

# Evaluación de tres niveles de pigmento de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) sobre la pigmentación de la piel en pollos de engorda

## Evaluation of three pigment levels of marigold petals (*Tagetes erecta*) on skin pigmentation of broiler chicken

Miguel Martínez Peña<sup>a</sup>, Arturo Cortés Cuevas<sup>a</sup>, Ernesto Avila González<sup>a</sup>

### RESUMEN

Se realizó el presente trabajo, con el objeto de evaluar el efecto pigmentante al adicionar diferentes niveles de xantofilas amarillas saponificadas de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*), a dietas de pollos de engorda. Se utilizaron 240 pollos de engorda mixtos de la estirpe Ross, en un diseño completamente al azar de tres tratamientos con cuatro repeticiones de 20 aves cada una. Los tratamientos fueron la adición de 60, 70 y 80 ppm de xantofilas amarillas saponificadas de flor de cempasúchil, a dietas a base de sorgo + soya, suministradas de los 21 a los 49 días de edad. Los resultados obtenidos en parámetros productivos no mostraron diferencias significativas entre tratamientos ( $P > 0.05$ ). En lo referente a pigmentación amarilla de la piel, existió diferencia ( $P < 0.05$ ) entre el tratamiento con 80 ppm de xantofilas respecto a los tratamientos con 60 y 70 ppm. Los resultados de enrojecimiento y luminosidad no revelaron diferencias entre tratamientos ( $P > 0.05$ ). Se concluye que con la suplementación de 80 ppm de xantofilas se logra una pigmentación de la piel acorde al mercado mexicano.

**PALABRAS CLAVE:** Pollos de engorda, Flor de cempasúchil, *Tagetes erecta*, Pigmentación.

### ABSTRACT

Different levels of yellow saponified xanthophylls obtained from Aztec marigold flower extract (*Tagetes erecta*) were assessed regarding their pigmentant effect when added to broilers diets. Two hundred and forty mixed sex chicks one-day-old of the Ross strain were distributed in a completely randomized design of three treatments with four replications of twenty birds each. Treatments were addition of 60, 70 and 80 ppm of yellow saponified xanthophylls obtained from Aztec marigold flower extract to a soybean meal - sorghum diet given to chicks from d 21 through d 47. No significant differences in productive parameters were observed ( $P > 0.05$ ) between treatments. With reference to yellow skin pigmentation, significant differences ( $P < 0.05$ ) were observed between the 80 ppm treatment vs 60 and 70 ppm treatments. Redness and lightness results did not show any significant differences ( $P > 0.05$ ) between treatments. As a conclusion it should be stated that pigmentation obtained in broilers skins in the 80 ppm treatment is in accordance with mexican market preferences.

**KEY WORDS:** Broilers, Aztec marigold, *Tagetes erecta*, Pigmentation.

Uno de los problemas de importancia económica en México es la pigmentación de la piel y tarsos del pollo de engorda y de la yema de huevo<sup>(1)</sup>. El color está asociado con muchos aspectos de nuestras vidas, y evidentemente la decisión de aceptar un alimento depende en gran medida de su color. El

One of the most important economic problems facing Mexican poultry production is pigmentation of egg yolks and of broiler skin and shanks<sup>(1)</sup>. Color is closely associated to several aspects of our daily life and acceptance of a given food depends to a great measure on its color. To list a

Recibido el 14 de abril de 2003 y aceptado para su publicación el 7 de julio de 2003.

<sup>a</sup> Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Salvador Díaz Mirón S/N Col. Zapotitlán, Deleg. Tláhuac 13209, México, D.F. cuevasarturo@aol.com. Tel: 58 45 00 29 Fax. 01 (55) 58 45 15 30. Correspondencia al segundo autor.

catalogar un alimento como seguro, de buenas características estéticas y sensoriales, está directamente relacionado con su color<sup>(2,3)</sup>. La diferenciación del producto, así como la relación del color con la salud del pollo, definitivamente constituye una ventaja comercial, que se traduce en mejor precio de venta y preferencia por pollos que tengan la piel y los tarsos pigmentados, que aquellos que no las tienen o presentan una coloración más clara<sup>(1)</sup>.

Las principales fuentes de xantofilas empleadas por la avicultura en México son los carotenoides de la flor de cempasúchil, y los de chiles del género *Capsicum*<sup>(1,4)</sup>. También se utilizan pigmentos de síntesis química como el apoester y la cantaxantina<sup>(5)</sup>.

La flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) originaria de México es cultivada en diferentes zonas del país (Michoacán, Sinaloa y Guanajuato) alcanzando producciones de hasta 30 t/ha<sup>(6)</sup>. Las xantofilas de *Tagetes erecta* son obtenidas por un proceso de prensado, deshidratación y molienda de la flor; posteriormente se realiza una extracción (con solventes) y se obtiene una oleoresina (carotenoides esterificados con ácidos grasos mirístico y palmítico), dando esta mezcla un rendimiento de 70,000 a 120,000 ppm de xantofilas<sup>(6)</sup>. El producto obtenido es saponificado (hidrólisis alcalina; usando NaOH a 90 °C) dejando a las xantofilas en su forma libre<sup>(1,6)</sup>. El producto terminado tiene alrededor de 80 a 90 % de luteína, 5 % de zeaxantina y de un 5 a 15 % de carotenoides como la violaxantina y la criptoxantina<sup>(5,7)</sup>.

El nivel requerido de xantofilas en una ración para proveer una adecuada pigmentación puede variar ampliamente, dependiendo de la intensidad de pigmentación deseada por el mercado en particular<sup>(8)</sup>. Ávila<sup>(5)</sup>, menciona que es suficiente proporcionar de 40 a 60 ppm de xantofilas de extractos de flor de cempasúchil durante las cuatro últimas semanas para una buena pigmentación amarilla en la piel. Esta coloración es evaluada empleando abanicos como el de Roche® o la colorimetría de reflectancia<sup>(7)</sup>. El primero consiste en comparar directamente mediante la observación

certain food as healthy and safe, with adequate aesthetic and sensorial characteristics is directly related to its color<sup>(2,3)</sup>. Product differentiation, as well as links between color and chicken health, constitute a definite commercial advantage, which reflects in higher prices and consumer preference for those animals with pigmented shanks and skins<sup>(1)</sup>.

The main xanthophyll sources used in mexican aviculture are Aztec marigold flower carotenoids, and those from chiles of the genera *Capsicum*<sup>(1,4)</sup>; and also artificial pigments product of chemical synthesis as apoester and canthaxanthin<sup>(5)</sup>.

Aztec marigold flower (*Tagetes erecta*) is grown in several areas of Mexico (Michoacán, Sinaloa and Guanajuato) with productions of up to 30 t/ha. Xanthophylls are obtained from flowers through pressing, crushing and dehydration processes. Afterwards an oleoresin (made up by carotenoid esters of palmitic and myristic fatty acids) is obtained by extraction with solvents, which yields between 70,000 and 120,000 ppm of xanthophylls<sup>(6)</sup>. This product is then saponified (alkaline hydrolysis with OHNa at 90 °C) to liberate xanthophylls<sup>(1,6)</sup>. The finished product contains 70-90 % lutein, 5 % zeaxanthin and 5-15 % of carotenoids (violaxanthin and cryptoxanthin)<sup>(5,7)</sup>.

The xanthophyll amount required in a ration to obtain an adequate pigmentation can vary widely, depending on the specific color intensity<sup>(8)</sup> demanded by market preferences. Ávila<sup>(5)</sup> mentions that 40 to 60 ppm Aztec marigold xanthophylls added to diets during the last four weeks are enough to obtain an adequate skin pigmentation. Color intensity can be assessed through fans like that of Roche® or by reflectance colorimetry<sup>(7)</sup>. The first method consists of visual comparisons of a sample with a pre-established color pattern, for example, egg yolks can be compared with a 15 page color pattern numbered from 1 to 15<sup>(8)</sup>.

For broilers skins a reflectance colorimeter graded in the CIELAB brilliance system (L) can be used; luminosity grades in a scale the presence or absence of light (black= 0, white= 100), an adequate range

visual los productos avícolas con patrones preestablecidos; en el caso de la yema de huevo se compara con el abanico, el cual es un dispositivo que consta de hojas coloreadas y numeradas del 1 al 15<sup>(8)</sup>.

Para el caso de la piel del pollo de engorda se utiliza el colorímetro de reflectancia en el sistema CIELAB de brillantez (L); la luminosidad es una escala que califica la presencia o no de luz, abarcando desde 0 negro a 100 blanco; en el caso de la piel de pollo el rango aceptable para esta variable es entre 64 a 72. Rojo intenso (a) que corre desde -60 verde a + 60 rojo, se necesita un mínimo de 2, y amarillamiento (b) que va desde -60 azul hasta + 60 amarillo, se requiere de un mínimo de 41<sup>(9,10,11)</sup>.

La edad al sacrificio en los últimos años se ha reducido una semana, ya que las aves alcanzan el peso al mercado en menor tiempo, por lo que el ave consume menos alimento, y por lo tanto menor cantidad de pigmentos; esto puede ocasionar que la pigmentación final en el ave no sea la adecuada para un mercado en específico. Con estos antecedentes se realizó el presente estudio con la finalidad de reevaluar si la adición de 60 ppm de xantofilas de flor de cempasúchil son suficientes para obtener una adecuada pigmentación de la piel en pollos a las siete semanas de edad, o bien si la adición de 10 y 20 ppm extra en la dieta son necesarios para observar un incremento de la pigmentación en la piel de los pollos, acorde a las exigencias del mercado mexicano.

La investigación se realizó con 240 pollos de engorda mixtos de la estirpe Ross, de un día de edad, los cuales se distribuyeron completamente al azar en 12 corrales con 20 aves cada uno, a tres tratamientos: a) dieta con adición de 60 ppm de xantofilas amarillas, b) dieta con adición de 70 ppm y c) dieta con adición de 80 ppm, con cuatro repeticiones cada tratamiento. Durante el estudio se emplearon dos fases de alimentación (Cuadro 1), con dietas a base de sorgo-soya: I) iniciación de 1 a 21 días de edad sin pigmento en la dieta y II) finalización de 22 a 47 días de edad con pigmento amarillo de flor de cempasúchil.

for broilers skins being between 64 and 72. Redness (a) which runs from -60 green to + 60 red requires a minimum of 2 and yellowness (b) which runs from -60 blue to + 60 yellow requires a minimum of 41<sup>(9,10,11)</sup>.

Market weight can be achieved nowadays a week earlier than before, thus requiring less feed intake and owing to this, less pigment is fed to the birds, which could result in an inadequate pigmentation in accordance with the preferences of a particular market. Taking into account this background information, the present study was carried out to reassess if the addition of 60 ppm Aztec marigold flower xanthophylls to broilers diets was enough to obtain an adequate skin pigmentation at 7 weeks of age or if it was necessary to add an extra 10 or 20 ppm, in accordance with the requirements of the Mexican market.

The experiment was carried out with 240 mixed Ross strain broilers of 1 day of age who were distributed in a completely randomized design in 12 pens containing 20 animals each divided in three treatments with four replications: a) 60 ppm xanthophylls added to the diet, b) 70 ppm xanthophylls added to the diet and c) 80 ppm xanthophylls added to the diet. Two feeding phases were used in this experiment (Table 1), with diets based on soybean meal and sorghum: Starter diet from d 1 to 21 without pigments and Finishing diet from d 22 to 47 to which yellow Aztec marigold pigment at different rates was added.

Birds were kept in a pen without air conditioning, with concrete floor, corrugated iron roof and open walls provided with curtains for ventilation management. Sawdust litters were used, and plastic hopper feeders, one water container for each pen and a gas breeder every two pens for the first four weeks were provided.

Diet formulas were calculated to provide adequate nutrition in the two phases, in accordance with recommendations of *Cuca et al.*<sup>(1)</sup>. Water and feed were provided unrestricted. The following productive parameters were recorded: body weight gain and feed intake and conversion. At 47 d of

Las aves se alojaron en una caseta de ambiente natural, la cual cuenta con piso de cemento, techo de lámina y paredes con cortinas laterales para el manejo de la ventilación. Durante el experimento se utilizó cama de viruta (madera), comedero tipo tolva de material plástico, un bebedero por corral y una criadora de gas por cada dos corrales, para dar calor a las aves durante las primeras cuatro semanas de vida.

Las dietas se formularon para cubrir las necesidades de nutrientes para los pollos en las dos etapas, conforme a lo señalado por Cuca *et al.*<sup>(1)</sup>. El agua y el alimento se ofrecieron a libertad. Durante el transcurso del experimento se llevaron registros de los siguientes indicadores productivos: ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia. A los 47 días de edad se seleccionaron 20 aves por tratamiento, las cuales fueron procesadas bajo condiciones comerciales: 1) insensibilización por choque eléctrico durante 2 a 3 seg; 2) sangrado mediante el corte de la vena yugular con un tiempo de sangrado de 2 min; 3) escaldado mediante la inmersión del ave en agua caliente a 53 °C durante 2 min; 4) desplumado por una máquina con dedos de goma, que al paso de ella se remueven las plumas en un tiempo de 20 seg; 5) lavado, que se realiza mediante la aspersión con agua limpia durante 2 a 3 seg; y 6) enfriado, el cual consiste en sumergir al pollo en agua fría a 4 °C durante 45 min. Posteriormente se midió la pigmentación de la piel de la pechuga con un colorímetro de reflectancia Minolta CR-300, el cual mide el color mediante la reflectancia de la luz sobre la piel. A los datos obtenidos de las variables mencionadas se les realizó un análisis de varianza, y en caso de existir diferencia, las medias se compararon con la prueba de Tuckey.

Los resultados promedio en 47 días de edad para ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia se pueden observar en el Cuadro 2. Se puede apreciar que no existió diferencia ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos para ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia.

Los resultados obtenidos para pigmentación amarilla de la piel se encuentran en el Cuadro 3, donde se

Cuadro 1. Composición de las dietas experimentales de iniciación y finalización para pollos de engorda (%)

Table 1. Broilers starter and finishing diets, composition (%)

	Feeding phase	
	Starter	Finishing
Ingredient:		
Sorghum 9%	56.797	59.529
Soybean meal 46%	35.768	32.143
Soybean oil	2.898	4.276
Orthophosphate	1.808	1.615
Calcium carbonate	1.590	1.389
Salt	0.440	0.380
Vitamins*	0.200	0.200
Minerals*	0.100	0.100
DL-methionine	0.224	0.193
Choline chloride 60%	0.100	0.100
Anticoccidiosis	0.050	0.050
Bacitracin zinc	0.010	0.010
Antioxidant	0.015	0.015
Calculated analysis:		
Crude protein, %	22.00	22.00
Methionine, %	0.58	0.48
Methionine + cystine, %	0.90	0.83
Lysine, %	1.20	1.05
Phosphorous (available), %	0.50	0.45
Calcium (total), %	1.00	0.90
ME, kcal/kg	3000	3100

\* Vitamin and mineral premixes per kg: A (4 MUI), D3 (1.1 MUI), E (4000 UI), K3 (0.9 g), Thiamine (0.5 g), Riboflavin (2.0 g), Pyridoxine (0.5 g), B12 (4.0 mg), Niacin (9.0 g), Pantothenic acid (6.0 g), Biotin (20 mg), Folic acid (0.2 g), Fe (110 g), Zn (50 g), Mn (110 g), Cu (12 g), I (0.300 g), Se (0.1 g), Co (0.2 g).

Yellow xanthophylls (60, 70 y 80 ppm) were added with aveluf at sorghum's expense.

age, 20 birds per treatment were chosen and processed through commercial standards: 1) insensibilization through electro-shock 2-3 seconds, 2) bleeding by cutting the jugular vein for 2 min, 3) scalding in water at 53 °C for 2 min, 4) rubber finger machine feather plucking for 20 sec, 5) washing by spraying clean water for 2-3 sec and 6) cooling in water at 4 °C for 45 min. Afterwards skin pigmentation was graded with a Minolta CR-300 reflectance colorimeter. Data obtained was

observa que existió diferencia ( $P < 0.01$ ) entre tratamientos, con una mayor pigmentación en el tratamiento 3 respecto a los tratamientos 1 y 2. En lo que se refiere al depósito de pigmentos rojos en la piel y la luminosidad no existieron diferencias ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos.

Los datos obtenidos en este experimento para los parámetros productivos, coinciden con los obtenidos por varios autores, quienes han demostrado que la adición de pigmentos en la dieta no ejerce ningún efecto sobre el valor nutritivo, ni tampoco sobre el comportamiento productivo<sup>(9,12,13)</sup>.

El mayor efecto de amarillamiento fue en el tratamiento 3 con 80 ppm, 6.9 % más de pigmentación con respecto al tratamiento 2, que contenía 70 ppm de xantofilas amarillas (242 mg de xantofilas consumidas por ave), y de un 12.4 % más de color amarillo respecto al tratamiento 1 con 60 ppm (205 mg por ave). Sin embargo estadísticamente fueron semejantes los tratamientos 1 y 2, datos que demuestran que el pollo de engorda actual requiere una cantidad mayor de xantofilas en la dieta. Esto coincide con otros autores<sup>(12)</sup>, quienes realizaron un trabajo con pigmentos naturales y sintéticos y concluyeron que los valores de amarillamiento durante el ciclo productivo fueron los más altos para los tratamientos de pigmentos naturales amarillos a altos niveles (85 ppm). También se evaluó la adición de niveles crecientes de xantofilas (60, 70, 80 y 90 ppm) a una dieta de pollos de 4 a 7 semanas de edad encontrando adecuado 80 ppm<sup>(13)</sup>.

Cuadro 2. Parámetros productivos en pollos durante 47 días de experimentación (Media±EE)

Table 2. Productive parameters results obtained in a 47 days study on broilers (Means±SE)

Xanthophylls (ppm)	Weight gain (g)	Feed intake (g)	Feed conversion
60	2471±11.53	4317±99.39	1.76±0.035
70	2457±10.11	4359±52.56	1.77±0.022
80	2455±5.86	4328±31.88	1.76±0.014

subjected to a variance analysis and when differences were significant, averages were compared through Tukey's test.

Average results for 47 d of age broilers on body weight, feed intake and conversion can be seen in Table 2. No significant differences ( $P > 0.05$ ) were found for productive parameters between treatments.

Results obtained on yellow pigmentation can be seen in Table 3. Differences ( $P < 0.01$ ) were found between treatments, with higher pigmentation in Treat 3 respect of 1 and 2. No significant differences ( $P > 0.05$ ) between treatments were found for skin red pigmentation and lightness.

Data obtained in this study for productive parameters concur with those obtained by other authors, who have shown that pigments added to diets have no effect whatsoever, either on their nutritive value or on productive behavior<sup>(9,12,13)</sup>.

The greater yellowing effect was for treatment 3 (80 ppm), which showed 6.9 % more pigmentation than treatment 2 (70 ppm, 242 mg yellow xanthophyll intake per bird) and 12.4 % more than treatment 1 (60 ppm, 205 mg/bird).

However, statistical analyses show no differences between treatments 1 and 2, which proves that broilers nowadays need a higher xanthophyll content in their diets. This concurs with what has been communicated by other researchers<sup>(12)</sup>, who tested synthetic and natural pigments and concluded that

Cuadro 3. Pigmentación de la piel en pollos de engorda durante 47 días de experimentación (Media±EE)

Table 3. Skin pigmentation in broilers of 47 days of age (Means±SE)

Xanthophylls (ppm)	Lightness	Redness	Yellowness
60	70.49±0.75	4.38±0.72	39.18±1.02 <sup>a</sup>
70	71.22±0.43	4.51±0.62	41.64±0.78 <sup>a</sup>
80	69.80±0.48	4.87±0.68	44.76±0.88 <sup>b</sup>

ab Values with different literals show differences ( $P < 0.05$ )

En cuanto al depósito de pigmentos rojos en la piel, no existió diferencia entre tratamientos; esto se debe a que las xantofilas de flor de cempasúchil sólo aportan xantofilas amarillas<sup>(5)</sup>.

Se ha mencionado que con la inclusión de 60 ppm de xantofilas en dietas para pollos de engorda se obtiene una pigmentación aceptable en 56 días de edad del pollo<sup>(1)</sup>; en el presente experimento con esta cantidad de pigmento en la dieta, a los 47 días de edad se obtuvo un nivel de amarillamiento de 39.1, siendo que el mínimo recomendado es de 41<sup>(9)</sup>, y no cumple las exigencias de pigmentación en el mercado, por lo que se requeriría de más tiempo en el consumo de pigmento para llegar a un depósito mayor del aditivo en la piel de los pollos. Al adicionar 80 ppm se mejoró la pigmentación 5.5 puntos respecto a la dieta con 60 ppm, datos que indican que al aumentar 20 ppm de pigmento en la dieta se mejora la pigmentación de la piel al mismo nivel que si la alimentación se proporcionara en 56 días con un nivel de 60 ppm, tal como lo señalan Cuca *et al.*<sup>(1)</sup>.

En evaluaciones por medio de colorimetría de reflectancia se marca un valor mínimo de 41 en la escala de amarillamiento, y de 2 en enrojecimiento, para considerar al pollo un producto con buena pigmentación a nivel comercial<sup>(4,9)</sup>.

Los resultados de luminosidad mostraron un menor valor numérico con 80 ppm; esto se debe a que consumieron mayor cantidad de xantofilas, por lo que probablemente se presentó mayor deposición de luteína, ya que un color más intenso refleja menos luz; lo que concuerda con otra investigación<sup>(14)</sup>, donde se evaluó el poder pigmentante de la luteína y la capsaxantina en pollos de engorda.

Se concluye que el uso de xantofilas saponificadas de flor de cempasúchil no causó ningún efecto sobre los indicadores productivos en el pollo de engorda, y que la pigmentación amarilla de la piel a los 47 días de edad fue mayor en el tratamiento con 80 ppm en la dieta, resultando ser el nivel adecuado de xantofilas saponificadas de flor de cempasúchil, para obtener una buena pigmentación que exige el mercado del valle de México.

skin yellowing in the productive cycle was higher in those treatments which received natural yellow pigments at high levels (85 ppm). Addition of xanthophylls at increasing levels (60, 70, 80 and 90 ppm) were evaluated in broilers diets from 4 to 7 wk of age, and the 80 ppm level was found as adequate<sup>(13)</sup>.

No differences were found between treatments for red pigment deposition in skin, most probably because Aztec marigold flowers provide only yellow xanthophylls<sup>(5)</sup>.

It has been mentioned that 60 ppm xanthophylls when added to broilers diets produce an adequate yellow pigmentation at 56 d of age<sup>(1)</sup>. In the present study at that rate, at 47 d of age a 39.1 yellowness level was obtained, being 41 the acceptable recommended minimum<sup>(9)</sup>, not meeting market requirements, and therefore needing if this were the case, a longer breeding period. When 80 ppm were added, 5.5 points more than with the 60 ppm diet were obtained for the same time span, data which indicate that when an extra 20 ppm are added to the last diet, skin pigmentation acquires the same level that is attained in 56 d, as mentioned by Cuca *et al.*<sup>(1)</sup>.

In evaluations carried out with reflectance colorimetry a minimum value of 41 in the yellow scale and of 2 in the red scale are fixed to consider a broiler with good commercial pigmentation<sup>(4,9)</sup>.

Results on lightness showed a lower numeric value with the 80 ppm diet. This could be owing to a higher xanthophyll intake, which in turn caused a greater lutein deposition. Intense colors reflect less light, data which concurs with the findings of other researchers<sup>(14)</sup>, who evaluated the pigmentation capacity of lutein and capsaxanthin in broilers.

It can be concluded that Aztec marigold flowers saponified xanthophylls have no effects on broilers productive parameters and also that yellow skin pigmentation at 47 days of age was higher in diets added with 80 ppm xanthophylls, being this level adequate to obtain the skin pigmentation required by the mexican consumer.

**LITERATURA CITADA**

1. Cuca GM, Avila GE, Pro MA. Alimentación de las aves. 8<sup>va</sup> ed. Estado de México, México: Universidad Autónoma de Chapingo; 1996.
2. Fletcher DL. Methodology for achieving pigment especifications. *Poultry Sci* 1992;71(4):733-745.
3. Williams WD. Origin and impact of color on consumer preference for food. *Poultry Sci* 1992;71(4):744-746.
4. Tirado FJ. Pigmentos y pigmentación. Memorias del X ciclo de conferencias internacionales sobre avicultura, Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Animal. Guadalajara, Jalisco. 1991:181-197.
5. Ávila GE, Shimada AS, Llamas G. Anabólicos y aditivos en la producción pecuaria. 1a ed. México DF, Sistema de educación continua en producción animal en México, AC; 1990.
6. Delgado VF. Pigmentos de flor de cempasuchil (*Tagetes erecta*) Caracterización fisicoquímica, procesamiento y eficiencia pigmentante [tesis doctoral]. Irapuato, Guanajuato: Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional; 1997.
7. Fletcher DL, Papa CM, Tirado FX. The effect of saponification on the broiler coloring capability of marigold extracts. *Poultry Sci* 1986;65(9):1708-1714.
8. Bauernfeind JC. Carotenoids as colorants and vitamin A precursors: Technological nutritional application. 1a ed. New York, USA: Academic Press; 1981.
9. Fernández S. Pigmentación en avicultura. Memorias de producción avícola en nutrición y alimentación avícola. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México, DF. 2001:150-174.
10. Piracés SF, Cortés CR. Factores que afectan la pigmentación del pollo de carne. X Ciclo de conferencias internacionales sobre avicultura, Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Animal AC. Guadalajara, Jalisco; 1991:103-111.
11. Janky DM. The use of the Minolta reflectance chromameter II for pigmentation evaluation of broilers shanks. *Poultry Sci* 1986;65(3):491-496.
12. Castañeda SM, Hirschler EM, Sams AR. Evaluación del color de la piel en pollo de engorda utilizando pigmentos naturales y sintéticos en la dieta. Memorias del XXVI convención anual de la Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas. Acapulco, Gro. 2001:64-66.
13. Calderón CE, Mendoza PJ. Evaluación de diferentes niveles de xantofilas en pollos de engorda de 4 a 7 semanas de edad [tesis licenciatura]. México: Universidad Autónoma Chapingo; 1997.
14. Becerril GM. Evaluación del poder pigmentante de luteína y capsantina en pollo de engorda y gallinas en postura con un colorímetro de reflectancia [tesis de maestría]. México DF: Universidad Nacional Autónoma de México; 1989.

