



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA
AGRICULTURA**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**TEMA: EVALUACIÓN DE CUATRO NIVELES DE LUTEÍNA
SUMINISTRADOS A CODORNICES DE POSTURA (*Coturnix coturnix
japonica*)**

AUTOR: COLLANTES CÓRDOVA, GABRIELA ALEJANDRA

DIRECTOR: ING. ORTIZ MANZANO, MARIO LEONARDO

SANGOLQUÍ

2020



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

i

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, "*EVALUACIÓN DE CUATRO NIVELES DE LUTEÍNA SUMINISTRADOS A CODORNICES DE POSTURA (Coturnix coturnix japonica)*" fue realizado por la señorita *Collantes Córdova, Gabriela Alejandra*, el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto, cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 24 de enero de 2020

Firma:

Ing. Mario Leonardo, Ortiz Manzano
C.C: 0602065435



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

ii

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, *Collantes Córdova, Gabriela Alejandra*, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: “*Evaluación de cuatro niveles de luteína suministrados a codornices de postura (Coturnix coturnix japonica)*” es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Sangolquí, 24 de enero de 2020

Firma

Gabriela Alejandra Collantes Córdova

C.C.: 1717785776



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

AUTORIZACIÓN

Yo, *Collantes Córdova, Gabriela Alejandra*, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: “*Evaluación de cuatro niveles de luteína suministrados a codornices de postura (Coturnix coturnix japonica)*” en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 24 de enero de 2020

Firma

Gabriela Alejandra Collantes Córdova

C.C.: 1717785776

DEDICATORIA

A Dios por su infinito amor, gracias por ser mi guía y bendecirme en cada paso que doy. A mis padres Gabriela y Edison por brindarme su amor y apoyo incondicional, por ser el mejor ejemplo de integridad, responsabilidad y perseverancia, por siempre confiar en mí y brindarme lo mejor de ustedes, me siento muy orgullosa y agradecida con Dios por ser su hija. A mi hermana Francesca por ser el motor de mi vida, por ser mi apoyo en todo momento y ser quien me llena de alegrías, simplemente eres la mejor. A Tita por enseñarme el verdadero significado de amor y lealtad, sé que desde el cielo me sigues cuidando. A Giuseppe por ser un ángel en la tierra y brindarnos su amor incondicional.

AGRADECIMIENTO

Un especial agradecimiento al Ingeniero Mario Ortiz por su excelente ayuda profesional y su acertada guía en el proceso investigativo del presente proyecto. De igual manera, un sensible agradecimiento al Ingeniero Rómulo Falconí de la empresa NUTRION y al Ingeniero Fredy Pazmiño de la empresa QUALICHEM, por su disponibilidad y apoyo en la dotación de insumos, sin los cuales no podría haber logrado mecanizar esta investigación. Un profundo agradecimiento y reconocimiento a todos mis queridos maestros/as que durante todo este proceso formativo me han brindado su apoyo y confianza, sus enseñanzas ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación profesional.

El agradecimiento más profundo para mí amada familia. Por su amor y apoyo incondicional ¡siempre gracias! Sin ustedes nada de esto sería posible, este trabajo y la finalización de esta hermosa etapa es un logro compartido.

A mis amigos, que han caminado junto a mí en todo este proceso, les agradezco porque siempre han sido mi apoyo y me han brindado su cariño, un agradecimiento especial para mis mejores amigos Xavier y Gino ya que a través de los años se convirtieron en mi familia, gracias por brindarme una amistad sincera he incondicional. Me siento muy contenta y gradecida con Dios por ponerlos en mi vida.

Finalmente, un leal y sentido reconocimiento a mi querida facultad IASA I, por el préstamo de las instalaciones, y a la Universidad de las fuerzas armadas ESPE, gracias por formar profesionales de alta calidad, me siento muy orgullosa de haberme formado en sus aulas.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CARÁTULA

CERTIFICACIÓN	I
AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD	II
AUTORIZACIÓN	III
DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTO	V
ÍNDICE DE CONTENIDO	VI
ÍNDICE DE TABLAS	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	X
RESUMEN	XI
ABSTRACT	XII

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes	1
1.2 Justificación.....	2
1.3 Objetivos	4
1.3.1 Objetivo general	4
1.3.2 Objetivos específicos.....	4
1.4 Hipótesis.....	4

CAPÍTULO II

MARCO REFERENCIAL

2.1 Generalidades	5
2.2 Nutrición de la codorniz	7
2.3 Pigmentos utilizados en la producción avícola	8
2.4 Carotenoides y su clasificación	8
2.5 Pigmentos en la yema de huevo	10
2.6 Fuentes de pigmentos	11
2.7 Factores que afectan la eficiencia en la pigmentación de la yema de huevo	13

2.8	Alimentos funcionales.....	14
2.9	Luteína como molécula funcional.....	15
2.10	Pigmento natural Leader Y15®.....	17
2.10.1	Propiedades fisicoquímicas.....	18
2.10.2	Indicaciones.....	18
2.10.3	Administración y dosis.....	18
2.11	Enriquecimiento del huevo con luteína.....	18
2.12	Determinación de luteína en la yema de huevo.....	20

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	Ubicación política y geográfica.....	23
3.2	Ubicación ecológica.....	24
3.3	Materiales.....	24
3.3.1	Materiales y equipos de campo.....	24
3.3.2	materiales y equipos de laboratorio.....	25
3.4	Reactivos.....	26
3.5	Metodos.....	27
3.6	Preparación de instalaciones.....	29
3.7	Elaboración de alimento concentrado.....	30
3.8	Adición de luteína al alimento concentrado.....	31
3.9	Suministro de alimento.....	31
3.10	Consumo de alimento.....	32
3.11	Ganancia de peso.....	32
3.12	Factor de conversión alimenticia.....	33
3.13	Producción de huevos o porcentaje de postura.....	33
3.14	Mortalidad y viabilidad.....	34
3.15	Calidad de huevo.....	34
3.16	Cantidad de luteína fijada en la yema de los huevos.....	35
3.16.1	Curva de calibración.....	35
3.16.2	Preparación de las muestras.....	37

3.17	Análisis económico	38
------	--------------------------	----

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	Consumo de alimento.....	39
4.2	Ganancia de peso.....	41
4.3	Conversión alimenticia.....	43
4.4	Porcentaje de postura.....	45
4.5	Mortalidad y viabilidad	46
4.6	Comparación de los parámetros zootécnicos	48
4.7	Calidad de huevo.....	48
4.8	Dureza del cascarón (kg/f)	49
4.9	Espesor de cáscara (mm).....	50
4.10	Color de yema (escala DSM YolkFan™ 16)	51
4.11	Comparación de los parámetros de calidad de huevo	56
4.12	Cantidad de luteína fijada en la yema de los huevos.....	56
4.13	Análisis económico	58

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1	Conclusiones	60
5.2	Recomendaciones.....	62
5.3	Bibliografía.....	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 <i>Parámetros productivos y reproductivos de la codorniz japonesa</i>	6
Tabla 2 <i>Requerimientos nutricionales de codornices japonesas en la fase de postura</i>	7
Tabla 3 <i>Fuente y contenido de carotenoides naturales</i>	12
Tabla 4 <i>Contenido de luteína y zeaxantina utilizados para pigmentación de la yema</i>	12
Tabla 5 <i>Descripción de las diferentes dosis que conforman los tratamientos</i>	27
Tabla 6 <i>Composición de la dieta y contenido de nutrientes</i>	30
Tabla 7 <i>Dosis de Luteína utilizada para cada tratamiento</i>	31
Tabla 8 <i>Concentraciones de calibración</i>	36
Tabla 9 <i>Promedio \pm desviación estándar del consumo de alimento</i>	40
Tabla 10 <i>Promedio \pm desviación estándar de la ganancia de peso diaria</i>	42
Tabla 11 <i>Promedio \pm desviación estándar de la conversión alimenticia</i>	44
Tabla 12 <i>Promedio \pm desviación estándar del porcentaje de postura</i>	45
Tabla 13 <i>Promedios \pm desviaciones estándar de los parámetros productivos</i>	48
Tabla 14 <i>Promedio \pm desviación estándar del peso de los huevos</i>	49
Tabla 15 <i>Promedio \pm desviación estándar de la dureza del cascarón</i>	50
Tabla 16 <i>Promedio \pm desviación estándar del espesor de cascara de los huevos</i>	51
Tabla 17 <i>Promedio \pm desviación estándar del color de la yema de los huevos</i>	54
Tabla 18 <i>Promedios \pm desviaciones estándar de los parámetros de calidad de huevo</i>	56
Tabla 19 <i>Promedio \pm error estándar de luteína fijada en la yema de los huevos</i>	57
Tabla 20 <i>Análisis económico del efecto de la suplementación de luteína en codornices</i>	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ubicación geográfica de la investigación	23
Figura 2 Croquis experimental.....	28
Figura 3 Instalaciones de la investigación.....	29
Figura 4 Medidor digital de huevos DET-6000	35
Figura 5 Concentraciones de calibración	36
Figura 6 Preparación de las muestras para inyección en UHPLC	37
Figura 7 Consumo promedio de alimento (g/ave/día) según tratamiento	41
Figura 8 Ganancia promedio de peso de las aves según tratamiento	42
Figura 9 Conversión alimenticia promedio de las aves según tratamiento	44
Figura 10 Producción promedio diaria de huevos por tratamiento	45
Figura 11 Porcentaje de mortalidad y viabilidad acumulada por tratamiento.....	47
Figura 12 Diarreas sanguinolentas de las aves del T3 (18 mg de luteína).....	47
Figura 13 Promedio del color de yema de huevos por tratamiento.....	54
Figura 14 Coloración de las yemas de los distintos tratamientos	55

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la inclusión de cuatro niveles de luteína, suministrados a codornices de postura, sobre los parámetros productivos y calidad de huevo. Las dietas experimentales fueron: T0 (0 mg/ave/día), T1 (6 mg/ave/día), T2 (12 mg/ave/día) y T3 (18 mg/ave/día). Dentro de los parámetros productivos evaluados se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$), las aves que consumieron las dietas de los tratamientos T0 y T1 se mantuvieron dentro de los parámetros normales. Por otro lado, las aves alimentadas con la dieta del T3 presentaron alteraciones en la producción debido a la baja palatabilidad de la dieta, ocasionado por la dosis de luteína presente en este tratamiento. La inclusión de luteína, no afectó los parámetros de calidad de huevo evaluados ($P > 0.05$), excepto el color de la yema. La suplementación de luteína en la dieta permitió aumentar significativamente la puntuación de color en la escala DSM YolkFan ($P < 0,05$), en el T1 se logró aumentar de 6 a 10 puntos de coloración. El contenido de luteína en la yema de huevo se determinó por cromatografía líquida de ultra alta presión (UHPLC), al utilizar una fuente de luteína altamente biodisponible se demostró que las aves fijan la luteína de la dieta en la yema de los huevos. Siendo el T1 (6 mg/ave/día) el más indicado para el desarrollo productivo de codornices de postura, y el T3 (18 mg/ave/día) el menos conveniente ya que las aves presentaron problemas de salud y una elevada mortalidad.

Palabras clave:

- **LUTEÍNA**
- **CODORNIZ**
- **ALIMENTO FUNCIONAL**

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the effect of the inclusion of four levels of lutein, supplied to posture quail, on the productive parameters and egg quality. The experimental diets were: T0 (0 mg/bird/day), T1 (6 mg/bird/day), T2 (12 mg/bird/day) and T3 (18 mg/bird/day). Within the productive parameters evaluated, significant differences were found between treatments ($P < 0.05$), the quails that consumed the diets of treatments T0 and T1 remained within the normal parameters. On the other hand, the quails fed on the T3 diet had production alterations due to the low palatability of the diet, caused by the dose of lutein present on this treatment. The inclusion of lutein did not affect the egg quality parameters evaluated ($P > 0.05$), except on the yolk color. Lutein supplementation on the diet, allowed a significantly increase of the color score on the DSM YolkFan scale ($P < 0.05$), in T1 was possible to increase from 6 to 10 color points. The content of lutein on the egg yolk was determined by ultra-high-pressure liquid chromatography (UHPLC), using a source of highly bioavailable, lutein shown that the birds fix the diet lutein on the egg yolk. T1 (6 mg/bird/day) has being the most suitable for the productive development of posture quail, and T3 (18 mg/bird/day) at the least convenient because the birds presented health problems and high rate of mortality.

Keywords:

- **LUTEINE**
- **QUAIL**
- **FUNCTIONAL FOOD**

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

La cotornicultura es una rama de la avicultura cuya finalidad es criar, mejorar y fomentar la producción de codornices para aprovechar sus productos. Este tipo de explotación ha tenido en los últimos años un gran auge, mostrando unas perspectivas amplias de comercialización e industrialización, en particular de variedades como la japónica de gran interés zootécnico por sus características de precocidad y alta postura. (Vásquez & Ballesteros, 2007). La explotación de estas aves es un sector creciente, ya que se presenta como una alternativa comercial con grandes beneficios y costos bajos (Saavedra, 2002).

Las tendencias mundiales de la alimentación en los últimos años indican un interés acentuado de los consumidores hacia ciertos alimentos, que además del valor nutritivo aporten beneficios a las funciones fisiológicas del organismo humano. Estas variaciones en los patrones de alimentación generaron una nueva área de desarrollo en las ciencias alimenticias y de nutrición que corresponde a los alimentos funcionales (Morales, Gozález, & Zacarias, 2002).

Para que la industria avícola satisfaga esta nueva tendencia de consumo alimenticio es necesario desarrollar procesos de producción enfocados a obtener productos funcionales y enriquecidos. Con el fin de proveer al consumidor una alimentación balanceada y que presente beneficios para la salud. En base a esto, el presente estudio busca desarrollar una alternativa nutricional mediante la suplementación de luteína en codornices de postura.

1.2 Justificación

La cría de codornices japonesas (*Coturnix coturnix japónica*) es un mercado en constante expansión, el mejoramiento en la calidad total del huevo, puede resultar en una mejora significativa para la industria en un mercado cada vez más competitivo (Ferreira et al., 2008).

La luteína y la zeaxantina son pigmentos carotenoides que se encuentran principalmente en la yema del huevo, siendo responsables de su color, estos compuestos se encuentran fundamentalmente en alimentos de origen vegetal y el huevo es el único alimento de origen animal que los aporta (Meléndez, Vicario, & Heredia, 2015).

Aunque su contenido es inferior al de algunas fuentes de origen vegetal, su biodisponibilidad es superior, ya que se encuentra en la matriz lipídica de la yema, estos carotenoides tienen un importante efecto antioxidante, anti mutagénico y anti carcinogénico (Meléndez et al., 2015).

Estos compuestos se acumulan en la retina y el cristalino, donde actúan filtrando las radiaciones y como antioxidantes, la ingesta de estos carotenoides se ha relacionado con un menor riesgo de cataratas y la prevención de la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) (Ortega & López, 2014).

Puesto que el cuerpo humano no puede producir luteína, es necesario obtenerla a través de los alimentos. Al ser un antioxidante, que potencialmente protege el cuerpo contra los efectos de los radicales libres nocivos para las células, la luteína ha sido asociada a la prevención de enfermedades, especialmente las enfermedades oculares relacionadas con la edad (Palombo, 2007).

Se observó que los niveles séricos de luteína y zeaxantina aumentaron un 26% y un 38% respectivamente en personas mayores de 60 años tras tomar durante cinco semanas un huevo/diario frente a no tomar huevo, sin que aumentasen los lípidos séricos (Ortega & López, 2014). Además de este efecto positivo en la visión, la luteína tiene acciones antiinflamatorias y disminuye la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), interviniendo así en la prevención de enfermedades coronarias (Goodrow et al., 2006). En concreto, algunos estudios han encontrado una asociación entre el consumo de huevo, los niveles de estos carotenoides y la salud ocular (Ortega & López, 2014).

Particularmente en el caso del enriquecimiento de huevos de codorniz con luteína son escasos los estudios reportados. Sin embargo, existen varios estudios realizados en cuanto al enriquecimiento de huevos de gallinas ponedoras de diferentes líneas genéticas, demostrando que la suplementación con pigmentos ya sean naturales o sintéticos no son asociados a cambios en el comportamiento productivo de las aves, y que dependiendo de los niveles de inclusión de luteína en la dietas de las ponedoras los niveles de fijación en la yema de los huevos varia (Leeson & Caston, 2004b).

En este contexto y dadas las grandes potencialidades del mercado de los alimentos funcionales, el presente estudio se planteó para evaluar cuatro niveles de inclusión de luteína en la dieta de codornices de postura (*Coturnix coturnix japónica*) tomando en cuenta los parámetros zootécnicos y además la calidad del huevo. Con la finalidad de desarrollar huevos de codorniz enriquecidos con luteína para la oferta en el mercado como alimento funcional con propiedades benéficas para la salud humana.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de cuatro niveles de luteína sobre el desempeño productivo y la calidad de huevos de codornices de postura.

1.3.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la luteína sobre los parámetros zootécnicos de las codornices de postura
- Determinar la calidad del huevo de codornices suplementadas con luteína
- Determinar la viabilidad económica del uso de luteína en la dieta de codornices de postura.

1.4 Hipótesis

Ho: El uso de luteína en la alimentación de codornices de postura (*Coturnix coturnix japónica*) no incrementa el porcentaje de luteína en la yema de los huevos.

Ha: El uso de luteína en la alimentación de codornices de postura (*Coturnix coturnix japónica*) incrementa el porcentaje de luteína en la yema de los huevos.

CAPÍTULO II

MARCO REFERENCIAL

2.1 Generalidades

Las codornices son originarias de Europa, norte de África y Asia y pertenecen a la familia Phasianidae, subfamilia Perdicinidae (Pinto et al., 2002). La codorniz doméstica (*Coturnix coturnix japonica*) es la más difundida a nivel mundial, esta codorniz se caracteriza por su gran precocidad y elevada productividad y se explota tanto para la producción de carne como de huevos (Lázaro, zSerrano, & Capdevila, 2005).

Dentro de las principales características zootécnicas figuran, el peso, la hembra adulta pesa de 100 a 140 g y el macho de 90 a 10 g; sus índices de productividad son (80%-95% de postura), produciendo cerca de 300 huevos en un ciclo productivo de postura regular (12 meses), y una excelente fertilidad y precocidad sexual (hembras a los 42 días y machos a los 55-60 días)(Díaz & Espinoza, 2017).

La codorniz es una especie de crecimiento precoz y alcanza el peso vivo adulto antes que otras especies avícolas como el pollo o el pavo. Es una especie polígama con importantes diferencias morfológicas entre sexos. Así, en la codorniz japónica el peso de la hembra es un 7-10% superior al del macho, característica no muy común en avicultura (MAPA, 2004). Otra diferencia morfológica entre sexos es que en la hembra las plumas pectorales son de color gris-beige y moteadas en negro en el macho son de color marrón rojizo, diferencias que empiezan a notarse desde los 15 días de vida (Pinto et al., 2002).

Las ventajas fisiológicas de estos animales, tales como la precocidad de la puesta, su elevado porcentaje de fecundidad, y su rápido crecimiento, son condiciones favorables para su explotación (Vásquez & Ballesteros, 2007).



Figura 1. Hembra y macho de codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japonica*)

Fuente: (Vásquez & Ballesteros, 2007)

Tabla 1

Parámetros productivos y reproductivos de la codorniz japonesa

Características	Codorniz
Peso del huevo en proporción al ave	10%
Tiempo entre postura	cada 22 horas
Peso del huevo	10-12 g
Período de crianza	1-21 días de edad en piso
Periodo de postura	45-405 días de edad en baterías
Edad al sexado	21 días de edad
Uso comercial	primer año
Tasa de postura	82 % anual
Consumo Alimento	25 - 30 g (ave adulta /día)
Conversión alimenticia	3 kg de alimento por kg de huevo producido

#: porcentaje, g: gramos, kg: kilogramo

Fuente: Vázquez & Ballesteros, (2007)

2.2 Nutrición de la codorniz

Las exigencias nutricionales de las codornices de postura son mayores que de las gallinas ponedoras, por esta razón es importante considerar el hecho de que las aves han mostrado serios trastornos digestivos y reproductivos al ingerir alimentos no especificados para codornices, ya que no sólo disminuyen totalmente el porcentaje de postura, sino que se ha visto que pueden incluso ocasionar la muerte del animal (Vásquez & Ballesteros, 2007).

Tabla 1

Requerimientos nutricionales de codornices japonesas en la fase de postura (g/ave/día)

Nutriente	Codornices japonesas en la fase de postura					
Peso Corporal, g	0,190		0,200		0,210	
Ganancia, g/día	0,2		0,1		0,01	
Masa de Huevo, g/día	11		10		9	
Energía Metab., Kcal/día	72,37		68,54		64,76	
Energía Metab., Kcal/Kg	2800		2800		2800	
Consumo, g/día	25,85		24,48		23,13	
Proteína Cruda Total, g/día	4,89		4,65		4,41	
Calcio, g/día			0,773			
Fósforo Disponible, g/día			0,080			
Fósforo Digestible, g/día			0,073			
Sodio, g/día			0,038			
Ácido Linoleico, g/día			0,256			
Aminoácido	Dig.	Total	Dig.	Total	Dig.	Total
Lisina, g/día	0,297	0,334	0,271	0,304	0,245	0,275
Metionina, g/día	0,134	0,147	0,122	0,134	0,110	0,121
Metionina + Cisteína, g/día	0,244	0,271	0,222	0,246	0,201	0,223
Treonina, g/día	0,181	0,214	0,165	0,195	0,149	0,176
Triptófano, g/día	0,062	0,070	0,057	0,064	0,051	0,058
Arginina, g/día	0,342	0,374	0,312	0,340	0,282	0,308
Glicina + Serina, g/día	0,339	0,397	0,309	0,362	0,279	0,327
Valina, g/día	0,223	0,254	0,203	0,231	0,184	0,209
Isoleucina, g/día	0,193	0,217	0,176	0,198	0,159	0,179
Leucina, g/día	0,446	0,494	0,407	0,450	0,368	0,407
Histidina, g/día	0,125	0,137	0,114	0,125	0,103	0,113
Fenilalanina, g/día	0,220	0,244	0,201	0,222	0,181	0,201
Fenilalanina + Tirosina, g/día	0,401	0,444	0,366	0,404	0,331	0,366

g: gramos; Kcal: kilo calorías, Dig: Digestible

Fuente: Rostagno & Hannas, (2017)

2.3 Pigmentos utilizados en la producción avícola

En los últimos años se ha dado mucha importancia en la avicultura al uso de pigmentos para las aves, esto ha sido una consecuencia de la demanda del público y no de requerimientos nutritivos. La coloración de la yema de huevo es otro factor importante que debe considerarse para satisfacer la preferencia del consumidor (Cuca, Pino, & Mendoza, 1963).

En la avicultura ha tenido importancia económica el color de los productos, hecho dado por la comercialización, entre los consumidores, tanto a escala industrial como individual, la tendencia es preferir productos de colores vivos; en el caso de los huevos se observa una mayor demanda por aquellos que poseen yemas de color amarillo-anaranjado (Cuca et al., 1963).

Por este motivo en explotaciones avícolas dedicadas a producir huevo, se ha tornado una práctica normal la adición de cantidades adecuadas a las dietas de las ponedoras (Cuevas, Díaz, Molina, & Retamal, 2003).

2.4 Carotenoides y su clasificación

Los carotenoides son una familia de compuestos de más de 600 pigmentos vegetales liposolubles (Krinsky & Johnson, 2005), son pigmentos orgánicos del grupo de los isoprenoides que se encuentran de forma natural en plantas y otros organismos fotosintéticos como algas, algunas clases de hongos y bacterias. Se conoce la existencia de más de setecientos compuestos pertenecientes a este grupo (Shete & Quadro, 2013).

Los carotenoides se caracterizan por su coloración que oscila entre rojo, naranja y amarillo, son pigmentos que aportan los colores característicos de muchas frutas y hortalizas. Se encuentran en el interior de las células vegetales y actúan como antioxidantes naturales (Meléndez, Vicario, & Heredia, 2007).

De acuerdo con su estructura química los carotenoides pueden clasificarse en dos tipos:

- Carotenos, estos son carotenoides no oxigenados que poseen actividad provitamina A y tienen muy poco o ningún valor pigmentante en los cuales se incluyen el β -caroteno y el licopeno (Shete & Quadro, 2013).
- Xantofilas, son derivados oxigenados de los carotenoides y se encuentran principalmente entre los miembros del grupo que no tienen actividad provitamina A entre ellas se encuentra la luteína y la Zeaxantina (Shete & Quadro, 2013). De hecho, en la naturaleza la presencia de estos carotenoides en la yema de huevo está originalmente dirigida a ofrecer protección antioxidante e inmuno-protección del ave y del embrión en formación (Karadas, Pappas, Surai, & Speake, 2005)

Además de las diferencias en cuanto a actividad provitamina A, los carotenoides pueden clasificarse de acuerdo con:

- Su estructura química y solubilidad, que determina el grado de utilización por el ave.
- El color, que determina el aspecto visual de la pigmentación.
- La polaridad, que determina el comportamiento cromatográfico, importante para la evaluación experimental (Montilla & Angulo, 1984).

2.5 Pigmentos en la yema de huevo

Las codornices no producen en su cuerpo los pigmentos para la coloración de la yema de huevo, solamente pueden utilizar aquellos que se les suministre en la dieta (Antoniol et al., 2011). Se ha demostrado que diferentes razas de aves ponedoras producen la misma pigmentación en la yema si son alimentadas con la misma dieta (Cuca et al., 1963).

El color amarillo de la yema de huevo se debe a las xantofilas, aun cuando existen otras sustancias pigmentantes que pueden ser depositadas en la yema (Cuca et al., 1963). El color de la yema se relaciona con la cantidad y el tipo de pigmentos almacenados en productos animales. Los animales, incluidas las aves de corral, absorben los carotenoides de las dietas y los almacenan después de haber modificado su estructura por el metabolismo oxidativo (Sirri, Iaffaldano, Minelli, & Meluzzi, 2007).

El color de la yema depende principalmente de la alimentación de la codorniz, en concreto de las proporciones de pigmentos amarillos y rojos, las xantofilas, presentes en el alimento. Dado que la yema tiene un alto porcentaje de lípidos en su composición, la asimilación de pigmentos liposolubles modificará el color de la yema. De esta manera estos pigmentos se depositarán en la yema durante la formación del huevo (Cuca et al., 1963).

Trabajos efectuados por Ganguly, Mehl, & Deuel, (1953), han demostrado que las xantofilas se incorporan a la sangre y son depositadas en la piel, en los tejidos grasos, hígado, y también en las yemas de los huevos de ponedoras; mientras que los carotenos se encuentran solamente en pequeñas cantidades en estos mismos órganos.

El color amarillo de la yema de huevo se debe a dos xantofilas, luteína y zeaxantina, (Meléndez et al., 2007). Por lo tanto, la intensidad de coloración que aparece en las yemas de huevo y la piel de las aves depende de los siguientes factores:

- Concentración de pigmentos en la dieta.
- Composición de la dieta.
- Fuente de pigmentos.
- Estado de salud de las aves.
- Nivel de producción de huevo (Cuca et al., 1963).

2.6 Fuentes de pigmentos

Tanto el color de la yema como el de la grasa subcutánea, el cual refleja el tono de la piel de la carne, están dados por un grupo de pigmentos amarillos y rojos, ampliamente distribuidos en la naturaleza y pertenecientes al grupo de los carotenoides (Montilla & Angulo, 1984).

Las xantofilas se encuentran principalmente entre los miembros del grupo que no tienen actividad vitamínica, siendo transferidos intactos a la yema y/o a la grasa subcutánea. En la naturaleza, los carotenoides de estructura química similar a las grasas son producidos principalmente por plantas, microorganismos y crustáceos. Muchos de ellos han sido sintetizados, existiendo en esta forma en el mercado (Montilla & Angulo, 1984).

Tabla 2*Fuente y contenido de carotenoides naturales*

Fuente	Carotenoides totales, mg/Kg
Harina de algas	
<i>Clorella sp</i>	4.000
<i>Spongiococum sp</i>	2.200
Harina de trébol	500
Crustáceos	80
Harina de gramíneas	200-760
Harina de alfalfa	100-550
Harina de maíz amarillo	8-50
Harina de gluten de maíz	100-300
Harina de Marigold	4.275
Harina de pimentón	275-1.650
Levadura (<i>Phaffia sp</i>)	340

mg/Kg: miligramo por kilogramo

Fuente: Montilla & Angulo, (1984)

Es importante recordar que la concentración de pigmentos varía ampliamente en las fuentes naturales debido a diferencias en el mecanismo de deshidratación, edad de la planta a intervalo entre cortes, variedades y condiciones de almacenamiento.

Tabla 3*Contenido de luteína y zeaxantina (como % de xantofila totales) en ingredientes utilizados para pigmentación de la yema*

Fuente	Pigmentos	% de Xantofilas
Alfalfa	Luteína	46
	Zeaxantina	4
Maíz	Luteína	54
	Zeaxantina	23
Flor de cempasúchil	Luteína	88
	Zeaxantina	4
Algas	Luteína	78
	Zeaxantina	5

%: Porcentaje

Fuente: Montilla & Angulo, (1984)

En el caso de la luteína y la zeaxantina, la forma de producción comercial consiste en sembrar y cosechar la flor de cempasúchil, la cual se somete a deshidratación, después a una extracción de las moléculas pigmentantes por medio de solventes orgánicas como el éter, y finalmente a una hidrólisis alcalina (conocida como saponificación).

La composición de las xantofilas de la flor de cempasúchil para comercializar es de un 80 a 90% de luteína, 5% zeaxantina y de un 5 a 15% de carotenoides como violoxantina, criptoxantina, β -caroteno, sin valor pigmentante para las aves (Martínez, Cortés, & Avila, 2004).

2.7 Factores que afectan la eficiencia en la pigmentación de la yema de huevo

La eficiencia de pigmentación de la yema de huevo de los carotenoides está determinada por dos factores principales: la deposición del pigmento en la yema y su color (longitud de onda) (Sirri et al., 2007).

- Deposición en la yema de huevo, la deposición de los carotenoides de la dieta en la yema depende de la molécula individual de carotenoide. A medida que el contenido de carotenoides aumenta en el alimento, su concentración en la yema aumenta en proporción directa (Sirri et al., 2007).
- El color de los carotenoides, la longitud de onda de los colores de los carotenoides utilizados para la pigmentación de la yema de huevo es entre 400 nm y 600 nm en el rango visible del espectro de colores, la luteína y zeaxantina son carotenoides amarillos (longitud de onda desde 445 a 450 nm) (Sirri et al., 2007).

2.8 Alimentos funcionales

El término alimento funcional fue propuesto por primera vez en Japón en la década de los 80's con la publicación de la reglamentación para los "Alimentos para uso específico de salud" ("Foods for specified health use" o FOSHU) y que se refiere a aquellos alimentos procesados los cuales contienen ingredientes que desempeñan una función específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, más allá de su contenido nutrimental (Morales et al., 2002). Algunas de las principales funciones son las relacionadas con un óptimo crecimiento y desarrollo, la función del sistema cardiovascular, los antioxidantes, el metabolismo de xenobióticos, el sistema gastrointestinal, entre otros (Arai, 1996).

En la actualidad, se observa una clara preocupación en nuestra sociedad por la posible relación entre el estado de salud personal y la alimentación que se recibe. Incluso se acepta sin protesta que la salud es un bien preferentemente controlable a través de la alimentación, por lo que se detecta en el mercado alimentario marcada preferencia por aquellos alimentos que se anuncian como beneficios para la salud (Palou & Serra, 2000). Algunos trabajos científicos han puesto de relieve que ciertos ingredientes naturales de los alimentos proporcionan beneficios y resultan extraordinariamente útiles para la prevención de enfermedades e incluso para su tratamiento terapéutico (Bello, 2000).

Un alimento funcional es cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen a la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona (Morales et al., 2002).

El calificativo de funcional se relaciona con el concepto bromatológico de "propiedad funcional", o sea la característica de un alimento, en virtud de sus componentes químicos y de los sistemas fisicoquímicos de su entorno, sin referencia a su valor nutritivo Morales et al., (2002). En Europa se define alimento funcional a "aquel que satisfactoriamente ha demostrado afectar benéficamente una o más funciones específicas en el cuerpo, más allá de los efectos nutricionales adecuados en una forma que resulta relevante para el estado de bienestar y salud o la reducción de riesgo de una enfermedad" (Roberfroid, 2000).

Entre los alimentos funcionales más importantes se encuentran los alimentos enriquecidos los cuales aportan uno o varios nutrientes que se sabe son deficitarios en la población, estos deben consumirse dentro de una dieta sana y equilibrada y en las mismas cantidades en las que habitualmente se consumen el resto de los alimentos (Morales et al., 2002).

2.9 Luteína como molécula funcional

La luteína es miembro de las xantofilas una clase de carotenoides. Todos los carotenoides tienen una estructura principal compuesta de dobles enlaces conjugados que es esencial para su actividad antioxidante (Evans & Johnson, 2010).

La luteína es un carotenoide que protege la vista de dos maneras, como antioxidante (la parte externa de la retina es rica en ácidos poliinsaturados que son atacados por los radicales libres y sufren un proceso de oxidación debido a la incidencia de la luz en esta área), y actuando como un filtro de luz, protegiendo la vista de algunos de los efectos dañinos del sol, además, mejora el sistema inmune y la comunicación celular (Ortega & López, 2014).

A diferencia de los carotenos, la luteína no poseen actividad pro vitamínica A, se encuentra comúnmente en frutas y verduras, la fuente más rica de luteína son las verduras de hoja verde, pero también se pueden encontrar en cantidades significativas en el brócoli, el maíz y los guisantes (Handelman, Nightingale, Lichtenstein, Schaefer, & Blumberg, 1999). La luteína también se encuentra en la yema de huevo, si bien los niveles no son altos, se considera una fuente de luteína altamente biodisponible (Handelman et al., 1999). No se ha establecido una ingesta dietética recomendada (IDR), pero hay estudios que señalan que una ingesta de 6 mg de luteína diaria previene contra desarrollo de cataratas y degeneración macular (Palombo, 2007).

Por tratarse de un antioxidante, una ingesta suficiente de luteína es importante puesto que podría proteger el cuerpo contra los efectos nocivos de los radicales libres, que pueden ocasionar enfermedades relacionadas con el corazón como enfermedades cardiovasculares y cáncer. El ojo tiene una zona denominada mácula y es allí donde actúa la luteína, es el punto donde más agudeza visual tenemos, por lo tanto, la luteína es fundamental para una adecuada salud visual (Stahl & Sies, 2005)

La luteína protege los ojos frente a la nociva luz ultravioleta, filtra la luz azul, que no es detenida por la córnea y las lentes y que con el tiempo pueden dañar las sensibles células oculares de la mácula (Stahl & Sies, 2005).

Puesto que la luteína está presentes en grandes concentraciones en el centro de la retina, la mácula, donde actúan como eficientes filtros de luz azul, podrían proteger contra los daños inducidos por la luz, los cuales podrían estar involucrados en el desarrollo de degeneración macular asociada a la edad (DMAE). Los estudios indican que una dieta alta en luteína puede reducir el riesgo de desarrollar DMAE y cataratas (Stringham & Hammond, 2008).

No existe una ingesta diaria recomendada (IDR), y el único dato conocido es la ingesta media diaria en la población de Estados Unidos que es de 2.0-2.3 mg/día para los hombres y 1.7-2.0 mg/día para las mujeres. Se han utilizado como IDR en series pequeñas y se ha demostrado que la ingesta de luteína y zeaxantina a través de dietas enriquecidas (2.4 a 30 mg/día) han mejorado, a corto plazo la función visual y la densidad óptica de los pigmentos maculares tanto en sujetos sanos como en pacientes con DMAE atrófica, en el ensayo de suplementación de luteína antioxidante (LAST), la luteína aumentaba en un 40% la densidad óptica de los pigmentos maculares y mejoraba varias pruebas funcionales visuales (Olea, Aragón, Zapata, & Tur, 2012).

2.10 Pigmento natural Leader Y15®

Es un pigmento líquido natural estabilizado de xantofilas saponificadas de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*). Esta fuente presenta un alto contenido de luteína biodisponible (QUALICHEM, 2017).

Las xantofilas presentes en la flor de cempasúchil se encuentran en forma de ácidos grasos, las cuales a través del proceso de saponificación estas moléculas se hacen biodisponibles para las aves y se absorben en el tracto digestivo pasando al torrente sanguíneo, metabolizado en hígado y finalmente depositándose en la yema de huevo (Sirri et al., 2007).

El pigmento Leader Y15®, contiene 15 mg/cc, de xantofilas, de los cuales el 84% es luteína, dando un contenido total de 12,6 mg/cc de luteína, de los cuales, 12 mg son requeridos por ave/día, por lo que se deberá suministrar 0,95 gramos de Leader Y15®, para un consumo de alimento de 30 g/ave/día (QUALICHEM, 2017).

2.10.1 Propiedades fisicoquímicas

- Aspecto: líquido emulsionado de color amarillo oscuro
- Xantofilas totales: Min. 15g/Kg
- % Saponificación: Min. 96%
- PH: 10.00-13.00
- Densidad: 0,80-1,20 g/cm³

2.10.2 Indicaciones

Esta indicado como complemento de xantofilas amarillas en la dieta, cuando esta no aporte el mínimo necesario para proporcionar el nivel adecuado de pigmentación deseada a la piel de la canal del pollo de engorda o a la yema de huevo para plato que exige su mercado de comercialización (QUALICHEM, 2017).

2.10.3 Administración y dosis

Dosificar por aspersion, mezclando en el alimento durante su elaboración.

2.11 Enriquecimiento del huevo con luteína

La luteína, además de incorporarse a la dieta humana, puede ser utilizada como aditivo en los piensos animales, de forma que las características del pigmento pasen a la cadena alimenticia, como por ejemplo en los huevos de las gallinas. De hecho, la luteína ya se utiliza en la industria avícola para la coloración de las yemas (García & Pérez, 2012).

Los huevos normalmente contienen de 0,3 a 0,5 mg de xantofilas totales, un poco más de la mitad presente es luteína (Steinberg, Grashorn, Klünter, & Schierle, 2000). La composición del huevo responde a la manipulación de los nutrientes en la dieta. Hay información limitada disponible sobre la eficiencia del transporte de las xantofilas en el huevo y los factores que influyen en su fijación (Sirri et al., 2007).

Estudios realizados con la adición de diferentes niveles de xantofilas de flor de campasúchil (*Tagetes erecta*), en dietas para dos estirpes de gallinas (Hy-Line W-36 e IsaBabcock B-380) lograron la fijación de las xantofilas totales en la yema del huevo, sin modificar los parámetros productivos. Los niveles adicionados de xantofilas totales fueron 3.4, 26.7, 39.9, 62.3, 97.9 y 128.2 ppm de estas el 84.24 % de luteína y el 3.29% de zeaxantina en las dietas (De la Cruz Sierra, Ávila, Fernández, Carrillo, & Quintana, 2007).

En otro estudio realizado por Leeson & Caston, (2004) en gallinas ponedoras de la línea genética Shaver White utilizaron 0, 125, 250, 375, 500, 625, 750, y 1,000 ppm de luteína en la dieta de las aves, los autores encontraron que a los 70 días de transcurrido el estudio la producción no fue afectada entre los distintos niveles de xantofilas.

Leeson & Caston, (2004) reportaron que, en cuanto a la pigmentación de la yema del huevo, se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. Dentro de siete días después de la inclusión de luteína en la dieta, el color de la yema de huevo aumentó de 6/7 a 12/13 en la escala colorimétrica de Roche. La fijación de xantofilas en el estudio mostró una tendencia lineal. (Leeson & Caston, 2004).

El máximo nivel de enriquecimiento con luteína en huevos de gallina ha sido reportado por Leeson & Caston, (2004) y corresponde a 2,2 mg/60 g de huevo con una inclusión de 500 ppm en la dieta. Sin embargo, plantean que a concentraciones muy elevadas de luteína en la dieta llevan a una menor eficiencia de depósito de luteína en yema de huevo y por ende conllevan a una menor concentración.

2.12 Determinación de luteína en la yema de huevo

El interés por determinar el contenido de carotenoides, xantofilas y otros fitoquímicos antioxidantes, en alimentos como los huevos, se enfoca en la relación con la disminución en el riesgo a desarrollar enfermedades crónicas degenerativas debidas a estrés oxidativo (D. E Breithaupt, 2004). Para determinar el porcentaje de fijación de luteína en la yema de huevos se utiliza cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), esta es la técnica utilizada en la actualidad para la cuantificación de carotenoides y xantofilas, en este proceso las interacciones son suaves, por lo tanto evita la degradación de los pigmentos durante la cromatografía (Neue & El Fallah, 1997).

No hay procedimientos estándar para la extracción de carotenoides de las matrices de alimentos debido a su presencia generalizada y estructuras químicas variables (Rodriguez & Kimura, 2004). Los métodos oficiales para analizar la luteína incluyen la espectrometría ultravioleta y visible (UV-VIS), y ultra cromatografía líquida de alto rendimiento (UHPLC) (FAO/OMS, 1992). El método de UHPLC ha mejorado la precisión de detección de luteína y sus isómeros y ha reducido el límite de detección de otras sustancias, haciéndolo perfecto para el análisis de luteína y betacarotenos de las matrices alimentarias (Heo, Kim, Kang, & Moon, 2014).

La técnica de UHPLC tiene ventajas en términos de un aumento en la resolución con picos, sensibilidad y velocidad de análisis más estrechos (debido a tiempos de retención más cortos). UHPLC permite un mayor rendimiento de la muestra y es más rentable. Además, UHPLC es capaz de separar los carotenoides de la yema de huevo, incluidos los isómeros cis de luteína y zeaxantina, en menos de 10 minutos, mientras que se requirieron aproximadamente 80 minutos usando HPLC convencional (Wenzel, Seuss-Baum, & Schlich, 2011).

Una dificultad importante en el análisis de HPLC de carotenoides es la obtención de disoluciones de patrones estándar, ya que son altamente insaturados y propensos a la isomerización y oxidación. La pureza de los patrones deber ser verificada y los más impuros, re-purificados (García & Pérez, 2012).

Por otra parte, suelen ser caros y puede que no estén disponibles comercialmente, por lo que parece muy necesario que el laboratorio interesado en identificar la muestra pueda prepararse sus propios patrones.

La selección del disolvente a utilizar es crítica según la composición de la muestra que debe ser analizada. Los carotenos son muy solubles en éter de petróleo y hexano, mientras que las xantofilas se disuelven mejor en etanol y metanol (García & Pérez, 2012).

Los componentes de la muestra suelen identificarse a través del tiempo de retención en el cual eluyen los componentes del sistema cromatográfico. Este tiempo puede localizarse gráficamente a través del pico cromatográfico que es representado por una función Gaussiana, sobre la distribución de las moléculas que eluyen a lo largo del tiempo (Harris, 2001).

La cuantificación del pico, representada como el área, conlleva la evaluación del número de moléculas de cada soluto (cada pico) y, por tanto, la cantidad o concentración de esta. El análisis cuantitativo se basa en la comparación de la altura, o el área, del pico del analito con la de uno o más patrones inyectados bajo las mismas condiciones cromatográficas (Christian, 2009).

Los diferentes métodos analíticos disponibles sirven para identificar cuantitativamente la cantidad de luteína presente en la yema de huevo, esto se realiza principalmente con el fin de controlar el grado de pigmentación de las yemas para la aceptación del cliente (Hudon, 1994).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación política y geográfica

El presente estudio se realizó en las instalaciones del Proyecto Avícola (Figura 1) de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE.

Está ubicada en la Hacienda El Prado, parroquia San Fernando, cantón Rumiñahui, provincia de Pichincha, a una altura de 2748 m.s.n.m en las coordenadas, Longitud: $78^{\circ} 240' 4400''$, Latitud: $0^{\circ} 230' 2000''$.



Figura 1. Ubicación geográfica de la investigación

Fuente: (Google Maps, 2019)

3.2 Ubicación ecológica

La hacienda El Prado tiene una temperatura media anual de 13.88 °C, una precipitación anual de 1286 mm y una humedad relativa del 70 % (MA-56(Estación agrometeorológica IASA), 2018). Pertenece a la zona de vida bosque húmedo Montano (Holdridge, 1967).

3.3 Materiales

3.3.1 Materiales y equipos de campo

- codornices línea japónica
- galpón experimental
- sistema de jaulas en pisos suspendidos
- sistema de bebederos
- sistema de comederos
- sistema de ventilación
- desinfectantes (formol al 10% y sulfato de cobre al 5%)
- etiquetas de identificación
- registros de producción
- libreta de campo
- cubetas para huevos de codorniz
- alimento concentrado
- fuente de luteína (Leader Y15®)
- probeta de 500ml
- atomizador
- guantes de látex

- calculadora
- marcadores permanentes
- balanza análoga marca Camry, con capacidad de 15 kg
- balanza electrónica marca DIGI, con capacidad de 5kg
- termómetro Max-Min
- analizador de ORP (Oxidation Reduction Potencial)
- medidor de cloro

3.3.2 materiales y equipos de laboratorio

- 5 vasos de precipitación de 250 ml
- 5 vasos de precipitación de 150 ml
- 6 balones volumétricos de 30ml
- 1 probeta de 100 ml
- 32 matraces erlenmeyer de 30 ml
- 4 agitadores manuales
- 100 tubos de ensayo estériles con tapón
- 100 jeringas de 10 ml
- 100 viales (12x32 mm) color ámbar marca Thermo Scientific
- 100 filtros de nylon para jeringa de 0,45 μm
- 1 pipeta de 100 – 1000 μl
- 1 pipeta de 10 – 100 μl
- 30 puntas de pipetas
- 2 pissetas con agua destilada

- 1 rollo de papel aluminio
- Columna analítica de silicio C18 (universal) de 2,2 x 50 mm marca Thermo Scientific
- 1 centrifugadora marca TRIAC modelo 420 200
- 1 ultrasonido de 2 l de capacidad marca Fisher Scientific
- 1 equipo de UHPLC marca Thermo Scientific UltiMate 3000
- 1 analizador de calidad de huevos marca NABBEL DTE 6000

3.4 Reactivos

- 1000ml de etanol grado HPLC
- 1000ml de metanol grado HPLC
- 1000ml de acetonitrilo grado HPLC

Finalmente se utilizaron los paquetes informáticos InfoStat 2018, Nutrión 10 pro y Chromeleon™ Chromatography Data System (CDS).

3.5 Métodos

La investigación se llevó a cabo con 416 codornices de la línea genética japónica (*Coturnix coturnix japónica*), de 60 días de nacidas, con un peso promedio de 210 gramos. La unidad experimental fue una jaula donde se alojaron 13 codornices. Sobre estas jaulas se asignaron en forma aleatoria los tratamientos (Tabla 5).

Tabla 4

Descripción de las diferentes dosis que conforman los tratamientos

Tratamiento	Descripción
T ₀	Testigo, solo alimento concentrado
T ₁	Alimento concentrado más 6 mg luteína/ave/día
T ₂	Alimento concentrado más 12 mg luteína/ave/día
T ₃	Alimento concentrado más 18 mg luteína/ave/día

El experimento se dispuso bajo un diseño experimental completamente al azar con 8 repeticiones, cuyo modelo matemático es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = variable de respuesta experimental

μ = media general

T_i = efecto del i-ésimo nivel de luteína

e_{ij} = error experimental

La disposición del experimento en el campo se muestra en la Figura 2.

BATERÍA 1		BATERÍA 2		BATERÍA 3		BATERÍA 4	
T0	T1	T2	T3	T2	T1	T3	T0
T3	T2	T1	T0	T0	T2	T1	T3
T2	T0	T3	T1	T1	T3	T0	T2
T1	T0	T3	T2	T3	T1	T2	T0

Figura 2. Croquis experimental

Fuente: (Autora, 2019)

Se evaluaron los siguientes parámetros zootécnicos: el consumo de alimento, la ganancia de peso, la conversión alimenticia y el porcentaje de mortalidad y viabilidad. En la determinación de la calidad del huevo se analizaron las siguientes variables: peso del huevo, resistencia a la ruptura del cascaron, espesor de la cascara y color de la yema, además se realizó la cuantificación de luteína fijada en la yema de los diferentes tratamientos.

Las variables evaluadas se analizaron con estadística descriptiva (medias, error estándar, coeficientes de variación) y varias técnicas gráficas. Para determinar diferencias de las variables entre tratamientos se realizaron análisis de varianza para un diseño completamente al azar. Además, se realizaron pruebas de comparación de medias DUNCAN al 5 % para tratamientos.

Para el análisis de resultados de la investigación se utilizó el programa estadístico InfoStat 2018. Los tratamientos fueron considerados significativamente diferentes cuando $P < 0.05$, y presentaron una tendencia cuando $0.05 < P < 0.1$.

3.6 Preparación de instalaciones

Se realizó la limpieza y desinfección del galpón, equipos, cortinas, baterías, comederos y bebederos, 15 días antes de la recepción de las aves. Para la desinfección se utilizó desinfectantes acordes a las necesidades específicas de cada lugar, material y equipo.

Se utilizaron cuatro baterías metálicas de 1 m de longitud \times 0,35 m de ancho \times 1,50 m de alto de esta manera las codornices contaron con 115,4 cm² por ave. Cada batería estuvo conformada por 8 jaulas con capacidad de alojamiento de 13 aves, dispuestas en pisos suspendidos. Cada jaula contó con un bebedero tipo copa, un comedero para el alimento concentrado y una bandeja recolectora de codornaza. Se colocó a las aves y se etiquetaron las jaulas para identificar cada tratamiento.



Figura 5. Instalaciones de la investigación

Fuente: (Autora, 2019)

3.7 Elaboración de alimento concentrado

Desde la llegada de las aves, de un día de nacidas, hasta la semana 8 fueron alimentadas con alimento concentrado proveniente de la planta de Alimentos Concentrados de la Hacienda El Prado. A partir de la semana 9, se suministraron las diferentes dosis de la fuente de luteína con el alimento concentrado elaborado a base de maíz y soya. Esta dieta fue Iso-proteica, Iso-energética e Iso-fosfórica formulada en base a los requerimientos de codornices de postura publicados por Horacio et al. (2017), bajo un concepto de proteína ideal y energía metabolizable (Tabla 6). Para la formulación de la dieta se utilizó el software Nutrión 10 pro.

Tabla 5
Composición de la dieta y contenido de nutrientes

Nutriente	Dieta	
	Unidad	Valor
Energía metabolizable	MC/KG	2,895
Proteína total	%	22,128
Lisina Dig.	%	1,15
Metionina Dig.	%	0,69
Metionina + Cisteína Dig.	%	0,97
Treonina Dig.	%	0,72
Calcio	%	3,20
Fosforo asimilable	%	0,63
Sodio	%	0,19
Balance electrolítico	MEQ	224,05
Triptófano Dig.	%	0,21

Dig: digestible, MEQ: miliequivalente

3.8 Adición de luteína al alimento concentrado

El pigmento Leader Y15® que se utilizó como fuente de luteína se dosificó por aspersión, mezclando con el balanceado semanalmente para evitar perder las propiedades pigmentantes. El pigmento contiene 15 mg/cc, de xantofilas, de los cuales el 84% es luteína, dando un contenido total de 12,6 mg/cc de luteína, en la tabla 6 se indican las cantidades de pigmento utilizado para obtener las dosis de cada tratamiento, a lo largo de todo el experimento.

Tabla 7

Dosis de Luteína utilizada para cada tratamiento

Ítem	T0 (0 mg L)	T1 (6 mg L)	T2 (12 mg L)	T3 (18 mg L)
Aves por tratamiento	104	104	104	104
Consumo de alimento aves (kg/día)	3,12	3,12	3,12	3,12
Periodo de prueba (días)	30	30	30	30
Dosis de luteína (cc/kg/día)	0	16	32	48
Total, de luteína utilizada (l/T)	0,0	1,5	3,0	4,5

mg L: miligramos de luteína, Kg/día: kilogramos por día, cc/kg/día: centímetro cubico por kilogramo de alimento al día, l/T: litros por tratamiento

3.9 Suministro de alimento

El alimento se suministró diariamente 3 veces al día a las 7h00, 12h00 y 16h00. El alimento se pesó diariamente para cumplir con el requerimiento de las aves en producción (30 g/ave/día), la ración estuvo compuesta por el alimento concentrado combinado con la dosis de luteína, según el tratamiento asignado, el suministro de agua fue ad libitum mediante bebederos tipo copa instalados en cada jaula. La limpieza de las bandejas recolectoras de codornaza se realizó pasando un día durante todo el transcurso la investigación.

3.10 Consumo de alimento

Durante todo el experimento se tuvo un control estricto del alimento concentrado, diariamente se verificó que el alimento se encuentre en condiciones óptimas para el consumo de las aves, al final de cada día se recolectó el alimento sobrante de cada tratamiento y se pesó. El consumo de alimento se determinó por diferencia entre el alimento ofrecido y el alimento no consumido, este valor se dividió para el número de codornices de cada uno de los tratamientos.

Formula:

$$CA = \frac{CAO - ANC}{\# \text{ de aves por tratamiento}}$$

Donde:

CA = Consumo de alimento

CAO = Consumo de alimento ofrecido

ANC = Alimento no consumido

3.11 Ganancia de peso

Para el cálculo de la ganancia de peso al inicio del experimento se procedió al pesaje individual de las aves por cada tratamiento, en una balanza electrónica marca DIGI, con capacidad de 5kg, esto se realizó semanalmente hasta el último día del experimento, una vez obtenidos estos datos se aplicó la siguiente fórmula:

$$GP = \frac{PF - PI}{\# \text{ días}}$$

Donde:

GP = Ganancia de peso (gr/día)

PF = Peso final (gr)

PI = Peso inicial (gr)

#días = Número de días

3.12 Factor de conversión alimenticia

Para calcular el factor de conversión alimenticia se registró el total de alimento ofrecido y el total de huevos producidos por las aves de cada tratamiento, con estos datos se aplicó la siguiente fórmula:

$$FCA = \frac{\text{Total alimento ofrecido}(kg)}{\text{Total de kg de producto (huevo) día}}$$

3.13 Producción de huevos o porcentaje de postura

Para el cálculo de este parámetro se procedió a recolectar los huevos de cada tratamiento y sus respectivas repeticiones, diariamente y a la misma hora (8h00), se registró la cantidad de huevos rotos y los huevos aptos para la venta. La producción o postura (%) de huevo día se expresa como:

$$\% \text{ Postura (ave/día)} = \frac{\# \text{ de huevos} \times 100}{\text{existencia de aves actuales}}$$

3.14 Mortalidad y viabilidad

El porcentaje de mortalidad acumulada se obtendrá mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ MA} = \frac{\text{suma total aves muertas} \times 100}{\text{número de aves iniciales}}$$

Finalmente, el porcentaje de **viabilidad**, que expresa la cantidad de codornices sobrevivientes al final del experimento, se calculará con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Viabilidad} = \frac{\text{total de aves finales} \times 100}{\text{número de aves iniciales}}$$

3.15 Calidad de huevo

Diariamente se recolectó y registró la producción de cada uno de los tratamientos por el lapso de 4 semanas. La determinación de la calidad de huevo se realizó con el equipo NABEL DET-6000, se escogieron 8 huevos semanales por cada tratamiento, para realizar las respectivas determinaciones de los siguientes parámetros: peso (g), dureza del cascarón (Kg/f), espesor de cáscara (mm) y color de yema (escala DSM YolkFan™ 16), con esta información se realizaron las respectivas comparaciones entre tratamientos.



Figura 8. Medidor digital de huevos DET-6000

Fuente: (Autora, 2019)

3.16 Cantidad de luteína fijada en la yema de los huevos

Para la determinación de la cantidad de luteína fijada en la yema de los huevos, se utilizó el equipo de cromatografía líquida de ultra alta presión (UHPLC) marca Thermo Scientific UltiMate 3000 y para el procesamiento de los datos se usó el software Chromeleon™ Chromatography Data System (CDS).

3.16.1 Curva de calibración

Se desarrolló un método de calibración en el laboratorio de enzimología de la universidad de las Fuerzas Armadas para la determinación de la cantidad de luteína en las muestras de los diferentes tratamientos, debido al limitado número de patrones disponibles comercialmente y la inestabilidad de estos.

Para realizar la curva de calibración se utilizó como patrón al pigmento natural Leader Y15 ® el cual contiene 84% de luteína, se realizó el proceso de dilución de concentración, el cual permite obtener de una solución concentrada otra de más baja concentración, de esta manera el pigmento fue diluido en etanol ya que este permite la solubilidad de algunos compuestos polares como la luteína.

Para diluir la solución, se incrementó el volumen del etanol (solvente) hasta obtener la nueva concentración, la Tabla 7 muestra las diferentes concentraciones utilizadas en la investigación. El cálculo de dilución de la concentración de luteína se realizó mediante la siguiente ecuación de concentración y volumen: $C1V1 = C2V2$

Tabla 8

Concentraciones de calibración

Concentración	ppm de luteína
C1	1500
C2	1000
C3	500
C4	100
C5	20
C6	10

ppm: partes por millón



Figura 10. Concentraciones de calibración

Fuente: (Autora, 2019)

3.16.2 Preparación de las muestras

Los huevos de cada tratamiento fueron limpiados con agua destilada y secados a temperatura ambiente, después de romper los huevos se separó la albúmina y la yema, se recogió el contenido de la yema y se la mezcló a fondo con 20 ml de etanol grado HPLC durante 2 minutos utilizando ultrasonido ya que este mejoró el proceso de extracción al estar relacionado con la destrucción de la pared celular y la reducción del tamaño de partícula.

Posteriormente las muestras de cada tratamiento se colocaron en tubos de ensayo estériles y se centrifugaron por 7 minutos, con una jeringuilla se extrajeron 3 ml de la mezcla para pasarla por los filtros de jeringa de 0,45 μm llenando los viales hasta 1,5 ml, finalmente se taparon los viales para la inyección en el UHPLC y se realizó las lecturas.

Las separaciones cromatográficas se realizaron en una columna TC-C18 (2,1 \times 50 mm) a una temperatura de columna de 20 ° C. Se utilizó acetonitrilo, etanol y agua (60:35:5 v/v) como fases móviles. La longitud de onda de detección se ajustó a 450 nm. El volumen de inyección fue de 20 μl y la velocidad de flujo se estableció en 7.0 ml/min.



Figura 6. Preparación de las muestras para inyección en UHPLC

Fuente: (Autora, 2019)

3.17 Análisis económico

Se realizó el análisis económico para establecer la viabilidad del uso de luteína en la dieta de codornices de postura. Para este análisis se utilizó el indicador costo/beneficio para la evaluación de la mejor alternativa económica.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Consumo de alimento

En el estudio efectuado sobre la inclusión de cuatro diferentes niveles de luteína en la dieta de codornices de postura los consumos de alimento promedio fueron de: 30,0; 29,82; 27,37 y 23,48 gramos/ave/día para los tratamientos T0; T1; T2 y T3 respectivamente.

Se presentaron diferencias significativas en el consumo de alimento ($F_{3,116} = 1202,14$; $P > 0,0001$), entre los tratamientos. Las aves que fueron alimentadas con el T2 (12 mg/ave/día) y el T3 (18 mg/ave/día) presentaron una disminución en el consumo de alimento durante todo el periodo de evaluación (Tabla 9).

En las codornices la selección de los alimentos se establece más por las sensaciones gustativas que por la impresión olfativa y táctil. Las codornices cuentan con formaciones llamadas botones gustativos, situados en la base de la lengua y la faringe, relacionados directamente con las glándulas salivales, y de acuerdo con la edad se acentúa la sensibilidad gustativa (Vásquez & Ballesteros, 2007). En base a esto se puede comprender que la disminución del consumo de alimento del T3 es por la baja palatabilidad de este, ocasionado por la dosis de luteína presente en dicho tratamiento.

Los resultados del presente estudio no concuerdan con lo reportado por Alay & Karadas (2016) quienes evaluaron los efectos de la suplementación de distintos carotenoides y entre ellos el extracto de caléndula azteca (*Tagetes erecta*) como fuente de luteína en la alimentación de codornices de postura, determinaron que éste parámetro no se ve afectado.

Según Leeson & Caston (2004) quienes realizaron un estudio en gallinas ponedoras, evaluaron diferentes niveles de inclusión de luteína en la dieta de las aves y determinaron que no tuvo efectos en el consumo de alimento en los distintos tratamientos, a su vez Hasin, Ferdaus, Islam, Uddin, & Islam (2006) evaluaron la idoneidad de inclusión de distintos niveles de pigmentos naturales como el extracto de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) y la piel de naranja como agentes pigmentantes de la yema de huevo, se determinó que dicha inclusión en la dieta de las aves no afectó el consumo de alimento.

Tabla 9

Promedio ± desviación estándar del consumo de alimento de codornices de postura alimentadas con cuatro niveles de luteína

Tratamiento	Consumo de alimento (g)
T0 (0 mg luteína/ave/día)	30,0 ± 0,00 a
T1 (6 mg luteína/ave/día)	29,82 ± 0,05 a
T2(12 mg luteína/ave/día)	27,37 ± 0,55 b
T3(18 mg luteína/ave/día)	23,48 ± 0,78 c

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (P > 0,05)

g: gramos

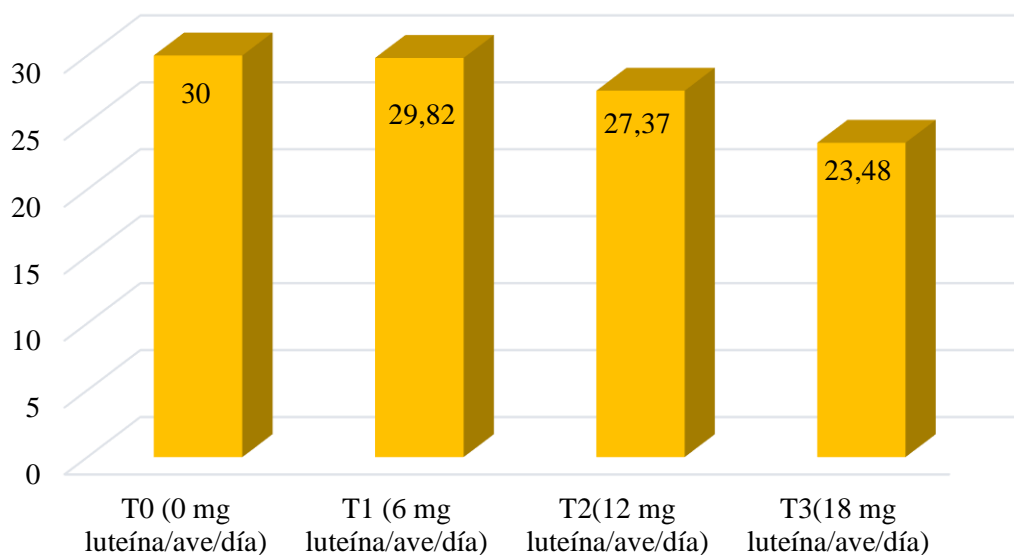


Figura 7. Consumo promedio de alimento (g/ave/día) según tratamiento

4.2 Ganancia de peso

En el estudio efectuado sobre la inclusión de cuatro diferentes niveles de luteína en la dieta de codornices de postura las ganancias de peso promedio fueron de: 0,29; 0,29; 0,05; -0,13 gramos/ave/día para los tratamientos T0; T1; T2 y T3 respectivamente. En los tratamientos evaluados se encontraron diferencias significativas en cuanto a la ganancia de peso ($F_{3,60} = 17,54$; $P < 0,0001$). Las aves que fueron alimentadas con la dieta T3 (18 mg/ave/día) presentaron menor ganancia de peso, debido a la baja palatabilidad de esta. Las aves que consumieron las dietas de los tratamientos T0 (0 mg/ave/día) y T1 (6 mg/ave/día) presentaron una ganancia promedio diaria de 0,29 g de peso (Tabla 10).

En el estudio realizado por Lokaewmanee, Yamauchi, Komori, & Saito (2011) probaron la inclusión de 5 niveles de luteína saponificada y no saponificada de harina de flor de caléndula (*Tagetes erecta*) sobre la coloración de la yema de huevo de gallina donde se determinó que el incremento de luteína en la dieta no redujo la ganancia de peso diaria. Sujatha, Sunder, Kundu, & Kundu (2015) evaluaron el enriquecimiento del huevo de gallinas desi con polvo de pétalos secos de caléndula (*Tagetes erecta*) bajo cuatro tratamientos dietéticos, concluyeron que la alimentación de hasta 3 g de caléndula a las aves no mostró ningún efecto adverso sobre la palatabilidad del alimento.

Tabla 10

Promedio \pm desviación estándar de la ganancia de peso diaria de codornices de postura alimentadas con cuatro niveles de luteína

Tratamiento	Ganancia de peso (g)
T0 (0 mg luteína/ave/día)	0,29 \pm 0,15 a
T1 (6 mg luteína/ave/día)	0,29 \pm 0,16 a
T2(12 mg luteína/ave/día)	0,05 \pm 0,19 b
T3(18 mg luteína/ave/día)	-0,13 \pm 0,26 c

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0,05$)
g: gramos

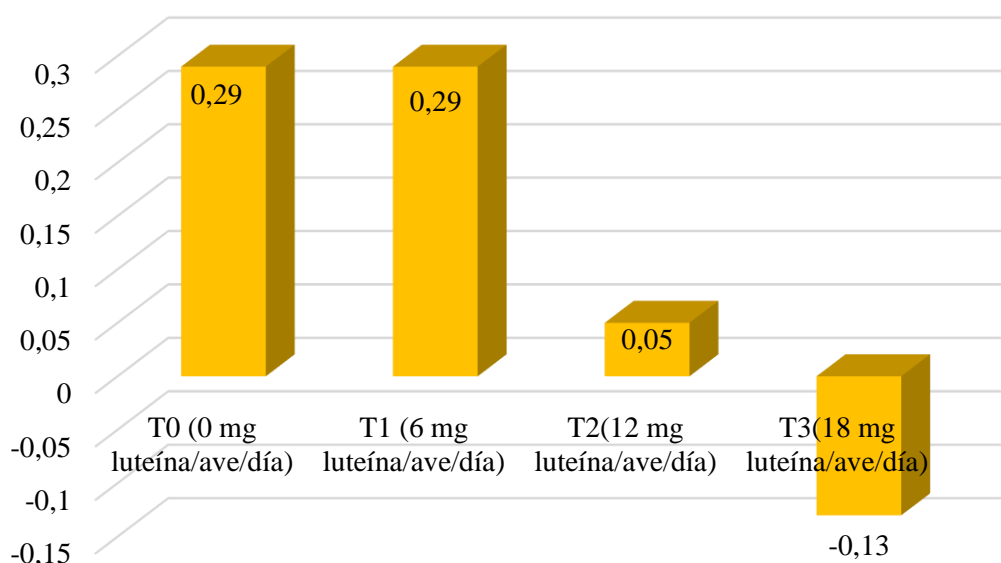


Figura 8. Ganancia promedio de peso de las aves segun tratamiento

4.3 Conversión alimenticia

En el estudio efectuado sobre la inclusión de cuatro diferentes niveles de luteína en la dieta de codornices de postura las conversiones alimenticias promedio fueron de: 2,55; 2,58; 2,59; 2,77 para los tratamientos T0; T1; T2 y T3 respectivamente. Al evaluar la conversión alimenticia se presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($F_{3,116} = 16,62$; $P < 0,0001$) como se observa en la Tabla 11. Las aves alimentadas con la dieta del T3 (18 mg/ave/día) presentaron un aumento del índice de conversión alimenticia, esto concuerda con la reducción en la producción de huevos (Tabla 12) puesto que la ingesta de nutrientes es determinante en el aspecto productivo de las aves.

Resultados similares fueron los reportados por Ticona, (2011) sobre el efecto de la aplicación de tres niveles de harina de alfalfa (*Medicago sativa*) como fuente de luteína en la producción de huevos de codorniz obteniendo diferencias significativas en la conversión alimenticia entre tratamientos. En el estudio se determinó que fue necesario más kilogramos de alimento para producir un kilo de huevos en los tratamientos de mayor inclusión de harina de alfalfa, ya que los índices de conversión alimenticia fueron más altos que los tratamientos de menor inclusión y el testigo lo que afectó significativamente la producción de los huevos en cada tratamiento.

Al contrario de estos resultados Galobart et al. (2004) estudiaron la influencia de la saponificación de varias xantofilas de la flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) a niveles graduales en la coloración de la yema de huevo de gallinas ponedoras, concluyeron que el parámetro de conversión alimenticia fue considerado normal para las condiciones de los experimentos y no fueron influenciados por la dieta de los tratamientos.

Hasin et al. (2006) en su estudio sobre la idoneidad de pigmentación de la yema de huevo de gallinas ponedoras a base de pigmentos naturales reportaron que la inclusión de distintos niveles de flor de compasúchil (*Tagetes erecta*) y piel de naranja en la dieta de las aves no presento variaciones significativas con respecto a la conversión alimenticia entre tratamientos.

Tabla 11

Promedio \pm desviación estándar de la conversión alimenticia de codornices de postura alimentadas con cuatro niveles de luteína

Tratamiento	Conversión alimenticia
T0 (0 mg luteína/ave/día)	2,55 \pm 0,10 a
T1 (6 mg luteína/ave/día)	2,58 \pm 0,12 a
T2(12 mg luteína/ave/día)	2,59 \pm 0,12 a
T3(18 mg luteína/ave/día)	2,77 \pm 0,18 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0,05$)

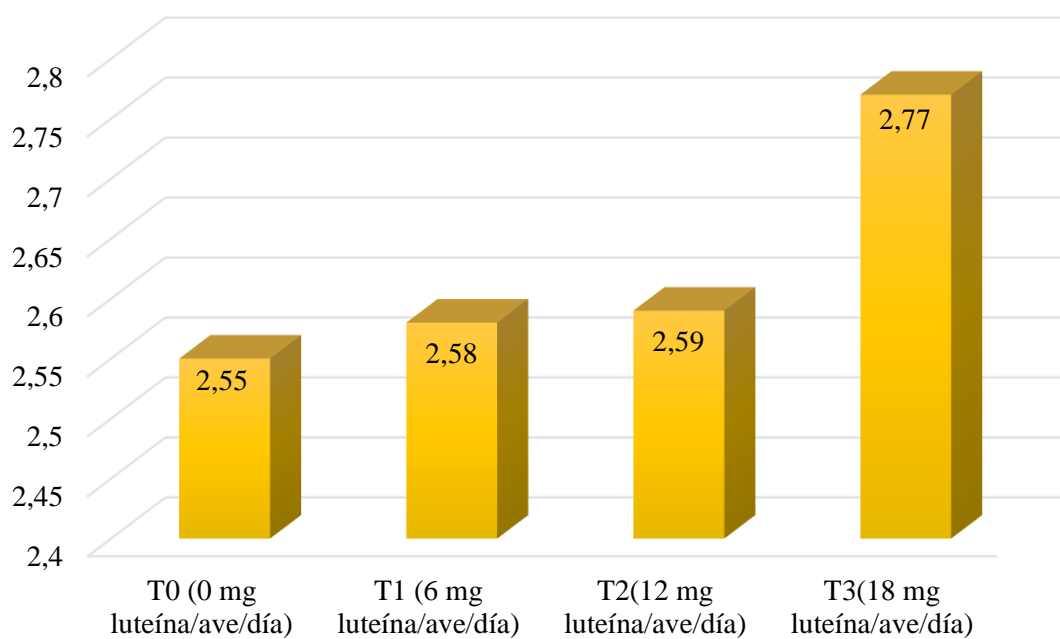


Figura 9. Conversión alimenticia promedio de las aves según tratamiento

4.4 Porcentaje de postura

Las codornices alimentadas con los diferentes niveles de luteína presentaron diferencias significativas entre tratamientos sobre el porcentaje de postura ($F_{3,116} = 11,62$; $P < 0,0001$). Las aves del T3 (18 mg/ave/día) presentaron menor producción de huevos que el resto de los tratamientos evaluados (Tabla 12), a su vez las aves bajo este tratamiento presentaron disminución en el consumo de alimento, de ganancia de peso y un índice mayor de conversión alimenticia, esto debido a la baja palatabilidad de la dieta.

Tabla 12

Promedio \pm desviación estándar del porcentaje de postura de codornices japónicas alimentadas con cuatro niveles de luteína

Tratamiento	Porcentaje de postura (%)
T0 (0 mg luteína/ave/día)	88,44 \pm 3,43 a
T1 (6 mg luteína/ave/día)	87,64 \pm 3,58 a
T2(12 mg luteína/ave/día)	88,29 \pm 3,63 a
T3(18 mg luteína/ave/día)	83,67 \pm 3,82 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0,05$)
%: Porcentaje

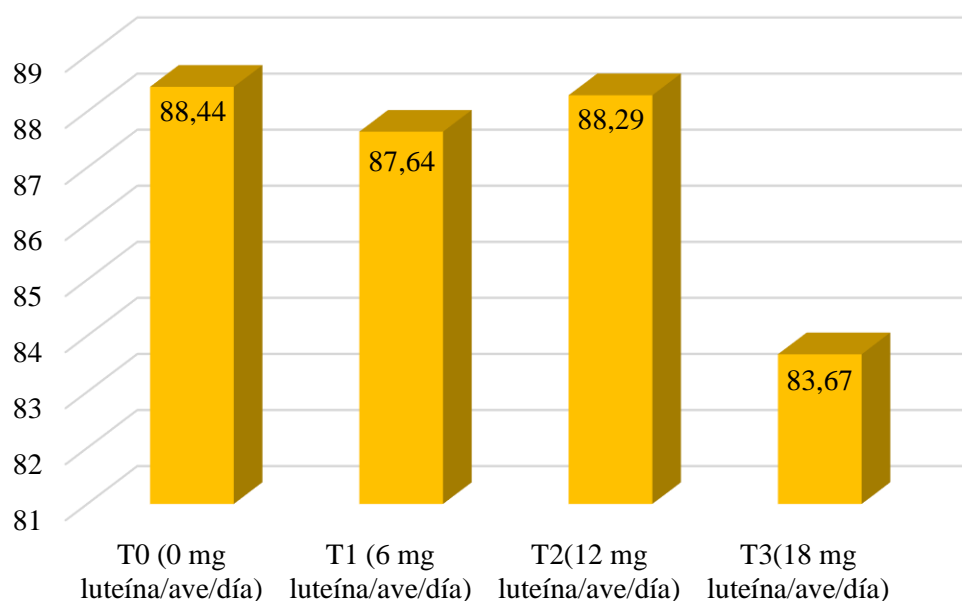


Figura 10. Producción promedio diaria de huevos por tratamiento

4.5 Mortalidad y viabilidad

El efecto de la inclusión de cuatro niveles de luteína en la dieta de codornices de postura tuvo un efecto significativo en la mortalidad de las aves de los diferentes tratamientos ($P < 0,05$), se presentaron mortalidades de: 1% (T0), 1,9% (T1), 3,8% (T2) y 12,5% (T3).

Los resultados del presente estudio no concuerdan con lo reportado por Leeson & Caston, (2004) y Lokaewmanee et al., (2011) quienes evaluaron diferentes niveles de inclusión de luteína en la dieta de gallinas de postura y concluyeron que las aves se mantuvieron saludables y no hubo mortalidades significativas en los tratamientos.

En cuanto al porcentaje de viabilidad los resultados demuestran que el T3 (18 mg/ave/día) es el menos indicado para el desarrollo productivo de codornices de postura.

Las aves alimentadas con el tratamiento T3 (18 mg/ave/día), fueron las que presentaron valores más altos de mortalidad, posiblemente debido a la dosis de luteína de la dieta, ya que esta posee un PH (13) alcalino que puede producir una inflamación a nivel intestinal. Según Crespo, Franca, & Shivaprasad, 2013, la enteritis en aves suele estar acompañada de anorexia, debilidad, y diarrea, que puede o no tener sangre en ella. Es común un crecimiento deficiente de las codornices, una menor conversión alimenticia, y puede aumentar la mortalidad.

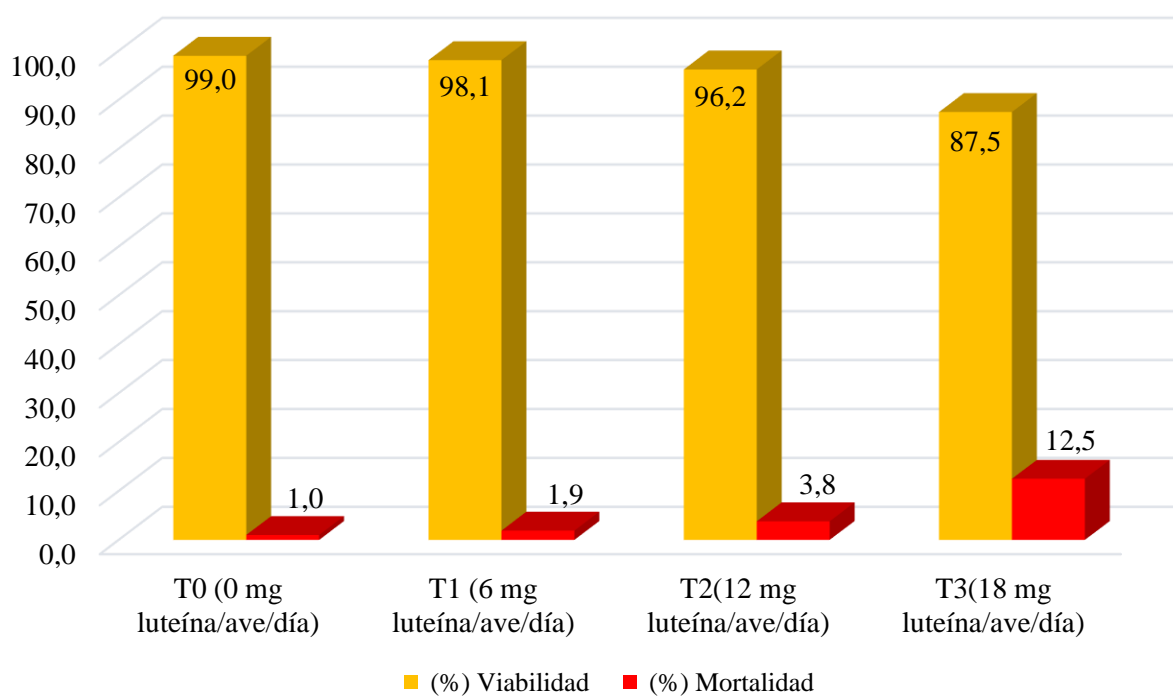


Figura 11. Porcentaje de mortalidad y viabilidad acumulada por tratamiento



Figura 12. Diarreas sanguinolentas de las aves del T3

Fuente: (Autora, 2019)

4.6 Comparación de los parámetros zootécnicos

A continuación, se observa la tabla resumen de los resultados obtenidos en la investigación en cuanto a los parámetros productivos.

Tabla 13

Promedios ± desviaciones estándar de los parámetros productivos de codornices japónicas alimentadas con cuatro diferentes niveles de luteína

Parámetro	T0 (0 mg /ave/día)	T1 (6 mg/ ave/ día)	T2 (12 mg/ave/día)	T3 (18 mg/ave/día)
Consumo de alimento (g/ave/día)	30,0 ± 0,00 a	29,82 ± 0,05 a	27,37 ± 0,55 b	23,48 ± 0,78 c
Ganancia de peso (g/ave/día)	0,29 ± 0,15 a	0,29 ± 0,16 a	0,05 ± 0,19 b	-0,13 ± 0,26 c
Conversión alimenticia	2,55 ± 0,10 a	2,58 ± 0,12 a	2,59 ± 0,12 a	2,77 ± 0,18 b
Porcentaje de postura	88,44 ± 3,43 a	87,64 ± 3,58 a	88,29 ± 3,63 a	83,67 ± 3,82 b
Mortalidad (%)	1	1,9	3,8	12,5
Viabilidad (%)	99	98,1	96,2	87,5

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0,05$)

4.7 Calidad de huevo

4.8 Peso (g)

En el estudio efectuado sobre la inclusión de cuatro diferentes niveles de luteína en la dieta de codornices de postura los pesos promedio de los huevos fueron: 13,08; 13,52; 13,40 y 13,33 para los tratamientos T0; T1; T2 y T3 respectivamente. En los tratamientos evaluados no se encontraron diferencias significativas en cuanto al peso de los huevos ($F_{3,124} = 0,93$; $P = 0,4276$) (Tabla 11). Resultados obtenidos por Alay & Karadas (2016), validan la información obtenida, donde suministraron distintos niveles de carotenoides y entre ellos el extracto de caléndula azteca (*Tagetes erecta*) en la alimentación de codornices japonesas, esta inclusión no afectó el peso de los huevos de los distintos tratamientos.

Estos resultados concuerdan con estudios similares realizados en gallinas ponedoras donde los autores Leeson & Caston (2004); Hasin, Ferdaus, Islam, Uddin, & Islam (2006); Niu, Fu, Gao, & Liu (2008); concluyeron que las características externas de calidad del huevo, como el peso, no varían con la suplementación de pigmentos naturales o sintéticos en las dietas de las aves y a diferentes niveles de inclusión.

Tabla 14

Promedio \pm desviación estándar del peso de los huevos de codornices de postura alimentadas con cuatro niveles de luteína

Tratamiento	Peso de huevos (g)
T0 (0 mg luteína/ave/día)	13,08 \pm 0,93 a
T1 (6 mg luteína/ave/día)	13,52 \pm 1,23 a
T2(12 mg luteína/ave/día)	13,40 \pm 0,92 a
T3(18 mg luteína/ave/día)	13,33 \pm 1,17 a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0,05$)

g: gramos

4.9 Dureza del cascarón (kg/f)

En el estudio efectuado sobre la inclusión de cuatro diferentes niveles de luteína en la dieta de codornices de postura las durezas promedio de los cascarones fueron: 0,94; 0,98; 1,01 y 1,05 para los tratamientos T0; T1; T2 y T3 respectivamente. La inclusión de luteína en la dieta de de las aves no presentó diferencias significativas entre tratamientos en cuanto al parámetro dureza del cascarón ($F_{3,124}=1,05$; $P=0,3750$) como se indica en la Tabla 12.

La investigación realizada por Moeini, Ghazi, Sadegh, & Malekizadeh (2013) coincide con los resultados obtenidos, evaluaron el efecto de diferentes niveles de inclusion, en a dieta de ggallinas ponedoras, de pimiento rojo y polvo de flor de caléndula sobre la producción y calidad de huevos y la pigmentación de la yema de huevo.

A su vez los resultados obtenidos en la investigación son similares a estudios realizados por Sujatha et al. (2015), Hasin et al. (2006), Lokaewmanee et al. (2011), coinciden en que la adición de diferentes niveles de inclusión de diversas fuentes de pigmentos naturales para enriquecer la yema de huevos de gallinas ponedoras no afectan de manera significativa en la calidad de los huevos.

Tabla 15

Promedio \pm desviación estándar de la dureza del cascarón de los huevos de codornices de postura alimentadas con cuatro niveles de luteína

Tratamiento	Dureza del cascarón (kg/f)
T0 (0 mg luteína/ave/día)	0,94 \pm 0,27 a
T1 (6 mg luteína/ave/día)	0,98 \pm 0,24 a
T2(12 mg luteína/ave/día)	1,01 \pm 0,28 a
T3(18 mg luteína/ave/día)	1,05 \pm 0,21 a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0,05$)

Kg/f: kilogramos/fuerza

4.10 Espesor de cáscara (mm)

En el estudio efectuado sobre la inclusión de cuatro diferentes niveles de luteína en la dieta de codornices de postura los pesos promedio de los huevos fueron: 0,19; 0,19; 0,19 y 0,19 para los tratamientos T0; T1; T2 y T3 respectivamente.

El espesor de la cascara de los huevos no mostró diferencias significativas en los tratamientos evaluados ($F_{3,124}=0,86$; $P=0,4652$). Los autores Leeson & Caston (2004), Garcia et al. (2002) Rowghani, Maddahian, & Abousadi (2006), Reportaron resultados similares, en sus estudios concluyeron que los niveles de pigmentos naturales y sintéticos utilizados en las dietas de las aves mejoraron significativamente el color de las yemas, sin influir en los parámetros productivos y otras características de calidad de los huevos, entre ellos el espesor de la cáscara del huevo, de gallinas ponedoras comerciales.

Tabla 16

Promedio \pm desviación estándar del espesor de cascara de los huevos de codornices de postura alimentadas con cuatro niveles de luteína

Tratamiento	Espesor de cáscara (mm)
T0 (0 mg luteína/ave/día)	0,19 \pm 0,2 a
T1 (6 mg luteína/ave/día)	0,19 \pm 0,2 a
T2(12 mg luteína/ave/día)	0,19 \pm 0,3 a
T3(18 mg luteína/ave/día)	0,19 \pm 0,2 a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0,05$)
mm: milímetros

4.11 Color de yema (escala DSM YolkFan™ 16)

En el estudio efectuado sobre la inclusión de cuatro diferentes niveles de luteína en la dieta de codornices de postura los colores promedio de las yemas de los huevos en la escala DSM YolkFan™ 16 fueron: 5,79; 9,76; 10,88 y 10,73 para los tratamientos T0; T1; T2 y T3 respectivamente.

En cuanto al color de la yema de los huevos de codornices presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($F_{3,124} = 140,25$; $P < 0,0001$), siendo T2(12 mg luteína/ave/día) y T3(18 mg luteína/ave/día) los tratamientos que presentaron mayor pigmentación de la yema según la escala DSM YolkFan™ 16 y el testigo T0 (0 mg luteína/ave/día) presento la menor pigmentación (Tabla 15). Los resultados de este estudio revelaron que la suplementación de diferentes niveles de luteína en la dieta de las aves mejora el color de la yema de los huevos ($p < 0,05$).

La luteína se encuentra principalmente en la flor de Cempasúchil (*Tagetes erecta*), y su extracto se ha utilizado para producir aditivos de luteína, los extractos suministran más del 95% de la luteína esterificada disponible (Dietmar, Breithaupt, Wirt, & Bamedi, 2002).

Los resultados obtenidos en la investigación son similares a los reportados por Alay & Karadas (2016) quienes evaluaron la suplementación de distintos pigmentos, entre ellos el extracto de la flor de Cempasúchil (*Tagetes erecta*), en la dieta de codornices japonesas de postura, concluyeron que la amarillez de la yema de huevo fue significativamente mayor en los tratamientos que contenían el pigmento en comparación con el tratamiento control según el puntaje obtenido en la escala DSM YolkFan.

Karadas, Grammenidis, Surai, Acamovic, & Sparks (2006) utilizaron codornices de postura para evaluar la pigmentación de la yema de los huevos mediante la adición de pigmentos naturales, como la flor de Cempasúchil (*Tagetes erecta*), entre otros a la dieta de las aves. La evaluación del color de la yema (abanico de color DSM YolkFan) fue significativo y mostró un aumento en los huevos de los tratamientos con inclusión de pigmento. Se concluyó que, en comparación al tratamiento control, hubo un aumento en las concentraciones de luteína y zeaxantina en los huevos producidos por los pigmentos naturales, además se demostró que la luteína es el principal carotenoide en la yema de huevo.

Estudios realizados en gallinas de postura reportaron resultados similares a los obtenidos en esta investigación Leeson & Caston (2004) quienes investigaron sobre el enriquecimiento de huevos de gallinas con luteína extraída de la flor de Cempasúchil (*Tagetes erecta*) concluyeron que a medida que aumentaba el contenido de luteína en la dieta aumentaba el contenido de luteína en la yema de los huevos, sin embargo, la eficiencia de la transferencia de la luteína del alimento a la yema de los huevos disminuyó a medida que aumentó el nivel de inclusión de luteína. En comparación con el testigo hubo un aumento significativo en el color de la yema de huevo cuando se agregó luteína a la dieta, y esto no se vio afectado por el nivel de inclusión.

Lokaewmanee et al. (2011) evaluaron los efectos de la luteína no saponificada y saponificada de harina de flor de la flor de Cempasúchil (*Tagetes erecta*) sobre la coloración de la yema de huevo de gallina. El color de la yema de huevo se examinó visualmente usando el abanico de color DSM YolkFan.

En comparación con los parámetros de color de la yema del tratamiento control, los de los grupos de tratamiento con luteína tendieron a ser más altos, además las aves que fueron alimentadas con la dieta de luteína saponificada presentaron mayor coloración de las yemas que el resto de los tratamientos.

Skřivan, Englmaierová, Skřivanová, & Bubancová (2015) agregaron a las dietas de gallinas ponedoras el extracto de flor de Cempasúchil (*Tagetes erecta*), una fuente natural de xantofilas, a diferentes concentraciones para determinar los efectos en las características físicas de la calidad del huevo y el contenido de carotenoides de la yema. La luteína y el contenido de zeaxantina en la yema aumentó cuando se aumentó la dosis de inclusión, los valores de pigmentación de la yema se observaron por DSM YolkFan.

La inclusión del extracto de flor de Cempasúchil (*Tagetes erecta*) es una alternativa natural adecuada para aumentar el contenido de luteína en los huevos en comparación con los carotenoides sintéticos utilizados comercialmente (Skřivan et al., 2015)

Tabla 17

Promedio \pm desviación estándar del color de la yema de los huevos de codornices de postura alimentadas con cuatro niveles de luteína

Tratamiento	Color de la yema
T0 (0 mg luteína/ave/día)	5,79 \pm 1,41 a
T1 (6 mg luteína/ave/día)	9,76 \pm 1,31 b
T2(12 mg luteína/ave/día)	10,88 \pm 0,80 c
T3(18 mg luteína/ave/día)	10,73 \pm 0,93 c

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0,05$)

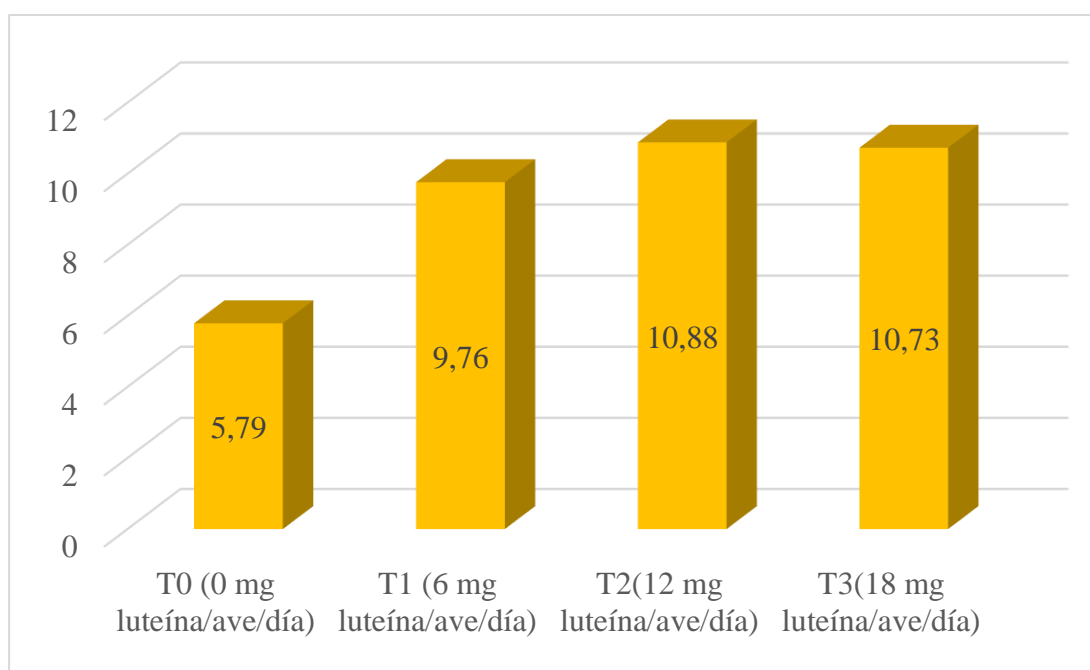
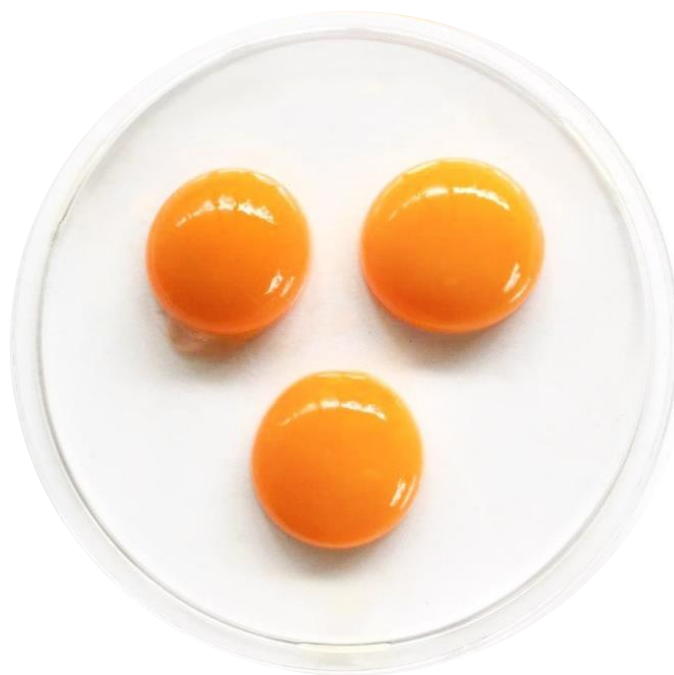
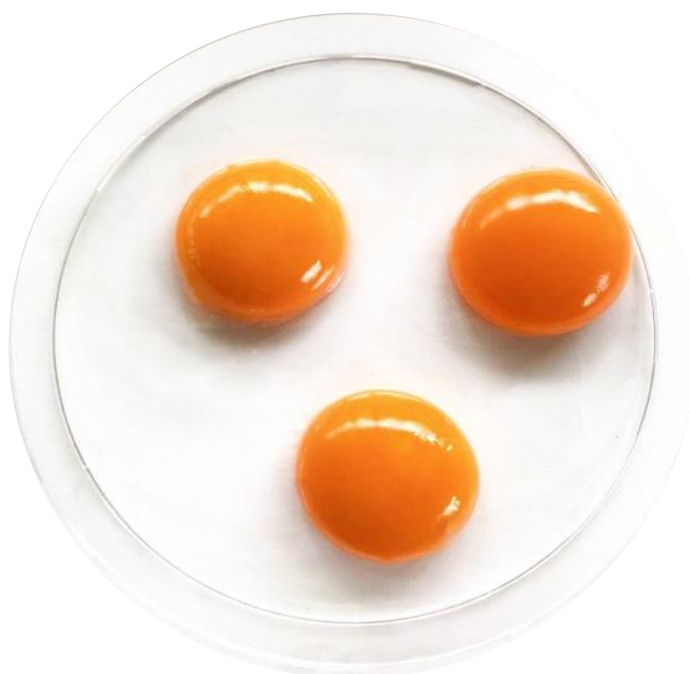


Figura 13. Promedio del color de yema de huevos por tratamiento

T0 (0 mg luteína/ave/día)**T1 (6 mg luteína/ave/día)****T2 (12 mg luteína/ave/día)****T3 (18 mg luteína/ave/día)****Figura 14.** Coloración de las yemas de los distintos tratamientos

Fuente: (Autora, 2019)

4.12 Comparación de los parámetros de calidad de huevo

A continuación, se observa la tabla resumen de los resultados obtenidos en la investigación en cuanto a los parámetros de calidad.

Tabla 18

Promedios \pm desviaciones estándar de los parámetros de calidad de huevo de codornices japónicas alimentadas con cuatro diferentes niveles de luteína

Parámetro	T0 (0 mg /ave/día)	T1 (6 mg/ ave/ día)	T2 (12 mg/ave/día)	T3 (18 mg/ave/día)
Peso (g)	13,08 \pm 0,93 a	13,52 \pm 1,23 a	13,40 \pm 0,92 a	13,33 \pm 1,17 a
Dureza del cascarón (kg/f)	0,94 \pm 0,27 a	0,98 \pm 0,24 a	1,01 \pm 0,28 a	1,05 \pm 0,21 a
Espesor de cáscara (mm)	0,19 \pm 0,2 a	0,19 \pm 0,2 a	0,19 \pm 0,3 a	0,19 \pm 0,2 a
Color de la yema (DSM YolkFan)	5,79 \pm 1,41 a	9,76 \pm 1,31 b	10,88 \pm 0,80 c	10,73 \pm 0,93 c

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0,05$)

4.13 Cantidad de luteína fijada en la yema de los huevos

En el estudio efectuado sobre la inclusión de cuatro diferentes niveles de luteína en la dieta de codornices de postura los valores promedio de las cantidades de luteína fijada en la yema de los huevos fueron: 32,65; 664,49; 714,67; y 760,10 (ppm) para los tratamientos T0; T1; T2 y T3 respectivamente.

La capacidad de pigmentación de cada carotenoide viene determinada por la eficacia de absorción intestinal y su afinidad específica por depositarse en la yema de huevo, muchos de los estudios realizados utilizan extracto de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) sin un proceso posterior de saponificación, esto limita su absorción intestinal, y de hecho ha quedado ampliamente probado que la luteína libre puede llegar a doblar su absorción y deposición en el huevo (Galobart et al., 2004).

Los resultados obtenidos en el presente estudio coinciden con lo antes mencionado, ya que se utilizó una fuente de luteína altamente biodisponible y se demostró que las codornices lograron fijar la luteína de la dieta en la yema de huevo, se obtuvieron las siguientes concentraciones de luteína en la yema: 1,9; 6,64; 7,15; 7,6 (mg) para los tratamientos T0; T1; T2 y T3 respectivamente.

Leeson & Caston, (2004) utilizaron el extracto de flor de cempasúchil no esterificada para alimentar a gallinas ponedoras Isa-Brown de 56 semanas de edad, y evaluaron el enriquecimiento de los huevos. Los resultados obtenidos confirmaron la relación directa entre luteína en la dieta y la concentración en la yema de huevo, concluyeron que la eficacia de deposición disminuyó a medida que aumentaron los niveles en la dieta de las ponedoras, lo cual coincide con los resultados obtenidos en esta investigación.

Los beneficios que aporta la luteína explican el interés actual en aumentar su contenido en la yema de huevo, Chung, Rasmussen, & Johnson, (2004) concluyeron que los carotenoides procedentes de la yema de huevo tienen mayor biodisponibilidad, 1 mg de luteína de huevo tiene la biodisponibilidad equivalente a 5 mg procedentes de suplementos dietéticos vegetales, esto debido a la matriz de lípidos de elevada digestibilidad y absorción de la yema.

Tabla 19

Promedio \pm error estándar de luteína fijada en la yema de los huevos de codornices de postura alimentadas con cuatro niveles de luteína

Tratamiento	Luteína fijada en la yema
T0 (0 mg luteína/ave/día)	32,65 \pm 6,09 a
T1 (6 mg luteína/ave/día)	664,49 \pm 39,54 b
T2(12 mg luteína/ave/día)	714,67 \pm 68,19 b
T3(18 mg luteína/ave/día)	760,10 \pm 50,71 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0,05$)

4.14 Análisis económico

Los resultados del análisis económico de los tratamientos experimentales se muestran en la Tabla 21. El costo del kilogramo de alimento concentrado para codornices de postura sin adición de luteína T0 (0 mg luteína/ave/día) fue de \$0,49 centavos, tomando en cuenta todos los costos de las materias primas utilizadas en la dieta, al comparar los costos de los tratamientos que contenían diferentes niveles de inclusión de luteína el T1 (6 mg luteína/ave/día) fue el tratamiento que presentó menor costo por kilogramo de alimento tratado con luteína \$0,87, además, se debe tomar en cuenta que a lo largo de toda la investigación este fue el tratamiento en que las aves presentaron mejores resultados, en cuanto a parámetros zootécnicos y calidad de huevo. El incremento del costo de la dieta del T1 fue de \$0,38 centavos por kilogramo de alimento al adicionar una fuente comercial de luteína, extracto de flor de Cempasúchil (*Tagetes erecta*), con un nivel de inclusión de 6mg luteína/ave/día.

Actualmente, en el mercado se encuentran diferentes tipos de huevos enriquecidos con: Omega 3, Zinc, vitamina A, D y E, selenio incluso combinaciones de algunos de estos elementos (Torre, Fonseca, & Quintana, 2012). Estudios anteriores han reportado un aumento en los costos de producción del 5.3% y 8.5% en huevos enriquecidos con selenio y un 12% en huevos enriquecidos con ácidos grasos omega-3 (Mendoza, Brambila, Arana, Sangerman, & Molina, 2016). Los huevos enriquecidos con luteína y zeaxantina aportan un nivel superior de carotenoides de forma natural y con alta biodisponibilidad, siendo esto de gran importancia para el organismo, principalmente para la vista (Torre et al., 2012).

Torre, Fonseca, & Quintana, (2012) mencionan que, en Latinoamérica, el huevo contiene alrededor de 0.2-0.3 mg de carotenoides, mientras que un huevo enriquecido aporta entre 0.6-0.8 mg, lo que significa que es tres veces más que un complemento multivitamínico. Lo que concuerda con los resultados de la presente investigación y justifica el costo adicional de producción ya que al adicionar 6 mg luteína/ave/día obtenemos huevos con una concentración de 6,64 mg de luteína.

En la actualidad el consumidor está pagando hasta 3 veces más por kg de huevo enriquecido, como: el orgánico, el rico en vitaminas y minerales, con más omega 3, de granjas de libertad de movimiento de las aves, por mencionar los más comunes (Mendoza et al., 2016). Siendo que estos tipos de huevo tienen un mayor precio al consumidor la estrategia económica para mantener la rentabilidad es producir un huevo enriquecido para el mercado nacional (Torre et al., 2012). El huevo enriquecido representa para el pequeño y mediano productor la estrategia económica a seguir; y para el consumidor una fuente alternativa para el consumo de un alimento funcional acorde a necesidades específicas.

Tabla 20

Análisis económico del efecto de la suplementación de diferentes niveles de luteína en la alimentación de codornices de postura

Tratamientos	Valor Kg/dieta	Valor L/kg	Costo por kg ATL
T0 (0 mg luteína/ave/día)	0,49	0	0,49
T1 (6 mg luteína/ave/día)	0,49	0,38	0,87
T2(12 mg luteína/ave/día)	0,49	0,77	1,26
T3(18 mg luteína/ave/día)	0,49	1,15	1,64

L: luteína, Kg: kilogramo, ATL: alimento tratado con luteína

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

En base a los resultados obtenidos en la presente investigación se concluye que:

- Tanto el desempeño productivo de las aves, como la calidad de los huevos se vieron afectados con la inclusión de los diferentes niveles de luteína.
- En cuanto a los parámetros productivos evaluados como: consumo de alimento, ganancia de peso, conversión alimenticia, porcentaje de postura, mortalidad y viabilidad, las aves que consumieron las dietas de los tratamientos T0 (0 mg/ave/día) y T1(6 mg/ave/día) se mantuvieron dentro de los parámetros normales. Por otro lado, las aves alimentadas con la dieta del T3 (18 mg/ave/día) presentaron una alteración en los parámetros antes mencionados debido a la baja palatabilidad de la dieta, ocasionado por la dosis de luteína presente.
- La inclusión de los diferentes niveles de luteína en la alimentación de las codornices de postura, no afectó los parámetros de calidad de huevo evaluados como: peso (g), dureza del cascarón (kg/f) y espesor de cáscara (mm), estos se mantuvieron dentro de los estándares normales, excepto el color de la yema por la suplementación de luteína que permitió aumentar la puntuación de color en la escala DSM YolkFan™ 16. Esto quiere decir que en el T1(6 mg/ave/día) se logró aumentar de 6 a 10 puntos de coloración en comparación al tratamiento control. Comprendiendo a este como uno de los criterios de calidad considerado más atractivo para el consumidor.

- Al utilizar una fuente de luteína altamente biodisponible para alimentar a las codornices se demostró que las aves fijan la luteína de la dieta en la yema de los huevos. Se obtuvieron las siguientes concentraciones de luteína: 1,9; 6,64; 7,15; 7,6 (mg) para los tratamientos T0; T1; T2 y T3 respectivamente. Siendo el T1 (6 mg/ave/día) el más indicado para el desarrollo productivo de codornices de postura, y el T3 (18 mg/ave/día) el menos indicado ya que las aves presentaron alteraciones en su salud con una elevada mortalidad.
- El T1 (6 mg luteína/ave/día) tuvo un costo de \$0,87 centavos siendo el tratamiento de menor costo por kilogramo de alimento tratado con luteína, además, a lo largo de toda la investigación este fue el tratamiento en el cual las aves mostraron mejores resultados, en cuanto a parámetros zootécnicos y calidad de huevo. El incremento del costo de la dieta del T1 fue de \$0,38 centavos por kilogramo de alimento comparado con el costo de la dieta del testigo. El costo adicional de producción se justifica en el producto final, ya que al adicionar 6 mg luteína/ave/día obtenemos huevos con una concentración de 6,64 mg de luteína, y en la actualidad el consumidor está pagando hasta 3 veces más por alimentos funcionales como los huevos enriquecidos.

5.2 Recomendaciones

- Se recomienda el uso de la dieta experimental con el tratamiento de inclusión de 6mg de luteína/ave/día en explotaciones dedicadas a la cotornicultura para mejorar la rentabilidad de estas.
- Realizar ensayos donde se pruebe el efecto de la inclusión de esta fuente altamente biodisponible de luteína en gallinas de postura.
- Estudiar el efecto de diferentes fuentes de luteína biodisponible en otras aves de interés zootécnico.

5.3 Bibliografía

- Alay, T., & Karadas, F. (2016). The effects of carotenoids in quail breeder diets on egg yolk pigmentation and breeder performance. *Acta Agriculturae Scandinavica A: Animal Sciences*, 66(4), 206–214. <https://doi.org/10.1080/09064702.2017.1330360>
- Antoniol, A., Takata, F. N., Rodrigues, G., Ferreira, A., Vasconcelos, T., & Cecon, P. R. (2011). Pigmentantes naturais em rações à base de sorgo para codornas japonesas em postura. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40(11), 2443–2449.
- Arai, S. (1996). Studies on functional foods in Japan. *State of the Art .Biosci. Biotech. Biochem*, 60, 9–15.
- Bello, J. (2000). *Alimentos con propiedades saludables especiales. En Alimentos composición y propiedades.* (Mc.Graw-Hi; I. Astiasarán & A. Martínez, Eds.).
- Breithaupt, D. E. (2004). Simultaneous HPLC determination of carotenoids used as food coloring additives: applicability of accelerated solvent extraction. *Food Chemistry*, 86(3), 449–456.
- Breithaupt, Dietmar E., Wirt, U., & Bamedi, A. (2002). Differentiation between Lutein Monoester Regioisomers and Detection of Lutein Diesters from Marigold Flowers (*Tagetes erecta* L.) and Several Fruits by Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1), 66–70. <https://doi.org/10.1021/jf0109701>
- Christian, G. D. (2009). *Química Analítica* (6ª edición; M. HILL, Ed.). Mexico.
- Chung, H.-Y., Rasmussen, H. M., & Johnson, E. J. (2004). Lutein Bioavailability Is Higher from Lutein-Enriched Eggs than from Supplements and Spinach in Men. *The Journal of Nutrition*, 134(8), 1887–1893. <https://doi.org/10.1093/jn/134.8.1887>
- Crespo, R., Franca, M., & Shivaprasad, H. L. (2013). Ulcerative Enteritis-like Disease Associated with *Clostridium sordellii* in Quail. *Avian Diseases*, 57(3), 698–702. <https://doi.org/10.1637/10485-010813-case.1>
- Cuca, M., Pino, J., & Mendoza, C. (1963). El uso de pigmentos en la alimentación de las aves. *Ciencias Pecuarias*, 2, 36–39. Retrieved from <http://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/download/2041/3455>
- Cuevas, B., Díaz, G., Molina, A., & Retamal, C. (2003). *Pigmentos utilizados en raciones de gallinas ponedoras. Chile: Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.* (Departamen). Chile.
- De la Cruz Sierra, C., Ávila, E., Fernández, S., Carrillo, S., & Quintana, J. (2007). Enriquecimiento de Huevo con la adición de Luteína y Zeaxantina en dietas para Gallinas Hy LineW-36 e Isa Babcock B 380. *Memorias Del XXXII Convención Nacional de Especialistas Avícolas*, 348–354. Mexico.

- Díaz, D., & Espinoza, R. (2017). COTURNICULTURA. Retrieved August 19, 2019, from <https://lebascom.files.wordpress.com/2017/06/coturnicultura.pdf>
- Evans, J. A., & Johnson, E. J. (2010). The role of phytonutrients in skin health. *Nutrients*, 2(8), 903–928. <https://doi.org/10.3390/nu2080903>
- FAO/OMS. (1992). Compendium of food additive specifications: combined specifications from 1st through the 37th Meetings, 1956-1990. *Comité Mixto FAO/OMS de Expertos Sobre Aditivos Alimentarios (JECFA)*, 854. Roma.
- Ferreira, T., Oliveira, R., Carneiro, V., Moura, J., Silva, A., & Nery, C. (2008). CALIDAD DEL HUEVO DE CODORNICES UTILIZANDO HARINA DE ALGAS MARINAS Y FOSFATO MONOAMÓNICO. *Archivos de Zootecnia*, 57(219). Retrieved from <https://www.redalyc.org/html/495/49515005004/>
- Galobart, J., Sala, R., Rinco, X., Gasa, J., Vila, B., & Manzanilla, E. (2004). Egg Yolk Color as Affected by Saponification of Different Natural Pigmenting Sources. *Applied Poultry Research*, 13(2), 328–334.
- Ganguly, J., Mehl, W., & Deuel, J. (1953). Studies on carotenoid metabolism. The effect of dietary carotenoids on the carotenoid distribution in the tissues of chickens. *Nutrition*, 50, 59–72.
- Garcia, E. A., Mendes, A. A., Pizzolante, C. C., Gonçalves, H. C., Oliveira, R. P., & Silva, M. (2002). Efeito dos níveis de cantaxantina na dieta sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais. *Revista Brasileira de Ciencia Avicola*, 4(1). <https://doi.org/10.1590/s1516-635x2002000100007>
- García, S., & Pérez, R. (2012). Aspectos Analíticos sobre la Determinación de Compuestos Carotenoides en Microalgas mediante Cromatografía de Líquidos con Detector de Diodos. In *Informes Técnicos Ciemat* (CIEMAT, Vol. 1). Retrieved from http://www.indec.gov.ar/uploads/informesdeprensa/pib_03_17.pdf
- Goodrow, E. F., Wilson, T. A., Houde, S. C., Vishwanathan, R., Scollin, P. A., Handelman, G., & Nicolosi, R. J. (2006). Consumption of One Egg Per Day Increases Serum Lutein and Zeaxanthin Concentrations in Older Adults without Altering Serum Lipid and Lipoprotein Cholesterol Concentrations. *The Journal of Nutrition*, 136(10), 2519–2524. <https://doi.org/10.1093/jn/136.10.2519>
- Handelman, G. ., Nightingale, Z. ., Lichtenstein, A. ., Schaefer, E. ., & Blumberg, J. B. (1999). Lutein and zeaxanthin concentrations in plasma after dietary supplementation with egg yolk. *Clin. Nutr*, 70, 247–251.
- Harris, D. C. (2001). *ANALISIS QUÍMICO CUANTITATIVO* (2ª edición; E. Reverté, Ed.). Retrieved from <https://es.scribd.com/doc/127259446/ANALISIS-QUIMICO-CUANTITATIVO-Daniel-C-Harris>

- Hasin, B. ., Ferdaus, A. J. ., Islam, M. ., Uddin, M. ., & Islam, M. . (2006). Marigold and Orange Skin as Egg Yolk Color Promoting Agents. *Poultry Science*, 5(10), 979–987.
- Heo, J. Y., Kim, S., Kang, J. H., & Moon, B. (2014). Determination of lutein from green tea and green tea by-products using accelerated solvent extraction and UPLC. *Journal of Food Science*, 79(5). <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12438>
- Holdridge, L. R. (1967). *Life Zone Ecology. Tropical Science Center. «Ecología Basada en Zonas de Vida»* (1a ed.; T. del inglés por H. J. Saa, Ed.). San José Costa Rica.
- Horacio, S., Autores, R., Luiz, R., Teixeira, F., Melissa, A., Hannas, I., ... Cruz, C. S. (2017). *Tablas Brasileñas para Aves y Cerdos*. (4ta edicion), 488.
- Hudon, J. (1994). Biotechnological applications of research on animal pigmentation. *Biotechnology Advances*, Vol. 12, pp. 49–69. [https://doi.org/10.1016/0734-9750\(94\)90290-9](https://doi.org/10.1016/0734-9750(94)90290-9)
- Karadas, F., Grammenidis, E., Surai, P. F., Acamovic, T., & Sparks, N. H. C. (2006). Effects of carotenoids from lucerne, marigold and tomato on egg yolk pigmentation and carotenoid composition. *British Poultry Science*, 47(5), 561–566. <https://doi.org/10.1080/00071660600962976>
- Karadas, Filiz, Pappas, A., Surai, P., & Speake, B. (2005). Embryonic development within carotenoid-enriched eggs influences the post-hatch carotenoid status of the chicken. *Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology*, 141(2), 244–251. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2005.04.001>
- Krinsky, N. I., & Johnson, E. J. (2005). Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 26(6), 459–516. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.10.001>
- Lázaro, R., Serrano, M., & Capdevila, J. (2005). NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN DE CODORNICES. *XXI CURSO DE ESPECIALIZACIÓN FEDNA, 1988*, 369–408. Madrid.
- Leeson, S., & Caston, L. (2004a). Enrichment of eggs with lutein. *Poultry Science*, 83(10), 1709–1712. <https://doi.org/10.1093/ps/83.10.1709>
- Leeson, S., & Caston, L. (2004b). Enrichment of Eggs with Lutein. *Poultry Science*, 83(10), 1709–1712.
- Lokaewmanee, K., Yamauchi, K. en, Komori, T., & Saito, K. (2011). Enhancement of yolk color in raw and boiled egg yolk with lutein from marigold flower meal and marigold flower extract. *Poultry Science*, 48(1), 25–32. <https://doi.org/10.2141/jpsa.010059>
- MA-56(Estación agrometeorológica IASA). (2018). *Registros diarios de parámetros climáticos*. Sangolquí-Ecuador: Google Earth.

- MAPA. (2004). *Estudio de caracterización de la avicultura de carne alternativa en España* (p. 287). p. 287. Madrid España: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- Martínez, M., Cortés, A., & Avila, E. (2004). Evaluación de tres niveles de pigmento de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) sobre la pigmentación de la piel en pollos de engorda. In *Técnica Pecuaria en México* (Vol. 42). Retrieved from <https://www.redalyc.org/html/613/61342109/>
- Meléndez, A., Vicario, I., & Heredia, F. (2007). Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y Meléndez, A., Vicario, I., & Heredia, F. (2007). Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 57(2).fisisicoquímicas. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 57(2).
- Meléndez, A., Vicario, I., & Heredia, F. (2015). Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. *Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN)*, 54(3).
- Mendoza, Y., Brambila, J., Arana, J., Sangerman, D., & Molina, J. (2016). El mercado de huevo en México: tendencia hacia la diferenciación en su consumo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(6). Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342016000601455&lng=es&nrm=iso
- Moeini, M., Ghazi, S., Sadegh, S., & Malekizadeh, M. (2013). The Effect of Red Pepper (*Capsicum annuum*) and Marigold Flower (*Tagetes erectus*) Powder on Egg Production, Egg Yolk Color and Some Blood Metabolites of Laying Hens. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 3(2), 301–305. Retrieved from <http://www.scopemed.org/fulltextpdf.php?mno=169246>
- Montilla, J., & Angulo, C. (1984). Pigmentantes en raciones para aves. *IV Ciclo Conferencia de Producción Avícola*, 281–288. Maracay.
- Morales, A., Gozález, B., & Zacarias, J. (2002). TENDENCIAS EN LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS: ALIMENTOS FUNCIONALES. *Salud Pública y Nutrición*, 3. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/pdfs/revsalpubnut/spn-2002/spn023g.pdf>
- Neue, U. D., & El Fallah, M. Z. (1997). *HPLC columns: theory, technology, and practice* (Nº 1). New York: Wiley-VcH.
- Niu, Z., Fu, J., Gao, Y., & Liu, F. (2008). Influence of Paprika Extract Supplement on Egg Quality of Laying Hens Fed Wheat-Based Diet. *Poultry Science*, 7(9), 887–889.
- Olea, J. L., Aragón, J. A., Zapata, M. E., & Tur, J. A. (2012). Características de la población con ingesta baja en luteína y zeaxantina en pacientes con degeneración macular asociada a la edad variante húmeda. *Archivos de La Sociedad Espanola de Oftalmologia*, 87(4), 112–118. <https://doi.org/10.1016/j.ofal.2011.10.007>

- Ortega, A., & López, A. (2014). Primeras Jornadas UCM-ASEN Avances y controversias en nutrición y salud. *Nutrición Hospitalaria*, 30(July), 1–104. <https://doi.org/10.3305/nh.2014.30.sup2.8106>
- Palombo, F. (2007). Beneficial Long-Term Effects of Combined Oral/Topical Antioxidant Treatment with the Carotenoids Lutein and Zeaxanthin on Human Skin: A Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Skin Pharmacol Physiol*, 20, 199–210.
- Palou, A., & Serra, F. (2000). Perspectivas europeas sobre alimentos funcionales. *Alimentación, Nutrición y Salud*, 7(3), 76–90.
- Pinto, R., Ferreira, A., Albino, L., Gomes, P., & Vargas, J. (2002). Níveis de proteína e energia para codornas japonesas em postura. *Revista Da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 31(4), 1761-1770.
- Roberfroid, M. (2000). Concepts and strategy of functional food science: *The European Perspective*. *Am. J. Clin. Nutr.*, 71(6), 1664–1669.
- Rodriguez, D., & Kimura, M. (2004). *Manual de HarvestPlus para el análisis de carotenoides*. Washington DC.
- Rostagno, H. S., & Hannas, M. I. (2017). *Tablas Brasileñas para Aves y Cerdos Composición de Alimentos y Requerimientos Nutricionales* (H. Rostagno, Ed.).
- Rowghani, E., Maddahian, A., & Abousadi, M. A. (2006). Effects of Addition of Marigold Flower, Safflower Petals, Red Pepper on Egg-yolk Color and Egg Production in Laying Hens. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9(7), 1333–1337.
- Saavedra, J. L. (2002). Factibilidad y desarrollo de un Módulo de Crianza de Codornices en Tarapoto-San Martín. *Universidad Nacional de San Martín*. Retrieved from <http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/UNSM/1600>
- Shete, V., & Quadro, L. (2013). Mammalian metabolism of β -carotene: Gaps in knowledge. *Nutrients*, 5(12), 4849–4868. <https://doi.org/10.3390/nu5124849>
- Sirri, F., Iaffaldano, N., Minelli, G., & Meluzzi, A. (2007). Comparative Pigmentation Efficiency of High Dietary Levels of Apo-Ester and Marigold Extract on Quality Traits of Whole Liquid Egg of Two Strains of Laying Hens. *Journal of Applied Poultry Research; Oxford*, 16(3), 429–437.
- Skřivan, M., Englmaierová, M., Skřivanová, E., & Bubancová, I. (2015). Increase in lutein and zeaxanthin content in the eggs of hens fed marigold flower extract. *Czech Journal of Animal Science*, 60(3), 89–96. <https://doi.org/10.17221/8073-CJAS>

- Stahl, W., & Sies, H. (2005). Bioactividad y efectos protectivos de carotenoides naturales. *Biochim Biophys*, 1740(2), 1001–1007.
- Steinberg, W., Grashorn, A., Klünter, M., & Schierle, J. (2000). Comparative pigmentation efficiency of two products containing either apo-ester or tagetes extracts in egg yolks and liquid eggs. *Arch. Geflügelkd*, 64, 1–8.
- Stringham, J., & Hammond, B. (2008). Macular Pigment and Visual Performance. *Optometry & Vision Science*, 85(2), 82–88.
- Sujatha, T., Sunder, J., Kundu, A., & Kundu, M. (2015). Production of Pigment Enriched Desi Chicken Eggs by Feeding of Tagetes erecta Petals. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 3(3), 192–199. <https://doi.org/10.14737/journal.aavs/2015/3.3.192.199>
- Ticona, D. (2011). *Efecto de la aplicación de tres niveles de harina de alfalfa (Medicago sativa L) en la producción de huevos de codorniz (coturnix coturnix japonica) en la estación experimental Cota Cota*. UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS.
- Torre, M., Fonseca, P., & Quintana, L. (2012). *El huevo mitos, realidades y beneficios* (Trillas, Ed.). México, D.F.
- Vásquez, R. E., & Ballesteros, H. H. (2007). *La cría de codornices* (Produmedio). Retrieved from www.produmedios.com
- Wenzel, M., Seuss-Baum, I., & Schlich, E. (2011). Influences of storage time and temperature on the xanthophyll content of freeze-dried egg yolk. *Food Chemistry*, 124(4), 1343–1348. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.085>