



## **Valutazione del contenuto carotenoidico nei tuorli d'uovo di galline ovaiole dopo integrazione della dieta basale con Gogj e Moringa**

### **1. Introduzione**

#### *1.1. Proprietà biologiche delle xantofille*

Per le sue specifiche caratteristiche, l'uovo di gallina può essere considerato un vettore unico e importante di carotenoidi bioattivi liposolubili come luteina e zeaxantina. Questi composti non possono essere sintetizzati *in vivo* e quindi devono provenire dalla dieta. I tuorli d'uovo costituiscono un'importante fonte alimentare di luteina e zeaxantina. Il profilo dei carotenoidi del tuorlo d'uovo dipende in gran parte dalla composizione del mangime della gallina. Tra i vari carotenoidi, la luteina e la zeaxantina, appartenendo ai carotenoidi ossigenati, xantofille, possono considerarsi più polari rispetto ai caroteni (molecole non contenenti ossigeno, come  $\beta$ -carotene e licopene), per cui presentano un bilancio idrolipidico favorevole all'accumulo principalmente nella retina umana, favorendo diverse funzioni protettive, ad es. proteggere la macula dai danni della luce blu, migliorare l'acuità visiva e contrastare i ROS, specie reattive dell'ossigeno altamente nocive. In condizioni normali, infatti, la luteina e la zeaxantina si accumulano nella regione maculare della retina e sono denominate collettivamente pigmento maculare (MP). La patologia oculare denominata degenerazione maculare correlata all'età (AMD), è associata a un basso livello di MP nella retina dell'occhio. Solo due carotenoidi, vale a dire la luteina e la zeaxantina, si accumulano selettivamente nella retina dell'occhio umano dal plasma sanguigno, per cui l'integrazione esogena con questi pigmenti risulta, ad oggi, la strategia di prima scelta per la cura e prevenzione di questo disturbo. Oltre a svolgere un ruolo fondamentale nella salute dell'occhio, la luteina e la zeaxantina sono importanti per la prevenzione o riduzione dell'intensità delle malattie cardiovascolari (CVD), ictus, cancro e patologie neurodegenerative. È ormai stabilito che non esiste alcuna associazione tra consumo di uova e rischio di malattie cardiovascolari, ad eccezione dei soggetti con ipercolesterolemia familiare accertata. Il corpo umano ha bisogno di raggiungere un equilibrio quando si tratta di consumo di colesterolo. In questa prospettiva, il consumo di un uovo al giorno non aumenta il livello di colesterolo nel siero e quindi non vi è alcun aumento



del rischio di CVD tra uomini e donne sani. Piuttosto, i nutrienti delle uova agiscono come "potenziatore" della difesa antiossidante contro una serie di malattie.

### 1.2. *Mangimi fortificati*

I carotenoidi sono importanti costituenti dietetici negli uccelli. Servono come pigmenti e svolgono numerosi ruoli fisiologici sia nella gallina ovaiole che nell'embrione in via di sviluppo. Tuttavia, i fattori che determinano l'assorbimento dei carotenoidi e la loro assegnazione a diverse funzioni sono numerosi e complessi e le relazioni causali sono generalmente poco conosciute. Bortolotti ed i suoi collaboratori cercarono di determinare il grado in cui i livelli di carotenoidi nei tuorli d'uovo e nel plasma delle galline erano influenzati dalle differenze nella dieta e nella produzione riproduttiva nelle pernici rosse in cattività. Per tale motivo determinarono le concentrazioni di carotenoidi mediante cromatografia liquida ad alte prestazioni in due tipologie di mangimi (contenuto di carotenoidi alto e basso) e nei tuorli e nel plasma di galline vicino all'inizio e alla fine della deposizione. All'inizio della stagione della deposizione, i carotenoidi del plasma e del tuorlo variavano con la dieta ed erano correlati tra loro. A fine stagione, un effetto dietetico era evidente solo per i tuorli, e non c'era alcuna relazione tra carotenoidi plasmatici e livelli di carotenoidi nelle uova di singole galline. Tuttavia, i carotenoidi plasmatici alla fine della deposizione erano fortemente correlati al numero di uova deposte. La disponibilità alimentare, sebbene importante, potrebbe spiegare alcune variazioni nei livelli di carotenoidi nel plasma e nei tuorli d'uovo solo nel contesto della storia riproduttiva.

Tenendo presente, dunque, l'importanza della luteina e della zeaxantina per la salute umana, una strategia interessante per arricchire la nostra dieta di questi preziosi elementi, può essere rappresentata da un'integrazione alimentare del mangime delle galline ovaiole al fine di aumentare il contenuto di luteina e zeaxantina nel tuorlo d'uovo. A questo proposito, in uno studio pubblicato nel 2016 (Moreno et al., 2016), galline ovaiole furono nutrite utilizzando un mangime basale arricchito con due tipi di mais aventi diversi profili carotenoidici. Gli autori riportarono che il tuorlo d'uovo si arricchiva di carotenoidi non provitamina A, mentre quelli provitamina A raggiungevano preferenzialmente il fegato. In una ricerca pubblicata nel 2013 (Kotrbracek et al., 2013), gli autori utilizzarono la *Chlorella* per fortificare il mangime basale di galline ovaiole al fine di arricchire il tuorlo di xantofille. Utilizzando come agente



fortificante l'1 e il 2% di alga essiccata, gli autori registrarono un aumento del contenuto totale di carotenoidi di due e tre volte, rispettivamente, rispetto ai tuorli d'uovo di galline nutrite con la dieta basale. La *Moringa oleifera* è stata utilizzata, come agente fortificante dei mangimi per galline, in diversi esperimenti da vari autori per valutarne il suo impatto sulla produzione e qualità delle uova. Nello studio condotto da Abou-Elezz et al (2012), gli autori hanno valutato il potenziale delle foglie fresche di *Moringa oleifera* (MOL), come integratore alimentare sulle prestazioni e la qualità delle uova delle galline Rhode Island Red, nelle condizioni tropicali dello Yucatan, in Messico. Le galline nutrite con dieta basale arricchita con *Moringa*, fecero registrare un tasso di deposizione delle uova più elevato (71,4% contro 66,6%), una maggiore produzione di massa giornaliera di uova (45,4 contro 41,9 g / giorno), una minore assunzione di mangime (121,3 contro 127,5 g / giorno) e un migliore rapporto di conversione del mangime (2,8 contro 3,2 g di mangime/ g di uova) nei confronti del controllo. I risultati di questa ricerca suggeriscono che la *Moringa* potrebbe essere utilizzata con successo come risorsa di mangime "sostenibile" nei paesi tropicali.

Il gruppo di ricerca capitanato da Skřivan ha riportato i risultati relativi all'uso di un estratto di fiori di calendula (MFE), una fonte naturale di xantofille, come additivo, a diverse concentrazioni (0, 150, 250 e 350 mg/kg di dieta), alle diete delle galline. Questi ricercatori valutarono non solo gli effetti di MFE sulle prestazioni e sulle caratteristiche fisiche delle galline, ma anche l'impatto che questa dieta aveva sulla qualità dell'uovo, ed in particolare sul contenuto di carotenoidi del tuorlo. I risultati evidenziarono che la più alta produzione di uova ( $P = 0,005$ ) e della massa uovo ( $P = 0,010$ ) fu riscontrata nelle galline alimentate con una dieta integrata con MFE a 150 mg/kg. Gli autori di questo studio conclusero che MFE rappresentava una valida alternativa naturale per aumentare il contenuto di xantofilla nelle uova rispetto ai carotenoidi sintetici utilizzati in commercio.

In diverse ricerche si è studiata la correlazione tra l'alimentazione fortificata delle galline ed il contenuto di colesterolo nelle uova depositate. A questa linea di ricerca può essere ascritto il lavoro pubblicato nel 2019 da Duru, il quale ha mostrato che la fortificazione della dieta basale di galline ovaiole Lohman Brown con il 2% (p/p) di mais (ricco di luteina e zeaxantina) era in grado di ridurre significativamente i livelli di colesterolo senza influenzare altri parametri qualitativi dell'uovo.



L'efficienza della pigmentazione di una specifica sostanza dipende dall'assorbimento, dal trasporto, dall'escrezione, dalla velocità di deposizione nei vari tessuti e dalla conversione dei carotenoidi (Nys 2000). Nel pollame, la pigmentazione delle uova non è influenzata dal  $\beta$ -carotene nella dieta. Generalmente, gli uccelli accumulano principalmente ossicarotenoidi nel corpo o nelle uova (Goodwin 1986; Hencken 1992). Ciò è coerente con i risultati di Hammershoj et al. (2010), che hanno scoperto che l'efficienza di deposizione di luteina e zeaxantina dall'alimentazione al tuorlo d'uovo era di circa il 25%, mentre l'efficienza di deposizione di  $\beta$ -carotene era solo dello 0,5%.

Da un punto di vista dell'attività biologica, l'incremento del contenuto totale di carotenoidi nel tuorlo, si raduce in un rispettivo aumento della capacità antiossidante dello stesso. In accordo con ciò, le ricerche di Zhang et al. (2011) dimostrarono che l'aumento dell'apporto di carotenoidi nel tuorlo d'uovo mediante integrazione con cantaxantina, promuoveva un miglioramento significativo dello stato antiossidante del tuorlo.

### *1.3. Xantofille sintetiche*

I carotenoidi sono responsabili del colore del tuorlo d'uovo, che dipende fondamentalmente dalla dieta delle galline, quindi dal contenuto e dal tipo di carotenoidi presenti nel mangime. Il colore è uno dei fattori più importanti nella percezione della qualità del cibo da parte del consumatore; quando si considerano le uova, il colore del tuorlo è una delle caratteristiche rilevanti, insieme al colore del guscio, al gusto e all'aspetto, che influenzano il comportamento e le preferenze dei consumatori per le uova. Il colore rappresenta, quindi, sicuramente un criterio di selezione per la scelta degli alimenti da parte dei consumatori, per esempio i paesi del nord dell'UE preferiscono i tuorli debolmente colorati, mentre i paesi del sud dell'Europa preferiscono i tuorli dal colore decisamente più intenso. Per ottenere una colorazione di una certa tonalità del tuorlo d'uovo, soprattutto quando vengono utilizzati alimenti a basso contenuto di carotenoidi, la dieta delle galline è spesso integrata con varie fonti di carotenoidi. Oltre alla luteina e alla zeaxantina, che sono comuni nei mangimi delle galline, ci sono carotenoidi che non sono comuni, ma la cui integrazione comporta una colorazione migliorata a basso costo. La cantaxantina è uno di questi carotenoidi ampiamente utilizzato nelle diete del pollame.



Nell'allevamento avicolo, le xantofille sintetiche vengono utilizzate come integratori alimentari per ottenere una colorazione ottimale della pelle dei polli e del tuorlo d'uovo. L'intensità e il colore del tuorlo possono essere controllati dal tipo e dalla concentrazione dei carotenoidi alimentari: la cantaxantina, che è prevalentemente rossa, e l'estere etilico dell'acido  $\beta$ -apo-8'-carotenoico, che è prevalentemente giallo. Entrambi i carotenoidi sono disponibili in commercio. La cantaxantina è disponibile come Carophyll® Red (DSM Nutritional Products, Basilea, Svizzera) e come estere etilico dell'acido  $\beta$ -apo-8'-carotenoico come Carophyll® Yellow, dalla stessa azienda. Xantofille corrispondenti prodotte da BASF (Ludwigshafen, Germania) sono Lucantin®Red e Lucantin®Yellow. Nell'uomo, una parte della cantaxantina ingerita viene assorbita (dal 9 al 34%) e la sua eliminazione è caratterizzata da una lunga emivita di circa 5 giorni. La tossicità orale acuta della cantaxantina è molto bassa. Tuttavia, diversi studi sugli animali indicano che la somministrazione orale giornaliera di cantaxantina era associata a depositi cristallini nella retina (EFSA 2010).

#### *1.4. Biodisponibilità*

La biodisponibilità dei carotenoidi è determinata dalle caratteristiche degli alimenti ingeriti e dalle interazioni con altri componenti della dieta. Il contenuto medio di luteina e zeaxantina nel tuorlo è di circa 200-300  $\mu$ g, la matrice lipidica consente un assorbimento efficiente di questi pigmenti. Per ottenere i massimi benefici fisiologici, la luteina e la zeaxantina devono essere assorbiti e trasportati nel flusso sanguigno. Pertanto, una buona comprensione del rilascio, dell'assorbimento, del trasporto e dell'accumulo di carotenoidi, è essenziale per valutare i benefici che questi composti possono apportare. In generale, la biodisponibilità dei carotenoidi è influenzata da numerosi fattori tra cui la matrice alimentare, le condizioni di lavorazione e il contenuto di grassi. Le condizioni di lavorazione (come il riscaldamento, la frittura, ecc.) che influiscono sulla biodisponibilità della luteina e zeaxantina del tuorlo d'uovo, dovrebbero essere ottimizzate per ridurre al minimo le perdite di questi composti bioattivi assicurandone una quantità ottimale per l'assorbimento. Studi con  $\beta$ -carotene e licopene hanno dimostrato che l'associazione con una matrice lipidica aumenta la biodisponibilità di questi carotenoidi. La localizzazione all'interno di una pianta (p. es., in cloroplasti o cromoplasti) e composti che interferiscono con la formazione di micelle intestinali (p. es., pectina) possono ridurre la biodisponibilità dei carotenoidi. In una certa misura, gli effetti



inibitori della matrice vegetale possono essere superati cucinando per abbattere bene la cellula vegetale e diminuendo la dimensione delle particelle di cibo (ad esempio, tritando e riducendo in purea). L'olio minerale, non digeribile, può interferire con l'assorbimento dei carotenoidi.

I tuorli delle uova di gallina prodotte negli Stati Uniti contengono grandi quantità di luteina e zeaxantina rispetto ad altre comuni fonti alimentari di carotenoidi. Il tuorlo d'uovo di gallina è una matrice composta da lipidi digeribili, cioè colesterolo, triacilgliceroli e fosfolipidi. La luteina e la zeaxantina sono disperse in questa matrice insieme ad altri micronutrienti liposolubili come le vitamine A, D ed E. La luteina e la zeaxantina nei tuorli d'uovo potrebbero essere altamente biodisponibili a causa della loro associazione con la matrice lipidica del tuorlo d'uovo

## 2. Analisi e risultati

### 2.1. Accasamento delle galline

40 galline Lohman Brown Classic sono state alloggiate random in 4 gabbie preparate ad hoc, con 10 galline, dell'età di 19 settimane, in ogni gabbia gabbia. Per 10 settimane prima dell'esperimento, gli uccelli sono stati alimentati con una dieta di mantenimento per pollastre. Successivamente, per 2 settimane, gli uccelli sono stati nutriti con mangime per galline ovaiole. Dalla 31a settimana gli uccelli sono passati alle diete sperimentali. Le galline sono state nutrite *ad libitum*. Le uova per l'esperimento sono state raccolte ogni due settimane. Tutti gli uccelli sono stati esposti a fotoperiodo e temperatura naturali.

### 2.2. La dieta delle galline

Ogni gruppo di gallina è stato nutrito con una dieta specifica in accordo allo schema seguente:

<i>Dieta 1 gruppo 1 (G1)</i>	<i>BASALE</i>
<i>Dieta 2 gruppo 2 (G2)</i>	<i>5% DML + 10% DGB</i>



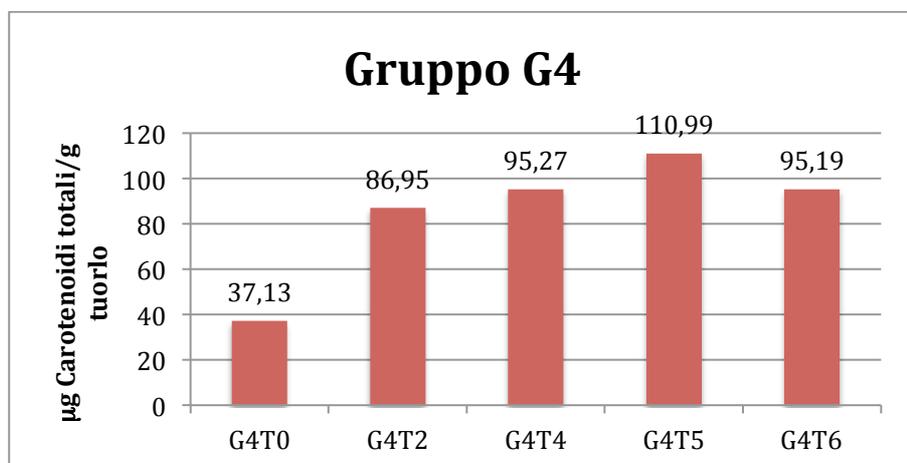
<i>Dieta 3 gruppo 3 (G3)</i>	<i>3% DML + 7% DGB</i>
<i>Dieta 4 gruppo 4 (G4)</i>	<i>15% DML</i>

*DML= Dried Moringa Leaves; DGB: Dried Goji Berries*

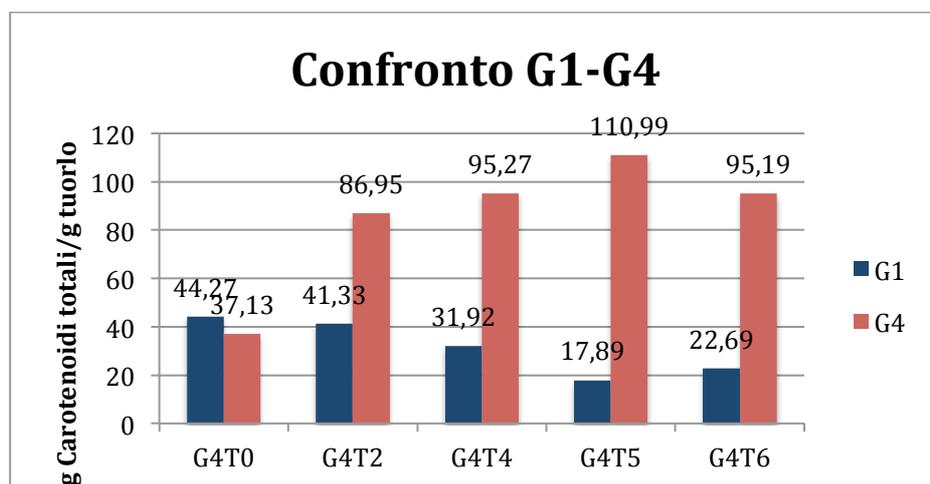
### 2.3. *Contenuto di carotenoidi calcolato mediante HPLC-DAD*

La lettura dei dati relativi all'analisi HPLC-DAD conferma l'incremento del contenuto di carotenoidi ed in particolare di xantofille (luteina e zeaxantina in primis) rispetto alla quantità rilevata nei tuorli di galline nutrite con dieta basale. Da notare che una costante dei gruppi 2, 3 e 4 è che l'incremento suddetto diviene significativo già al tempo 1 e mediamente elevato nei tempi rimanenti, in accordo con dati disponibili in letteratura che evidenziano un aumento significativo di carotenoidi in tuorli di uova di galline nutrite con diete modificate ad alto contenuto di xantofille. Il gruppo 4 fa registrare il contenuto medio più elevato (1.1 mg/g tuorlo) ed un range di concentrazione oscillante tra 0.9 ed 1.1 mg/g di tuorlo (fig. 1). In fig 2 si può osservare il confronto tra il gruppo di riferimento ed il 4 (solo Moringa). In letteratura sono presenti vari studi in cui vengono riportati i contenuti medi di carotenoidi nel tuorlo d'uovo di gallina. Leeson & Caston (2004) riportarono quantitativi medi di carotenoidi totali nel tuorlo di circa 0.3-0.5 mg (peso fresco), mentre Brulc et al. (2013) riportarono un contenuto tra 1,3 e 5mg per 100g di tuorlo (riferito al peso fresco), a seconda della classe d'allevamento.

**Fig. 1.** Contenuto di carotenoidi totali dei tuorli d'uovo di galline nutrite con mangime arricchito di Moringa oleifera



**Fig. 2.** Contenuto di carotenoidi totali dei tuorli d'uovo di galline nutrite con mangime arricchito di Moringa oleifera in comparazione con il gruppo basale.

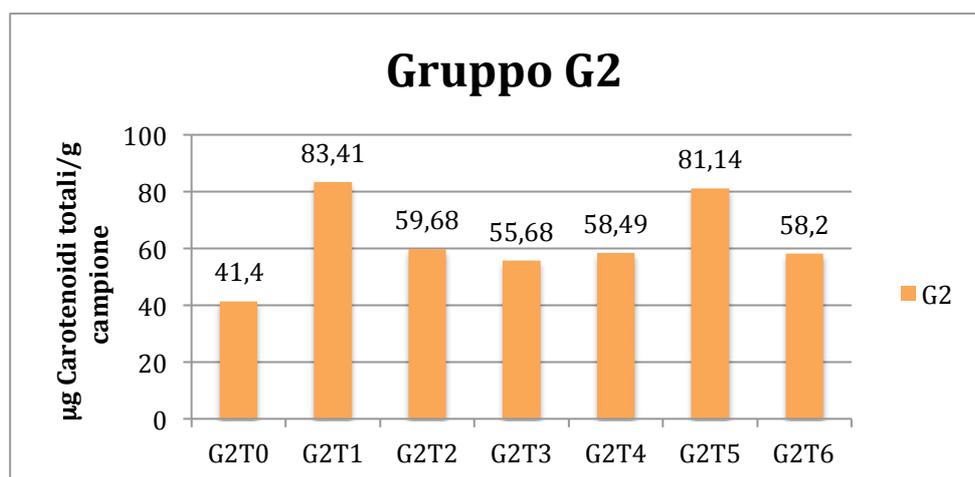


Lo studio di Leeson & Caston ha dimostrato che è possibile incrementare il contenuto nel tuorlo d'uovo di luteina da 5 a 8 volte al di sopra delle concentrazioni regolari e che tali uova arricchite potrebbero fornire un significativo contributo alla nostra dieta.

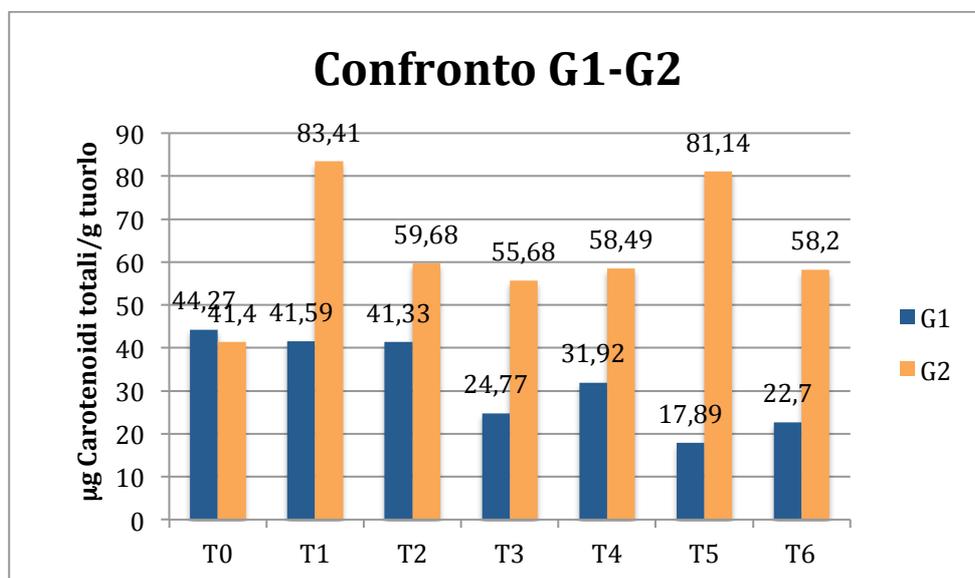


Dunque la strategia di “funzionalizzare” le uova con carotenoidi mediante la formulazione di mangimi arricchiti di composti naturali, è una strada perseguita da anni e riportata nella letteratura scientifica. L’uso delle foglie di Moringa è già stato considerato nel passato come integrazione nutrizionale in grado di trasferire carotenoidi e potere antiossidante alle uova. Nello studio presentato in questa relazione viene utilizzato, oltre alla moringa da sola, un mix di moringa e bacche di goji (*Lycium barbarum*) ricche in xantofille ed in particolare di zeaxantina dipalmitato. Nella figura 3 è possibile notare l’effetto di questo mix (5% p/p Moringa, 10% p/p goji) sul profilo dei carotenoidi del tuorlo di galline nutrite con questa dieta speciale (G2). In figura 4, invece, si può osservare il confronto tra il gruppo basale (G1) ed il G2.

**Fig. 3.** Contenuto di carotenoidi totali dei tuorli d’uovo di galline (G2) nutrite con mangime arricchito di Moringa oleifera 5% + bacche di goji 10%.

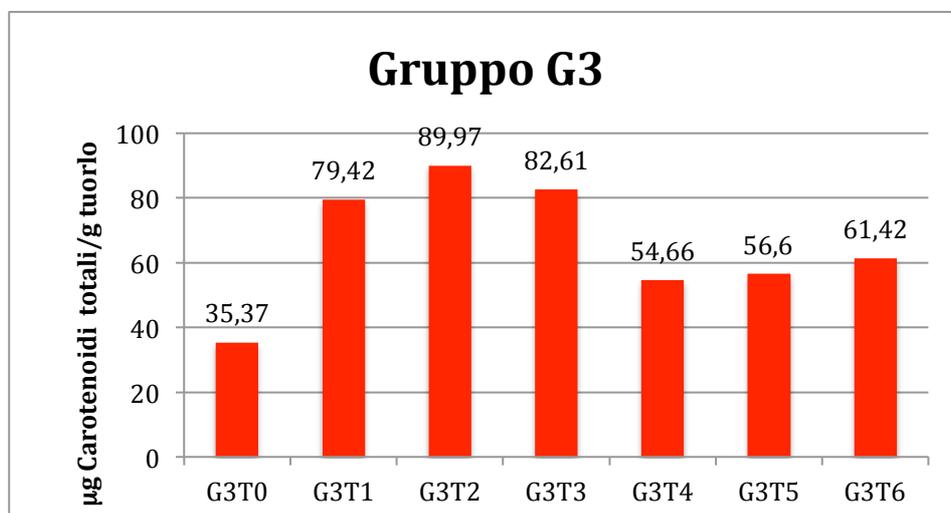


**Fig. 4.** Contenuto di carotenoidi totali dei tuorli d’uovo di galline nutrite con mangime arricchito di Moringa oleifera 5% p/p + bacche di goji 10% p/p, in comparazione con il gruppo basale.



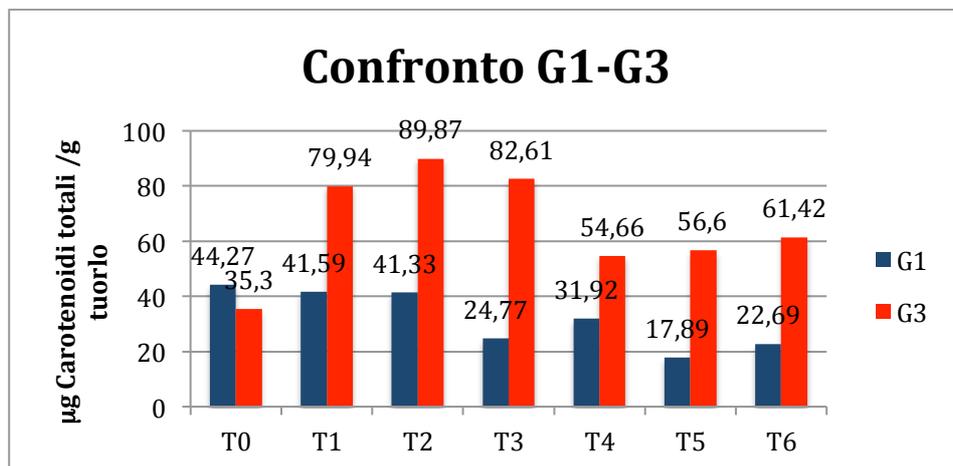
In questo studio si sono considerati due gruppi di galline trattati con questo mix ma con rapporti diversi tra le due specie vegetali: oltre al sopra riportato mix moringa/goji 5%-10% rispettivamente (G2), è stato utilizzato anche un mix moringa/goji 3%-7% (gruppo di galline denominato G3). Anche in questo caso, la risposta è stata significativamente positiva: l'incremento del contenuto dei carotenoidi totali è quantizzabile in circa il doppio rispetto al basale, misurato ai tempi T2 e T3 (da 44 a 90 µg/g). Nelle fig. 5 e 6 sono riportati i risultati relativi al G3 ed al confronto G1-G3, rispettivamente.

**Fig. 5.** Contenuto di carotenoidi totali dei tuorli d'uovo di galline (G3) nutrite con mangime arricchito di Moringa oleifera 3% + bacche di goji 7% (p/p).





**Fig. 6.** Contenuto di carotenoidi totali dei tuorli d'uovo di galline nutrite con mangime arricchito di Moringa oleifera 5% p/p + bacche di goji 10% p/p, in comparazione con il gruppo basale.



I risultati ottenuti dalla presente ricerca consentono alcune riflessioni di tipo nutrizionale: calcolando che i dati riportati sono rapportati al peso secco (tuorlo liofilizzato) e che nei campioni considerati il processo di disidratazione riduceva il peso fresco a poco meno della metà (mediamente il peso secco risulta il 48% di quello fresco), possiamo asserire che i risultati ottenuti possono essere riportati al peso fresco semplicemente dimezzando il contenuto totale riportato negli istogrammi. Se volessimo confrontare i nostri risultati con lo studio sopra citato (5 mg di carotenoidi totali su 100g di tuorlo), potremmo consultare la tabella seguente:

Tab. 1. Carotenoidi totali espressi in  $\mu\text{g/g}$  di tuorlo su peso secco e come  $\text{mg}/100\text{g}$  di tuorlo su peso fresco

Sample	Total carotenoid content $\mu\text{g/g}$ dw (range)	Total carotenoid content $\text{mg}/100\text{g}$ fw (range)
G1	17.89 – 44.27	0.89 – 2.2
G2	54.49 – 83.41	2,72 – 4.17
G3	54.66 – 89.97	2.73 – 4.50
G4	86.95 – 110.99	4,35 – 5.55



Nella tabella 2, invece, i risultati sono espressi come carotenoidi totali su un uovo di peso medio di 60g.

**Tab. 2.** Apporto di carotenoidi totali con 1 uovo di peso medio 60g.

Sample	Total carotenoid content mg/egg (60g)
G1	0.18 – 0.44
G2	0.54 – 0.83
G3	0.53 – 0.90
G4	0.87 – 1,11

### 3. Conclusioni

Dai dati ottenuti si evince che l'arricchimento della dieta delle galline con foglie di moringa e bacche di goji essiccate si ottiene un incremento del contenuto totale di carotenoidi. In particolare, la fortificazione del mangime con bacche di goji 7% e moringa 3% (G3), raggiunge la massima concentrazione di carotenoidi già al tempo 1 e tale valore rimane elevato fino al tempo 3 (80 – 89 µg/g). Ciò suggerisce che l'uso del mix G3 potrebbe essere la scelta migliore per ottenere risultati soddisfacenti in termini di arricchimento in carotenoidi del prodotto "uovo funzionale o nutraceutico".

### 4. Letteratura citata

Abou-Elezz F. M. K., Sarmiento-Franco L., Santos-Ricalde R., Solorio-Sanchez J. F. The nutritional effect of *Moringa oleifera* fresh leaves as feed supplement on Rhode Island Red hen egg production and quality. *Trop Anim Health Prod*, 2012, 44, 1035–1040

Brulc L., Simonovskaa B., Vovka I., Glavnik V. Determination of egg yolk xanthophylls by isocratic high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 1318 (2013), 134–141



Duru A. A. Effect of dietary Goji Berry (*lyciumbarbaruml.*) leaf meal on performance, egg quality and egg yolk cholesterol levels of laying Hens. *BIOLOGIA (PAKISTAN)* PKISSN 0006 – 3096 (Print) December, 2019, 65 (II), Online

EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food. Scientific Opinion on the re-evaluation of canthaxanthin (E 161 g) as a food additive. *EFSA Journal* 8, 2010, 1852.

Goodwin T.W. Metabolism, nutrition, and function of carotenoids. *Annual Review of Nutrition*, 6, 1986, 273–297.

Hammershoj M., Kidmose U., Steenfeldt S. Deposition of carotenoids in egg yolk by short-term supplement of coloured carrot (*Daucus carota*) varieties as forage material for egg-laying hens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 2010, 1163–1171.

Handelman G. J., Nightingale Z. D., Lichtenstein A. H., Schaefer E. J., Blumberg J. B. Lutein and zeaxanthin concentrations in plasma after dietary supplementation with egg yolk, *The American Journal of Clinical Nutrition*, Volume 70, Issue 2, August 1999, Pages 247–251

Hencken H. Chemical and physiological behavior of feed carotenoids and their effects on pigmentation. *Poultry Science*, 71, 1992, 711–717.

Leeson S., Caston L. Enrichment of Eggs with Lutein. *Poult. Sci.* 83, 2004, 1709

Moreno J. A., Díaz-Gómez J., Nogareda C. , Angulo E., Sandmann G., Portero-Otin M., Serrano J. C. E., Twyman R. M., Capell T., Zhu C. & Christou P. The distribution of carotenoids in hens fed on biofortified maize is influenced by feed composition, absorption, resource allocation and storage. *Scientific Reports*, 6, 2016, 35346

Nys Y. Dietary carotenoids and egg yolk coloration – a review. *Archiv für Geflügelkunde*, 64, 2000, 45–54.



Shin, J.Y., Xun, P., Nakamura, Y., & He, K. Egg consumption in relation to risk of cardiovascular disease and diabetes: A systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 98, 2013, 146–159.

Skřivan M., Englmaierová M., Skřivanová E., Bubancová I. Increase in lutein and zeaxanthin content in the eggs of hens fed marigold flower extract. *Czech J. Anim. Sci.*, 60, 2015 (3): 89–96

Zaheer K. Hen egg carotenoids (lutein and zeaxanthin) and nutritional impacts on human health: a review. *CYTA – Journal of Food*, 2017 Vol. 15, No. 3, 474–487

Zhang W., Zhang K.Y., Ding X.M., Bai S.P., Hernandez J.M., Yao B., Zhu Q. Influence of canthaxanthin on broiler breeder reproduction, chick quality, and performance. *Poultry Science*, 90, 2011, 1516–1522.

***I Responsabili della Ricerca***

***Dott. Domenico Montesano***

***Prof. Gian Carlo Tenore***



**Napoli 20 maggio 2021**