitar en forma de "swirl" con el matraz bien tapado. Se cubre el matraz con papel de aluminio y se coloca en el refrigerador por una noche(8-24 horas). Al final del período de extracción, el cloroformo llega a formar una capa transparente sobre la masa residual.

Se extrae cuidadosamente 0.30 ml. de la fase clorofórmica con una micropipeta graduada y se transfiere a una cubeta de 1 cm. con 2.7 ml. de etanol. Se lee las absorbancias a 280, 330, 380 y a 450 nm.

CALCULOS

Se corrige la absorbancia a 330 nm por la siguiente fórmula:

$$A_{330} \text{ corregido} = 0.5(2.27 \times A_{330} + 0.17 \times A_{450} - A_{280} - A_{380}).$$

Entonces,

$$\text{ug de retinol/g de hígado} = \frac{\text{A330 corregido x factor de dilución}}{0.1795 \times \text{peso de muestra(g)}}$$

El valor de extinción, E de 1 cm al 1% para retinol(1850) se corrige a 1795 como resultado a un 3% de disminución en la absorbancia de ésteres de retinil en etanol. El factor de dilución en el caso anterior y en el siguiente es de 250.

Además, se puede obtener:

$$\text{ug de carotenoides/g} = \frac{\text{A450 x factor de dilución}}{\text{peso de muestra(g)}}$$

APENDICE E

RESUMEN DE ANALISIS DE VARIANZA
F CALCULADA PARA LOS 8 TRATAMIENTOS

Semana	Consumo de alimento	Producción de huevos	Peso promedio de huevo	Color de yema en abanico	Color de yema en Beta-Caroteno
1	0.76 N.S.	1.24 N.S.	0.15 N.S.	-----	-----
2	1.53 N.S.	0.53 N.S.	0.38 N.S.	187.93 **	105.67 **
3	0.55 N.S.	1.07 N.S.	0.36 N.S.	236.80 **	90.86 **
4	0.86 N.S.	2.00 N.S.	0.60 N.S.	189.45 **	58.84 **
5	0.35 N.S.	0.90 N.S.	0.22 N.S.	190.27 **	57.39 **
6	0.60 N.S.	0.66 N.S.	0.43 N.S.	300.74 **	134.54 **

N.S.: No Hay Sigificancia ($P < 0.05$)

** : Altamente significativo ($P < 0.01$), se aplicó la Prueba de Tukey.

APENDICE F

RESUMEN DE ANALISIS DE VARIANZA
F CALCULADA PARA LAS 6 SEMANAS DE ENSAYO

Semana	Consumo de alimento	Producción de huevos	Peso promedio de huevo	Color de yema en abanico	Color de yema en Beta-Caroteno
Carophyll 1A	2.28 N.S.	1.37 N.S.	1.19 N.S.	5.02 **	1.29 N.S.
2A	0.68 N.S.	0.46 N.S.	2.78 N.S.	2.34 N.S.	2.16 N.S.
3A	0.57 N.S.	0.85 N.S.	0.51 N.S.	0.82 N.S.	2.18 N.S.
Jabón 1B	2.57 N.S.	4.57 *	3.43 N.S.	6.78**	6.28 **
2B	1.64 N.S.	14.29 **	12.33 **	7.33 **	4.61 **
3B	1.55 N.S.	14.07 **	2.02 N.S.	9.83 **	3.50 *
Acete Crudo 1C	1.39 N.S.	1.92 N.S.	1.42 N.S.	12.25 **	0.54 N.S.
Sin Pigmento 1D	3.39 N.S.	4.17 N.S.	2.49 N.S.	2.66 *	2.09 N.S.

N. S.: No hay significancia ($P < 0.05$)

*: Hay significancia ($P < 0.05$), se aplicó la Prueba de Tuke.

** : Altamente significativo ($P < 0.01$), se aplicó la Prueba de Tukey.