

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**

**FACULTAD DE ZOOTECNIA**



**“EXTRACTO DE LA HOJA DE UÑA DE GATO (*Uncaria tomentosa*) EN LA ETAPA DE CRECIMIENTO, SOBRE LOS PERFILES BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS Y PARÁMETROS PRODUCTIVOS EN POLLOS DE CARNE”**

**Tesis**

**Para Optar el Título de:**

**INGENIERO ZOOTECNISTA**

**LIRZA ALEJO CERVANTES**

**TINGO MARÍA – PERÚ**

**2016**

## DEDICATORIA

A Dios, ya que sin Él nada podemos hacer. Dios es quien nos concede el privilegio de la vida y nos ofrece lo necesario para lograr nuestras metas.

A mí adorada mamá Dionicia Cervantes Serafin, por sus consejos, comprensión y ayuda en el logro de mis objetivos para alcanzar las metas de mi profesionalización y a mi padre Juan Alejo Reynoso por el apoyo incondicional en cada momento de mi vida.

A mis hermanos Juan Daniel Alejo Cervantes, Daniela Alejo Cervantes, Angelo Alejo Vizueta e Isabel Alejo Vizueta, por su cariño, Comprensión y por los momentos inolvidables compartidos.

## AGRADECIMIENTO

- A la Universidad Nacional Agraria de la Selva, en especial a la Facultad de Zootecnia que contribuyó en mi formación profesional.
- Al Ing. M.Sc. Lao Gonzales, Dr. López Daniel, asesores del presente trabajo, por su labor como formador, su amistad, su apoyo desinteresado y supervisión de la presente tesis.
- A los miembros integrantes del jurado de tesis: Dr. Arévalo Carlos, Ing. M.Sc. Walter Paredes, Ing. M.Sc. Tula Alegría.
- A Phs. Dr. Sandoval Chacón, Manuel, patrocinador del presente trabajo de investigación.
- A Ing. Darlym Reátegui, Laboratorista Félix Jara, Dr. Rizal Robles; por su amistad, su apoyo desinteresado y supervisión de la presente tesis.
- Al Centro de Investigación de productos naturales de la Amazonía (CIPNA).
- A mis amigas: Elizabeth Quijano Rojas, Kelly Cecilia Caballero Salas, Yefigenia Albornoz Lavado, Janeth Erika Rivera Rosales, con mucho aprecio y cariño.
- A mis amigos Jairo Loayza Bezares, por apoyarme en la culminación del trabajo de investigación, Abraham Rivera Amaringo, Neil Nuñez Tarazona por su amistad y confianza, y a todos con quienes de alguna una forma contribuyeron a la culminación del presente trabajo de investigación.

## ÍNDICE GENERAL

### RESUMEN

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1.	Generalidades de la uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> ).....	3
2.2.	Composición química y actividad farmacológica de la uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> ) .....	3
2.3.	Polifenoles.....	7
2.3.1.	Mecanismo de acción de los polifenoles.....	7
2.4.	Radicales libres, estrés oxidativo y antioxidantes.....	8
2.4.1.	Uso del radical DPPH (1,1 dyphenyl-2-picrilhidrazyl radical).....	9
2.5.	Investigaciones realizadas sobre polifenoles y capacidad antioxidante.....	10
2.6.	Constantes hematológicas.....	11
2.6.1.	Hemoglobina y hematocrito.....	11
2.7.	Perfiles bioquímicos.....	13
2.7.1.	Transaminasa aspartato aminotransferasa (AST) y la transaminasa alanina amino transferasa (ALT).....	13
2.7.2.	Proteína total sérica y albumina sérica.....	15
2.8.	Parámetros productivos en pollos de carne.....	17
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
3.1.	Lugar y fecha de investigación.....	18

3.2.	Tipo de investigación.....	19
3.3.	Animales experimentales.....	19
3.4.	Instalaciones y equipo.....	19
3.5.	Alimento y alimentación.....	20
3.6.	Sanidad.....	20
3.7.	Materia prima en estudio.....	20
3.8.	Variable independiente.....	21
3.9.	Tratamientos.....	21
3.10.	Variables dependientes.....	22
3.11.	Metodología.....	22
	3.11.1. Prueba del radical 1,1 –diphenyl-2-picrilhidrazyl (DPPH).....	22
	3.11.2. Evaluación de polifenoles totales.....	23
	3.11.3. Perfiles bioquímicos y constantes hematológicas.....	24
	3.11.4. Parámetros productivos.....	25
3.12.	Croquis de distribución de tratamientos.....	26
3.13.	Diseño y análisis estadístico.....	26
IV.	RESULTADOS.....	28
4.1.	Contenido de polifenoles totales y el coeficiente de inhibición IC <sub>50</sub> Ug/mL de EHHut frente al 1,1 diphenyl-2-picrilhidrazyl (DPPH) de la hoja de uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> ).....	28
	4.1.1. Contenido de polifenoles totales del extracto hidroalcohólico de la hoja de uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> ).....	28

4.1.2.	Capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la hoja de uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> ) sobre el radical libre 1,1-diphenyl -2-picrilhidrazyl (DPPH)...	29
4.2.	Contenido de la hemoglobina, hematocrito, proteína y albumina total e índice de transaminasas del aspartato (AST) y de la alanina (ALT) en pollos de carne, que recibieron el EHHut a diferentes niveles y evaluadas a la edad de 15,28 y 42 días.....	29
4.2.1	Desdoblamiento de dos factores: niveles de EHHut y edad (días).....	32
4.3.	Efecto del extracto hidroalcohólico de la hoja de uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> ) sobre los parámetros productivos de pollos de carne evaluados a los 42 días de edad.....	35
V.	DISCUSIÓN.....	36
5.1.	Contenido de polifenoles totales y el coeficiente de inhibición IC <sub>50</sub> Ug/mL de EHHut frente al 1,1 diphenyl-2-picrilhidrazil (DPPH) de la hoja de uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> ).....	36
5.1.1.	Contenidos de polifenoles del extracto hidroalcohólico de la hoja de uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> ).....	36
5.1.2.	Capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la hoja de uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> ) sobre el radical libre 1,1-diphenyl -2-picrilhidrazyl (DPPH).....	37

5.2.	Contenido de la hemoglobina, hematocrito, proteína y albumina total e índice de transaminasas del aspartato (AST) y de la alanina (ALT) en pollos de carne, que recibieron el EHHut a diferentes niveles y evaluadas a la edad de 15,28 y 42 días.....	38
5.2.1	Desdoblamiento de dos factores: niveles de EHHut y edad (días).....	39
5.3.	Efecto del extracto hidroalcohólico de la hoja de uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> ) sobre los parámetros productivos de pollos de carne evaluados a los 42 días de edad.....	40
VI.	CONCLUSIONES.....	42
VII.	RECOMENDACIONES.....	43
VIII.	ABSTRACT.....	44
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
X.	ANEXO.....	54

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Contenido alcaloídico en hojas de plantas peruanas de la uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> ).....	6
2. Valores normales del perfil bioquímico sanguíneo en estudio de pollos parrilleros.....	16
3. Contenido del total de polifenoles en extracto hidroalcohólico de hojas de uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> ).....	28
4. Capacidad antioxidante de extracto hidroalcohólico de la uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> ) promedios $\pm$ error estándar de IC <sub>50</sub> ug/mL de EHHut.....	29
5. Perfiles bioquímicos sanguíneos y constantes hematológicas evaluadas a los 14, 28 y 42 días; por efecto de diferentes niveles de EHHut (media $\pm$ E.E).....	31
6. Concentración de albumina sérica (g/dL) de acuerdo a los niveles de EHHut dentro de cada edad de los pollos.....	32
7. Concentración de albúmina sérica (g/dL) de acuerdo a la edad (días) dentro de cada nivel de EHHut (media $\pm$ error estándar).	34

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Concentración de albúmina (g/dL) de acuerdo a la edad (días) dentro de cada nivel de EHHut. (Media $\pm$ E.E).....	33
2.	Concentración de albúmina (g/dL) de acuerdo a nivel de EHHut dentro de Edad (días). (Media $\pm$ error estándar).....	34

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en dos ensayos: el primer ensayo fue *in vitro* y se llevó a cabo en el Centro de Investigación de Productos Naturales de la Amazonia (CIPNA) y el segundo ensayo se realizó en la unidad experimental de aves del Centro de Capacitación e Investigación Granja Zootecnia (CCIGZ) y en el laboratorio de Sanidad Animal de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Agraria de la Selva, Tingo María; provincia de Leoncio Prado, región Huánuco, Perú; el objetivo fue evaluar la capacidad antioxidante de la hoja de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) (EHHut) y su efecto en las constantes hematológicas, perfil bioquímico y demás parámetros productivos, en pollos evaluados a los 42 días de edad. Para ello se empleó 100 pollos Cobb 500, peso promedio 43.22 g; dividido en 4 tratamientos con la adición del EHHut en el agua de bebida a niveles de 0, 80, 160 y 240 IC<sub>50</sub>, en los tratamientos 1, 2, 3 y 4 respectivamente, desde los 14 a 28 días de edad. Se determinó el número de polifenoles totales (54.83 g/100gr de materia seca) y el coeficiente inhibidor (16.78 IC<sub>50</sub> µg/ml) y en los parámetros evaluados no se encontró diferencias estadísticas ( $p > 0.05$ ) y se tuvo valores: hemoglobina (9.46g/dL) y hematocrito (22.65%) asimismo la proteína total promedio fue (2.73 g/dL); la albúmina (1.42 g/dL), aspartato (95.82 UI/L) y de la alanina (12.84 UI/L). Con respecto a los efectos en las edades de 14, 28 y 42 días, sí se halló diferencia estadística en la hemoglobina y en los perfiles bioquímicos. En conclusión, el EHHut suministrado en el agua de bebida a diferentes niveles no tuvo efecto en las constantes hematológicas, perfiles sanguíneos ni en parámetros productivos.

Palabras clave: Constantes hematológicas, hidroalcohólicos, perfiles sanguíneos, polifenoles, uña de gato.

## I. INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo ocurre en la vida en todas las especies animales, sobre todo en aquellas de crecimiento precoz como el pollo de carne que está sujeto a un acelerado metabolismo que junto a la densidad en el confinamiento generan un desbalance entre la producción de radicales libre y los sistemas de defensa; que trae como consecuencia estados de inmunodeficiencia que se expresa con la presencia de enfermedades muchas veces sub clínicas que deterioran los indicadores productivos y alteran los indicadores bioquímicos sanguíneos.

Para corregir el impacto negativo de las exigencias a las que es sometido el pollo en su crianza, la estrategia debe ser inhibir la acción de estas sustancias reactivas o hacer el tratamiento médico con fármacos, además la sociedad y los consumidores ahora no solo se conforman con las características organolépticas del producto final también exigen la calidad sanitaria libre de residuos (antibióticos, promotores de crecimiento, coccidostatos, pesticidas) y de metales pesados; es ahí donde los extractos de vegetales obtenidos mediante biotecnología nos ofrecen grandes ventajas en su uso como moduladores de la respuesta inmune, asimilación de nutrientes y del metabolismo celular. Esta planta nativa de la Amazonia es reconocida por sus propiedades beneficiosas en procesos inflamatorios de diversa índole, así como antioxidante, inmuno estimulante, antimutágeno y antiviral. Bajo estas

condiciones, planteamos la siguiente hipótesis: ¿el suministro de extracto hidroalcohólico de hoja de uña de gato a desde los 15 a 28 días de edad; en cantidades de 80 IC<sub>50</sub>, 160 IC<sub>50</sub>, y 240 IC<sub>50</sub> en el agua de bebida, puede mejorar los índices productivos e indicadores bioquímicos sanguíneos en los pollos de carne? para lo cual planteamos los siguientes objetivos:

#### Objetivo general

Evaluar la capacidad antioxidante in vitro, del extracto hidroalcohólico de hoja de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) (EHHut) y su efecto a la adición en el agua de bebida; en la fase de crecimiento y sobre los parámetros productivos, perfiles hematológicos y bioquímicos, en pollos de carne a los 42 días de edad en Tingo María.

#### Objetivos específicos

- Calcular el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la hoja de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) sobre el radical libre 1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl (DPPH).
- Determinar el contenido de la hemoglobina, hematocrito, proteína y albúmina total e índice de transaminasas del aspartato (AST) y de la alanina (ALT) en pollos de carne que recibieron el EHHut de la hoja de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) a diferentes niveles y evaluadas a la edad de 15, 28 y 42 días.
- Demostrar el efecto del EHHut sobre los parámetros productivos en pollos de carne evaluadas a 42 días de edad.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Generalidades de la uña de gato (*Uncaria tomentosa*)

Es una liana trepadora, de grandes dimensiones, oriunda de Sudamérica, de gran potencial medicinal. Los tallos primarios presentan espinas. La parte utilizada está constituida por la corteza interna de los tallos, las hojas y la raíz pulverizada (cápsulas), extracto acuoso liofilizado (pastillas), ungüentos, bolsitas filtrantes como infusión y otros (HOMEOVITA,2008).

### 2.2. Composición química y actividad farmacológica de la uña de gato (*Uncaria tomentosa*)

PRIETO *et al.* (2011) aislaron un compuesto denominado éster etílico de feoforbida  $\alpha$  y una mezcla de esteroides ( $\beta$ -sitosterol y estigmasterol) de hojas del género *Uncaria* (rubiaceae). WAGNER, KREUTCAMP, JURIC (1985); ANGULO *et al.*, (2005) reportaron la presencia de alcaloides, isopteropodina, pteropodina, mitrafilina, isomitrafilina, rinchofilina e isorinchofilina.

Se han encontrado constituyentes no alcaloides como heterosidos, compuestos fenólicos (flavonoides, las procianidinas y cinchonainas) y el ácido quinóico, responsable de la actividad antiinflamatoria (AQUINO *et al.*, 1989).

RIZZI et al. (1993), atribuyeron la acción antimutagénica de la uña de gato a un efecto antioxidante. La cis-epicatequina tiene una acción antioxidante superior a la vitamina E; más potente aun como antioxidante son sus procianidinas. Además de estos flavonoides, la uña de gato contiene triterpenos como los ácidos oleanólico y ursólico, que también barren radicales libres.

ANGULO *et al.* (2005) demostraron la potente acción inmunestimulante de los alcaloides indólicos, isoteropodina, pteropodina, isomitrofilina e isorinchofilina, de la corteza de uña de gato por medio de la prueba de luminiscencia; además reporta que el extracto acuoso de corteza de uña de gato estimula la producción de interleucinas 1 y 6 en macrófagos alveolares las cuales inician la cascada de actividades de defensa del sistema inmune. Por su lado KEPLINGER (1989), demostró que los alcaloides oxindólicos pentacíclicos extraídos de la corteza de la *Uncaria tomentosa* tienen actividad citostática contraceptiva y antiinflamatoria; concluyendo que estos producen aumento de fagocitosis, en ensayos in vitro e in vivo (OBREGON, 1997).

SANDOVAL *et al.* (1998) manifiestan que la uña de gato tiene propiedades antioxidantes al inhibir oxidantes y radicales libres aliviando los efectos negativos en procesos de inflamación y estrés oxidativo. El extracto acuoso de la corteza de uña de gato es capaz de inducir la apoptosis e inhibir la proliferación de células tumorales in vivo. Asimismo incrementa la reparación de ADN; inducidas por radiación en ratas (SHENG, *et al.*, 2000).

LAUS *et al.* (1997) investigaron en 14 plantas peruanas de *Uncaria tomentosa* de 2 años de edad cosechadas en mayo de 1994; el contenido de alcaloides de sus hojas jóvenes y adultas (Cuadro 1), siendo la uncarina y la especifilina abundantes respectivamente para cada tipo de hoja. En general, las hojas jóvenes tienen la más alta concentración de alcaloides de todas las partes de la planta. Sin embargo, se comprobó que no hay diferencia significativa en las proporciones de los alcaloides oxindólicos principales de las hojas y raíces.

Cuadro 1. Contenido alcaloidico en hojas de plantas peruanas de la uña de gato (*Uncaria tomentosa*)

	Plantas N°						
	1	2	3	4	8	9	13
	Planta material/mg alcaloide						
<b>HOJAS JOVENES</b>							
Pteropodina	3.3	5.2	3	0.82			
Isopteropodina	1.5	2	2.1	0.67			
Especiofilina	7.1	8.6	7	1.2			
Uncarina	11.2	17.5	13.7	1.6			
Mitrafilina						0.03	
Isomitrafalina						0.02	10.9
Rincofilina					9.2	10.7	18.1
Isorincofilina					14.8	20.8	0.39
Carinoxeína					0.27	0.44	0.33
Isocorinoxeína					0.29	0.17	
Akuammigina	3.1	9.6	6.1	40			
Tetrahydroalstonina	0.3	0.62	1.5	0.85			
Hursuteína					2.3	1.7	1.8
Dihidrocorinanteína					4.8	1.6	4.4
Hirsuteína					0.21	0.11	0.14
Corinanteína					0.08		0.04
<b>TOTAL</b>	<b>26.5</b>	<b>43.5</b>	<b>33.4</b>	<b>45.1</b>	<b>32</b>	<b>35.6</b>	<b>36.1</b>
<b>HOJAS ADULTAS</b>							
Pteropodina	4	4.7	4.7	4.6			
Isopteropodina	1.7	3	2	3.1			
Especiofilina	4.9	10.8	5.7	7.4			
Uncarina	1.1	2.8	1.4	1.9			
Isomitrafalina	0.09		0.11				
Rincofilina					3.2		
Isorincofilina					8.7		
Carinoxeína					0.06		
Isocorinoxeína					0.2		
Akuammigina	0.05	0.39					
Tetrahydroalstonina							
Isoajmalicina					0.12		0.15
Hursuteína					2.1	0.45	0.58
Dihidrocorinanteína					0.14		
Hirsuteína					14.5		
<b>Total</b>	<b>11.8</b>	<b>21.7</b>	<b>13.9</b>	<b>17</b>		<b>13.2</b>	<b>17.6</b>

Fuente: Laus *et al.* (1997)

## 2.3. Polifenoles

La absorción y el metabolismo de los polifenoles es influenciado por la solubilidad y estructura química (DREOSTI, 2000). Es evidente que algunos compuestos fenólicos simples libres, los flavonoides (quercetina y genisteina) y los ácidos fenólicos pueden ser directamente absorbidos a través de la mucosa del intestino delgado (MARTINEZ, *et al.* 2000).

### 2.3.1. Mecanismo de acción de los polifenoles

POURMORAD, *et al.* (2003) mencionan que los compuestos polifenólicos tienen propiedades conocidas en el secuestro de radicales libres, inhibición de hidrólisis y oxidación de enzimas y acción antiinflamatoria y actúan como antioxidantes por diferentes mecanismos.

- Como antioxidantes, actuando como atrapadores de radicales.
- En forma indirecta, como agentes quelantes de iones de metales de transición, es decir, uniéndose a estos iones y reduciendo la capacidad de estos metales pesados de generar radicales libres.
- Por sus propiedades de solubilidad pueden localizarse sobre la superficie de la partícula de lipoproteínas de baja densidad.
- Por inhibir, activar o proteger enzimas, se ha observado que el consumo de catequina, quercetina y vino tinto preservan la actividad de la paraoxonasa, enzima, asociada a las HDL; catequina, epicatequina, epigallocatequina, epicatequin galato y epigallocatequin galato inhiben la producción de radicales libres por inhibición de la xantinoxidasa hepática (FRANKEL, *et al.* 1998).

#### 2.4. Radicales libres, estrés oxidativo y antioxidantes

Los radicales libres (RL) presentan en su estructura atómica un electrón desapareado o impar en el orbital externo y puede existir independientemente siendo usualmente inestables, altamente reactivos y de vida corta. Los radicales libres capturan el electrón que les falta para ser estables e iniciar una reacción en cadena que daña muchas células y pueden ser indefinidas si los antioxidantes no intervienen (HALLIWELL, 1994).

ACTUALIDAD AVIPECUARIA (2015) menciona que el cuerpo del animal está bajo ataque constante por parte de los RL que se forman como resultado natural de la actividad metabólica normal de cuerpo y como parte de la estrategia del sistema inmunológico para destruir a los microorganismos invasores, el principal RL producido en los sistemas biológicos es el superóxido ( $O_2^*$ ) y ocurre durante el proceso respiratorio mitocondrial y por reacciones de autoxidación con vida media a 37°C en el rango de  $1 \times 10^{-6}$  segundos. Dependiendo de la condición, el superóxido puede actuar como agente reductor o agente oxidante.

GONZALES *et al.* (2000) mencionan que las especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS) que incluyen no solo al oxígeno o nitrógeno sino también algunos derivados reactivos no radicales de oxígeno y nitrógeno se producen constantemente in vivo durante el metabolismo fisiológico de los tejidos. La cadena de transporte de electrones en la mitocondria es la responsable de producir la mayor parte de los superóxidos en el cuerpo.

Los RL también pueden afectar al ADN y un ADN dañado está asociado con mutaciones, errores de traducción y una alteración en el proceso de síntesis de proteínas. En algunos casos el daño al ADN conduce al cáncer. En general, un daño a las moléculas biológicas al final compromete el crecimiento, desarrollo, inmunocompetencia y la reproducción RODRIGUEZ *et al* (2001). SANDOVAL *et al.* (2000) menciona que la uña de gato es un antioxidante muy efectivo que protege a las células contra el estrés oxidativo degradando directamente el peroxinitro, un potente oxidante celular implicado como mediador en diversos procesos inflamatorios. Además, neutraliza el efecto citotóxico de radicales libre como 1,1-diphenil-2-picrihidrazyl.

En las aves se ha relacionado el estrés oxidativo con el desarrollo de enfermedades como ascitis en pollos parrilleros e hígado graso en gallinas ponedoras; provocando que las células inflamatorias activan a los linfocitos que pueden generar una variedad de radicales libres hacia los tejidos como pulmón, hígado y corazón principalmente causando daño oxidativo al provocar un desbalance entre la producción de radicales libres y los sistemas antioxidantes de defensa (HUERTA, *et al.* 2004).

#### 2.4.1. Uso del radical DPPH (1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl radical)

Uno de los métodos más aplicados para la determinación antioxidante de plantas y alimentos. DPPH tiene dos aplicaciones principales, tanto en la investigación de laboratorio (monitoreo de reacciones químicas que involucran radicales) y como un estándar de la posición (BRAND *et al.*, 1995).

Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres, liberando electrones en la sangre que son captados por los radicales libres, manteniendo su estabilidad (BEDICH, 1993). La ingesta de antioxidantes ha mostrado efectos benéficos en la respuesta inmune de humanos y de animales, lo que sugiere la importancia del desarrollo de nuevas dietas de inmuno apoyo (GONZALES *et al.*, 2000).

## 2.5. Investigaciones realizadas sobre polifenoles y capacidad antioxidante

MELCHOR (2002) manifiesta que la actividad antioxidante de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze. “te verde” expresada como coeficiente de inhibición del 50 % de radicales libres (IC<sub>50</sub>) fue de 47 µg/ml y las condiciones de almacenamiento no disminuyó dicha actividad. Por su lado GARCÍA (2003) manifiesta que, el (IC<sub>50</sub>) de hojas frescas de uña de gato *U. tomentosa* y *U. guianensis* fue 47.74 y 42.09 µg/ml respectivamente; mientras SANDOVAL (1998) en investigaciones realizadas con *Uncaria tomentosa*, corteza liofilizada y micropulverizada se han reportado resultados de (IC<sub>50</sub>) de 30 y 150 µg/ml, para ambas formas de procesamiento.

ESTELO (2003) determinó el contenido de polifenoles en dos especies de “chanca piedra”, obteniendo para *Phyllanthus urinaria* L. de 7,32 ± 0.05 mg AGE/g y *P. niruri* L. de 3.010 ± 0.05 mg/AGE/g muestra seca. El contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante, está influenciada por las propiedades fisicoquímicas de las diferentes estructuras de los polifenoles, la polaridad del solvente y el tiempo de extracción (GEANKOPLIS, 1982).

## 2.6. Constantes hematológicas

La hematología constituye una parte importante en la evaluación del estado de salud, nutricional, fisiológico y condición en general de las poblaciones animales. A través de su evaluación es posible evaluar aspectos tales como la disponibilidad de alimento, ingesta de proteína, ingesta de energía, el estrés nutricional y condiciones patológicas (GALVEZ *et al.*, 2009).

### 2.6.1. Hemoglobina y hematocrito

ABCMEDICO (2010) indica que si existe un nivel de hemoglobina baja, esto se debe a anemia, enfermedades renales, enfermedades autoinmunes, hemorragias, leucemias, problemas nutricionales, etc.; otras causas podría deberse por un desbalance entre la síntesis de nuevos eritrocitos y la absorción de hierro, así como otras sustancias básicas en la formación de nueva hemoglobina, por lo que las cantidades sintetizadas de esta proteína, hasta ese momento, tendrían que redistribuirse en el total de nuevos eritrocitos y reticulocitos y por ende disminuiría las concentraciones de la proteína.

MATEO (2006) menciona que si los niveles fuesen altos; hablamos de hemolisis; la variación normal de los valores de hematocrito depende de la edad y del sexo siendo más elevados en edades adultas y/o en machos, así como de la latitud geográfica; otra de las observaciones a tener en cuenta es que los valores varían de un laboratorio a otro.

En un experimento realizado por RIOS *et al.* (2005), que consistió en la alimentación de cabras con *Ipomoea fistulosa* (aguapeí, mandiyurá), la cual es una planta tóxica por su alto contenido de alcaloides. Los animales que fueron alimentados (50g/kg PV/día) con dicha planta por 3 semanas; observaron que la concentración de eritrocitos disminuyó en alrededor del 40%, la hemoglobina declinó desde  $11,8 \pm 4,5$  hasta  $5,32 \pm 2,3$  g/dL y el hematocrito disminuyó de 33% hasta 27%.

REATEGUI (2012) reporta en una investigación realizada brindando torta de sachá inchi precocida (TSIP) a pollos parrilleros de la línea Cobb 500 utilizando los siguientes tratamientos T1 (TSI 0% de inclusión en la ración); T3 (TSI 14% de inclusión en la ración); obtuvo los siguientes valores de constantes hematológicas y perfil bioquímico: hematocrito (%) T1 ( $27,38 \pm 0,38$ ), T3 ( $29,56 \pm 0,45$ ); proteína sérica (g/dL) T1 ( $2,86 \pm 0,10$ ), T3 ( $2,82 \pm 0,10$ ); albumina (g/dL) T1 ( $1,11 \pm 0,02$ ), T3 ( $29,56 \pm 0,45$ ); AST (UI/L) T1 ( $104,51 \pm 2,44$ ), T3 ( $92,53 \pm 2,29$ ).

En un trabajo realizado por SANDOVAL (2012) suministrando extracto atomizado de corteza de uña de gato encontró niveles de hemoglobina de 7.79 y 12.98 g/dL; hematocrito de 32.01 y 31,78 %; albúmina de 1.06 y 1.92 g/dL; proteína total de 2.35 y 2.78 g/dL en pollos de carne a los 21 y 42 días de edad respectivamente.

## 2.7. Perfiles bioquímicos

Existen indicadores bioquímico - sanguíneo que se utiliza en varias especies domésticas para controlar la salud y para identificar enfermedades subclínicas posibles. En las aves el uso de esta herramienta se limita a los lotes comerciales, porque en algunos casos no se cuenta con valores de referencia para explotaciones avícolas, siendo esto un problema cuando se quiere hacer comparaciones. Otro problema es que la mayoría de los datos que se obtienen se basan en un tamaño pequeño de muestras, lo cual puede disminuir la significación estadística de los resultados debido a que muchos parámetros obtenidos de los individuos tienen la influencia de factores específicos, tales como edad, sexo, y estado productivo (BOWES, *et al.* 1989).

WILLARD *et al* (2001) mencionan que los valores bajos de albúmina son normales para los animales muy jóvenes, los valores aumentan gradualmente hasta la fase adulta; los más altos son los valores promedios normales para adultos. Tanto la albúmina como la globulina tienden a declinar con el avance de la ancianidad.

### 2.7.1. Transaminasa aspartato aminotrasferasa (AST) y la transaminasa alanina aminotrasferasa (ALT)

Las transaminasas, según LIMDI e HYDE (2003) constituyen un excelente marcador de lesión hepatocelular, participan en la gluconeogénesis al catalizar la transferencia de grupos amino del ácido aspártico o alanina del ácido cetoglutarico para producir ácido oxalacético y

pirúvico. Así mismo, refiere que la AST está presente en las izoenzimas citosólicas y mitocondriales del hígado, músculos esquelético y cardíaco, riñón cerebro, páncreas, pulmones, leucocitos y glóbulos rojos. Es menos específica y sensible para el hígado. Por lo tanto, el aumento de estas enzimas en la sangre indica la existencia de una lesión celular en el hígado, el corazón, los riñones o en los músculos.

JÍNEZ *et al.* (1998) realizaron estudios sobre el efecto de niveles elevados de semilla de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en dietas para pollos sobre el comportamiento productivo y funcionamiento hepático; con niveles de 0%, 10%, 30% y 40%; encontrando a la séptima semana que los niveles de AST fue 111, 132, 134, 111 UI/L, respectivamente; para el caso de la ALT encontró 20, 15, 38, 10 UI/L; concluyendo para ambos que no hubo ningún efecto de la semilla de Jamaica sobre la concentración de AST y ALT.

GORRITI *et al.* (2010) administraron por vía oral 0.5 ml de aceite de sacha inchi/kg de peso vivo (grupo problema) y a otro grupo (control) 4 ml de suero fisiológico por kg de peso vivo; en ratones sanos machos de la cepa Balb C57 (ratones de laboratorio) de 3 hasta 60 días de vida; encontrando a los 30 días  $16 \pm 3.6$  y  $14.8 \pm 3.5$  UI/dL de ALT en el grupo problema y control respectivamente y a los 60 días  $19 \pm 1.2$  UI/dL y  $16.9 \pm 8.3$  UI/dL de ALT en el grupo problema y control respectivamente; en ambas evaluaciones (30 y 60) no se encontró diferencia estadística ( $p > 0.05$ ).

REATEGUI (2012) reporta en una investigación realizada brindando torta de sacha inchi precocida (TSIP) a pollos parrilleros de la línea

Cobb 500 utilizando los siguientes tratamientos T1 (TSI 0%); T3 (TSI 14% de inclusión); obtuvo los siguientes valores de constantes hematológicas y perfil bioquímico: hematocrito (%) T1 ( $27.38 \pm 0.38$ ), T3 ( $29.56 \pm 0.45$ ); proteína sérica (g/dL) T1 ( $2.86 \pm 0.10$ ), T3 ( $2.82 \pm 0.10$ ); albumina (g/dL) T1 ( $1.11 \pm 0.02$ ), T3 ( $29.56 \pm 0,45$ ); AST (UI/L) T1 ( $104.51 \pm 2.44$ ), T3 ( $92.53 \pm 2,29$ ).

### 2.7.2. Proteína total sérica y albumina sérica

ABCMEDICO (2010), las proteínas sanguíneas se clasifican en dos grandes grupos la albúmina y las globulinas de los cuales la primera es la proteína de más concentración en la sangre. Un nivel bajo de estas proteínas indica: Ascitis, hemorragias, enfermedades renales o hepáticas, etc. Por otro lado SOZA (2007) refiere que la albumina es la proteína más abundante del plasma y es producida exclusivamente por el hígado y por ende, la medición de la albúmina en sangre es un buen indicador del correcto estado del hígado.

FERATO (2010) indica que, la baja concentración de albumina indica deficiencias de la función hepática y que las concentraciones de albumina y proteína sérica por lo general son normales en las enfermedades hepáticas crónicas hasta que se presenta la cirrosis y daño hepático considerable, pero las concentraciones de albumina son bajas cuando hay desnutrición y van acompañadas por gran adelgazamiento con enfermedad gastrointestinal y renal.

Según EROSKICONSUMER (2009) una concentración elevada de taninos puede provocar que la absorción de algunos nutrientes se vea disminuido. En el caso de las proteínas, los taninos se combinan con ellas y se alteran su absorción. En cuanto al hierro, cuando los taninos están en elevadas concentraciones, forman con este mineral complejos insolubles en agua que no pueden ser absorbidas en el epitelio intestinal.

Las proteínas totales del suero sanguíneo son la albumina y las globulinas, siendo las más importantes aquellas relacionadas con mantenimiento de la presión osmótica del plasma, el transporte de sustancias a través del cuerpo (hormonas, minerales), la inmunidad, la acción de amortiguación y la regulación de enzimas. En las aves la fracción más grande de proteína (40-60%) es la albumina, que es 100% sintetizada en el hígado, por lo que su medición puede ser una ayuda adicional para el diagnóstico de las enfermedades del hígado. En pollos los niveles normales de albumina están en un rango de 1.6 a 2.0 g/dL (KANEKO *et al.*, 1997).

Cuadro 2. Valores normales del perfil bioquímico sanguíneo en estudio de pollos parrilleros

ALT (UI/L) <sup>1</sup>	AST (UI/L) <sup>2</sup>	Albumina (mg/dL) <sup>2</sup>		Proteína Sérica <sup>2</sup> (mg/dL)	Hematocrito (%) <sup>3</sup>	Hemoglobina (g/dL) <sup>3</sup>
9.5 - 37.2	70 - 220	1.1	2.74	2.4 – 5.34	23-55	7-18,6

<sup>1</sup> Mitruka *et al.*, (1997), citado por MIRANDA *et al.* (2007).

<sup>2</sup> Hernández (1994) y Ahmad (1979), citado por JINEZ *et al.*, (1998).

<sup>3</sup> UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA (2011)

## 2.8. Parámetros productivos en pollos de carne

CAMASCA (2014) al evaluar diferentes formas físicas de alimento en pollos de carne de la línea Cobb 500 hasta 42 días de edad logró ganancias de peso total de 1.80 kg; consumo de alimento total de 3.28 kg y conversión alimenticia de 1.82. LEITER (2012) al evaluar torta de sachá inchi tratada con cloruro de sodio al 3% a diferentes tiempos de cocción y tiempos de remojo en la alimentación de pollos de carne de la línea Cobb 500, en Tingo María logró rendimiento de carcasa de 77.69 %.

SANDOVAL (2012) evaluó la capacidad antioxidante del extracto atomizado de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) y efecto sobre los perfiles bioquímicos sanguíneos, constantes hematológicas y parámetros productivos en pollos de carne utilizando una ración comercial con 21 % de proteína hasta los 42 días de edad de pollos Cobb vantes 500, obteniendo ganancias de peso totales 2.77 kg por pollo; consumo de alimento de 443 kg y conversión alimenticia de 1.63.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar y fecha de investigación

El presente trabajo de investigación se realizó en dos ensayos: Ensayo 1: investigación *in vitro* que se llevó a cabo en el centro de investigación de productos naturales de la Amazonia (CIPNA) y el Ensayo 2: investigación *in vivo* que se realizó en la unidad experimental de aves del centro de capacitación e investigación Granja Zootecnia (CCIGZ) y en el laboratorio de Sanidad Animal de la facultad de zootecnia. Estas instalaciones están localizadas en la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ciudad de Tingo María, Provincia de Leoncio Prado, Región Huánuco; geográficamente está ubicada a 09° 08' 17" de latitud sur 75° 59' 52" de longitud oeste, con una altitud de 660 msnm, temperatura media anual de 24.85°C, precipitación pluvial media anual de 3200 mm y humedad relativa de 80%; ecológicamente considerada como bosque muy húmedo pre – Montano Subtropical (UNAS, 2014). La investigación se ejecutó a nivel *in vitro* del 30 de marzo al 18 de abril y en campo del 19 de abril al 15 de junio del 2015.

### 3.2. Tipo de investigación

Investigación experimental y consta de dos ensayos. El primer ensayo contempla los análisis in vitro de la capacidad antioxidante del EHHut frente al radical DPPH y polifenoles totales. El segundo ensayo comprende el suministro de EHHut en el agua de bebida por dos semanas consecutivas (14 a 28 días de edad), a pollos de carne criados bajo condiciones de alta densidad.

### 3.3. Animales experimentales

Se trabajó con 100 pollos machos, de la línea Cobb 500, procedentes de la región Lima, con un peso promedio de  $43.22 \pm 3.03$  gr; los que recibieron similares condiciones de manejo; las cuales fueron distribuidos en 4 tratamientos, con cinco repeticiones y cada repetición con cinco aves por unidad experimental.

### 3.4. Instalaciones y equipos

El galpón donde se realizó la fase experimental fueron: largo 19.60 m, ancho 7.76 m y altura 4 m; los pisos tuvieron una pendiente de 3% y el zócalo de 0.6 m, además tuvo una puerta de acceso, instalaciones eléctricas; vigas y postes de madera, el techo fue de calamina a dos aguas superpuestas con claraboya, las paredes fueron de malla metálica en el interior del galpón se instaló 20 jaulas experimentales, confeccionadas de madera y malla metálica a nivel de piso, cuyas dimensiones fueron calculadas en base a 12 aves por m<sup>2</sup>; cada jaula alojó 5 aves.

### 3.5. Alimento y alimentación

El alimento fue comercial, preparado para tres fases (inicio, crecimiento y acabado), siguiendo las recomendaciones nutricionales de la NRC 1994; fue libres de aditivos de uso preventivo a enfermedades (antibióticos, nitrofuranos). La alimentación y el suministro de agua fueron a libre discreción.

### 3.6. Sanidad

El galpón y las jaulas experimentales se desinfectaron con detergente, lejía y lanzallamas, posteriormente se pintaron con cal las paredes y el piso; se colocó un pediluvio con cal viva en la entrada al galpón. Se realizó la vacunación al séptimo día de edad (triple aviar) con refuerzo a los 28 días.

### 3.7. Materia prima en estudio

Se utilizó hojas de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) de plantas maduras con más de 8 años de establecidas; las cuales fueron cosechadas de la localidad de Pachacutec, ubicado a 15 km Nor este de Tingo María; las hojas se desecaron 48 horas bajo sombra y luego en estufa a 65°C por 2 horas para ser trituradas.

La obtención del EHHut se realizó con el procedimiento establecido por el CIPNA-UNAS, el mismo que consiste en colocar en un frasco 200 g de muestra (hoja seca triturada), se adicionó etanol al 70 % y se maceró durante 48 horas.

La sustancia filtrada que contiene el extracto, fue sometido a evaporación del etanol usando un rotavapor BUCHI R-200 y posteriormente se completó con el secado de la muestra en estufa a 65°C para finalmente ser rotulados y empacados hasta ser usados en el ensayo 1 y 2.

### 3.8. Variable independiente

Extracto hidroalcohólico de hoja de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) (EHHut).

### 3.9. Tratamientos

Ensayo 1: Para estimar el Coeficiente de Inhibición ( $IC_{50}$ ) frente al DPPH se trabajó con cuatro concentraciones de EHHut que se consideran como tratamientos: T1: 130  $\mu\text{g/mL}$ ; T2: 325  $\mu\text{g/mL}$ ; T3: 650  $\mu\text{g/mL}$ , T4: 812.5  $\mu\text{g/mL}$  y 1083.33  $\mu\text{g/mL}$ .

Ensayo 2: El suministro de las concentraciones de EHHut en el agua de bebida por dos semanas consecutivas pertenecen los tratamientos siguientes:

TI: Pollos con suministro de agua.

TII: Pollos con suministro de 80  $IC_{50}$  de EHHut en el agua de bebida.

TIII: Pollos con suministro de 160  $IC_{50}$  de EHHut en el agua de bebida.

TIV: Pollos con suministro de 240  $IC_{50}$  de EHHut en el agua de bebida.

### 3.10. Variables dependientes

Ensayo 1: Coeficiente de inhibición IC<sub>50</sub>.

Ensayo 2: Se tiene los siguientes:

#### **Perfiles hematológicos**

- Hemoglobina (g/dL)
- Hematocrito (%)

#### **Perfiles bioquímicos**

- Proteína total sérica (g/dL)
- Albumina sérica (g/dL)
- Actividad de transaminasa: Alanina-aminotransferasa ALT y Aspartatoaminotransferasa AST en UI/L.

#### **Parámetros productivos**

- Consumo de alimento (g)
- Ganancia de peso (g)
- Conversión alimenticia

### 3.11. Metodología

#### 3.11.1. Prueba del radical 1,1-Diphenyl-2-picrilhidrazil (DPPH)

Se usó el método descrito por BRAN- W ILLIAMS *et al.* (1994) modificado por SANDOVAL *et al.* (2000). Esta prueba se fundamenta en la reducción del radical DPPH mediante un donador de hidrógeno que procede de las diferentes concentraciones de extractos evaluados. Se pesó 0.04 g del

radical DPPH que fue disuelto en 100 mL de etanol al 96%, obteniendo una solución stock de 1mM, seguidamente, la mezcla obtenida fue agitada en un vortex por un tiempo de 30 minutos con la finalidad de obtener una solubilidad completa del DPPH. Posteriormente se preparó una solución intermedia (DPPH, 100  $\mu$ m), donde se añadió 1 mL de solución stock y 9 mL de etanol al 96%. Paralelamente a partir de la solución del EHHut se preparó soluciones de trabajo a concentraciones 1083.33; 812.5; 650; 325 y 130  $\mu$ g/mL; de cada una de estas soluciones se tomó 25  $\mu$ L para hacerlos reaccionar con 975  $\mu$ L de solución de DPPH (100  $\mu$ M).

#### 3.11.2. Evaluación de polifenoles totales

Se realizó mediante el método de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965), citado por SAUVIER y WATERHOUSE (2002), Se preparó soluciones stocks:  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20%  $\text{H}_2\text{O}$  dd (+), Acido gálico 100 mg/ml fue disuelto en  $\text{H}_2\text{O}$  destilada. Se agregó en tubos de vidrio, 1,58 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  dd, 20  $\mu$ L de patrón, y se agregó 100  $\mu$ L de Folin-Ciocalteu y 300  $\mu$ L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20% dejando incubar 2 horas.

Finalmente se registraron las absorbancias leídas por un espectrofotómetro (marca Genesys 6 UV/VIS) a 700 nm, para el cálculo de polifenoles totales expresado en miligramo de ácido gálico equivalente (AGE) por 100 g muestra, utilizándose la curva estándar de ácido gálico equivalente en el rango de: 50, 100, 200, 400,600, 800, 1000  $\mu$ g/ml.

### 3.11.3. Perfiles bioquímicos y constantes hematológicas

Las muestras de sangre con anticoagulante fueron para los exámenes de hematocrito y hemoglobina mientras las muestras sin anticoagulante para los exámenes de perfil bioquímico. La toma de muestras se realizó a los 14, 28 y 42 días de edad en horas de la mañana.

La extracción de sangre fue de vena alar, para obtener muestras de sangre con anticoagulante se utilizó tubos de ensayo con anticoagulante EDTA, en el caso de las muestras de suero sanguíneo después de la coagulación se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos para la separación del mismo y luego se conservó a 20°C todas las muestras para ser procesadas en conjunto.

Para la determinación de Proteína total y Albumina sérica se realizó con el método establecido por (WIENER LAB, 2000) mientras para las variables Transaminasas aspartato aminotransferasa (AST o GOT) y Alanina aminotransferasa (ALT o TGP) se determinó mediante metodología establecida por (VALTEK LAB, 2000).

**Hemoglobina.** - Se preparó el reactivo de trabajo, 1:10 con agua destilada (blanco y muestra); al tubo muestra se le añadió 0.01 mL de sangre, luego se adiciono 2.5 mL de reactivo, ambos se mezclaron e incubaron por tres minutos a temperatura ambiente, luego se procedió a leer las absorbancias llevando a cero el equipo con el blanco reactivo.

Luego se procedieron a calcular con las fórmulas siguientes:

Factor = 18 / Absorbancia Standard

Hemoglobina (g/dl) = Factor x absorbancia desconocido

**Hematocrito.** - Con la sangre extraída se procedió a llenar los tubos capilares de hematocrito hasta llegar a tres cuartos del mismo, luego se procedió a cerrar el extremo posterior con masilla para ser centrifugados a 10,000 rpm por 3 minutos para realizar la lectura.

#### 3.11.4. Parámetros productivos

**Consumo de alimento diario.** - El consumo de alimento diario se determinó por diferencia entre la cantidad de alimento ofrecido al inicio de las fases y la cantidad no consumida de la misma, dividiendo entre el número de días de la fase con el número de aves por jaula.

**Ganancia diaria de peso.** - Se determinó la ganancia de peso promedio en g a los 42 días de edad, mediante peso de todos los pollos de cada repetición por tratamiento y restando el pesaje de los pollos al momento de la recepción dividido entre el número de días que duró la evaluación.

**Conversión alimenticia.** - La conversión alimenticia se determinó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Conversión alimenticia} = \frac{\text{Alimento consumido (kg)}}{\text{Ganancia de Peso (kg)}}$$

## 3.12. Croquis de distribución de tratamientos

TIIR2	TIR4	TIIR4	TIIR5	TIR3
TIIR2	TIIR1	TIIR4	TIVR4	TIVR3
TIIR1	TIIR3	TIR1	TIVR1	TIIR2
TIR5	TIR2	TIIR5	TIVR5	TIVR2

## 3.13. Diseño y análisis estadístico

Para determinar el coeficiente de inhibición ( $IC_{50}$ ) y polifenoles totales se utilizó la estadística descriptiva con el promedio de tres repeticiones (UREÑA Y D' ARRIGO, 1999; VELIZ, 1993).

Para las variables de indicadores hematológicos y bioquímicos se realizó bajo un diseño completamente al azar, con arreglo factorial de 4 x 3 (4 dosis de EHHut x por 3 tiempos de toma de muestra de sangre), con 4 tratamientos y 5 repeticiones, siendo la unidad experimental constituida por 5 aves. Los análisis de variancia fueron realizados con el programa estadístico infostat (INFOSTAT, 2000) y los promedios fueron comparados por el test de Tuckey (5%), cuyo modelo aditivo lineal:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + E_j + (TE)_{ij} + e_{ijk}$$

Donde:

- $Y_{ijk}$  = i-ésimo tratatamiento del j-ésimo tiempo del k-ésimo error
- $\mu$  = Media general o media de población
- $T_i$  = Efecto del i-ésimo nivel de inclusión de EEHut (i=0 IC<sub>50</sub>, 80 IC<sub>50</sub>, 160 IC<sub>50</sub>, 240 IC<sub>50</sub>)
- $E_j$  = Efecto de la j-ésima edad (i=14,28 y 42 días)
- $(TE)_{ij}$  = Efecto de la interacción del i-ésimo nivel y de la j-ésima edad.
- $e_{ijk}$  = Error experimental

Las variables de parámetros productivos fueron evaluadas mediante un diseño completamente al azar (DCA) y las diferencias entre medias fueron sometidas al test de Tukey a 5%, cuyo modelo aditivo lineal es el siguiente:

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

Donde:

- $Y_{ij}$  = j-ésima observación del i-ésimo tratamiento
- $\mu$  = Media poblacional
- $E_i$  = Efecto del i-ésimo nivel de inclusión de EEHUt (i= 0 IC<sub>50</sub>, 80 IC<sub>50</sub>, 160 IC<sub>50</sub>, 240 IC<sub>50</sub>)
- $e_{ij}$  = Error Experimental

#### IV. RESULTADOS

4.1. Contenido de polifenoles totales y el coeficiente de inhibición IC<sub>50</sub> µg/mL del EHHut frente al 1,1 diphenyl-2-picrilhydrazyl (DPPH) de la hoja de la uña de gato (*Uncaria tomentosa*)

4.1.1. Contenido de polifenoles totales del extracto hidroalcohólico de la hoja de uña de gato (*Uncaria tomentosa*)

En el Cuadro 3, se muestra la media y la desviación estándar de polifenoles totales obtenidos de muestra de extracto hidroalcohólico de hoja de uña de gato (*Uncaria t.*) mediante el método Folin-Ciocalteu con tres repeticiones se obtuvo el valor de 54.83 ± 0.31g de AGE/100 g de muestra seca.

Cuadro 3. Contenido del total de polifenoles en extracto hidroalcohólico de hojas de uña de gato (*Uncaria tomentosa*)

Polifenoles (g de AGE/100 g de muestra seca)				
	R1	R2	R3	Media ± error estándar
EHHut	55.1	54.9	54.5	54.83 ± 0.31

R (repeticiones)

EHHut (Extracto hidroalcohólico de hoja de *Uncaria tomentosa*).

AGE: Acido gálico equivalente

4.1.2. Capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la hoja de la hoja de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) sobre el radical libre 1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl (DPPH)

El Cuadro 4, muestra el IC<sub>50</sub> de concentración inhibitoria del extracto que logra atrapar el 50% de los radicales libres DPPH\* de la solución preparada a (100 uM) siendo el resultado de 16.78 ± 1.47 mg/mL para la hoja de uña de gato (*Uncaria tomentosa*).

Cuadro 4. Capacidad antioxidante de extracto hidroalcohólico de la uña de gato (*Uncaria tomentosa*) promedios ± error estándar de IC<sub>50</sub> ug/mL de EHHut

IC <sub>50</sub> ug/mL				Media ± E.E
R1	R2	R3	R4	
14.75	16.66	17.74	17.96	16.78 ± 1.47

R (repetición)

EHHut (Extracto hidroalcohólico de hoja de (*Uncaria tomentosa*).

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

4.2. Contenido de la hemoglobina, hematocrito, proteína y albúmina total e índice de transaminasas del aspartato (AST) y de la alanina (ALT) en pollos de carne, que recibieron el EHHut a diferentes niveles y evaluadas a la edad de 15, 28 y 42 días

Los datos obtenidos para las constantes hematológicas y perfiles sanguíneos no se hallaron diferencias significativas entre los niveles del EHHut de la uña de gato (*Uncaria tomentosa*) Cuadro 5. Para el nivel de la

hemoglobina g/dL (HB) los datos fueron de  $(9.32 \pm 0.37$  a  $9.68 \pm 0.27$  g/dL); el hematocrito (HC) de  $(21.67 \pm 0.45$  a  $23.54 \pm 1.07$  %); para la proteína total sérica (PTS)  $(2.64 \pm 0.27$  a  $2.92 \pm 0.46$  g/dL); albúmina (ALB) los datos oscilan de  $(1.34 \pm 0.05$  a  $1.50 \pm 0.14$  g/dL); y para el aspartato (AST) de  $(82.76 \pm 13.18$  a  $113.07 \pm 14.55$  UI/L); y por último los datos para la alanina fue de  $(10.49 \pm 1.65$  a  $16.21 \pm 12.10$  UI/L).

Pero al ser evaluados en las edades de los pollos de 14, 28 y 42 días; sí se encontraron diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) para todos los perfiles sanguíneos y para las constantes hematológicas a excepción del hematocrito; al realizar los análisis con respecto a las edades, debemos indicar que, a los 28 días de edad, con mejores respuestas para la HB, y ALT; mientras que el nivel para el perfil sanguíneo de albúmina y del aspartato resultaron mejor a los 42 días de edad de los pollos.

Al evaluar en la interacción del EHHut x edad en el perfil sanguíneo de la albúmina sérica se encuentran valores de  $p = 0.0328$  que indica que hay diferencia estadística ( $p < 0.05$  %) mas no para el resto de las constantes, ni para los demás perfiles sanguíneos.

Cuadro 5. Perfiles bioquímicos sanguíneos y constantes hematológicas evaluadas a los 14, 28 y 42 días; por efecto de diferentes niveles de EHHut (media  $\pm$  E.E)

Factores	HB g/dL	HC %	PT g/dL	ALB g/dL	AST UI/L	ALT U/L
<b>NIVELES DE EHHut</b>						
T1 (0 IC <sub>50</sub> )	9.37 $\pm$ 0.41	23.54 $\pm$ 1.07	2.92 $\pm$ 0.46	1.46 $\pm$ 0.10	88.43 $\pm$ 13.48	12.56 $\pm$ 1.68
T2 (80 IC <sub>50</sub> )	9.49 $\pm$ 0.23	22.38 $\pm$ 0.84	2.64 $\pm$ 0.27	1.34 $\pm$ 0.05	113.07 $\pm$ 14.55	12.10 $\pm$ 1.96
T3 (160 IC <sub>50</sub> )	9.68 $\pm$ 0.27	21.67 $\pm$ 0.45	2.71 $\pm$ 0.39	1.50 $\pm$ 0.14	82.76 $\pm$ 13.18	16.21 $\pm$ 1.66
T4 (240 IC <sub>50</sub> )	9.32 $\pm$ 0.37	23.00 $\pm$ 0.35	2.66 $\pm$ 0.31	1.36 $\pm$ 0.03	99.01 $\pm$ 15.81	10.49 $\pm$ 1.65
<b>Edad en días</b>						
14	9.15 $\pm$ 0.26 <sup>b</sup>	23.61 $\pm$ 0.44	2.53 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>	1.24 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	49.02 $\pm$ 8.28 <sup>c</sup>	9.19 $\pm$ 1.58 <sup>b</sup>
28	10.35 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>	21.00 $\pm$ 0.44	2.71 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>	1.37 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	87.11 $\pm$ 6.53 <sup>b</sup>	16.32 $\pm$ 1.23 <sup>a</sup>
42	9.02 $\pm$ 0.24 <sup>b</sup>	21.95 $\pm$ 0.44	2.97 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup>	1.65 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	146.22 $\pm$ 9.29 <sup>a</sup>	12.94 $\pm$ 1.36 <sup>a</sup>
EEHUt X Edad <sup>1</sup>	p= 0.3952	p= 0.1096	p= 0.4573	p= 0.0328	p= 0.7914	p= 0.8113
C.V. <sup>2</sup> (%)	p= 11.37	p= 10.94	p= 11.74	P= 20.09	p= 36.38	p= 47.26

Letras diferentes dentro de la misma columna, indican diferencia estadística (Tukey 5%) EEHUt:

<sup>1</sup> Interacción de dos factores (Extracto hidroalcohólico de hoja de *Uncaria tomentosa* x Edad de las aves)

<sup>2</sup> Coeficiente de variación

HB g/dL: Hemoglobina; HC %: Hematocrito; PT g/dL: Proteína total; ALB g/dL: Albumina sérica; AST UI/L: Aspartato aminotrasferasa  
ALT UI/L: Alanina aminotrasferasa

#### 4.2.1. Desdoblamiento de dos factores: niveles de EHHut y edad (días)

En el Cuadro 6 y Figura 1, se muestra el desdoblamiento de dos factores: niveles de EHHut dentro de cada edad de los pollos, donde se puede apreciar que para la edad de 14 y 28 días; los niveles séricos de albumina no muestran diferencia significativa ( $p > 0.05$ ), pero para la edad de 42 días, existe diferencia estadística significativa entre los niveles de EHHut, resultando T3 (160 IC<sub>50</sub>) el que supera a los otros niveles.

Cuadro 6. Concentración de albumina sérica (g/dL) de acuerdo a los niveles de EHHut dentro de cada edad de los pollos

Edad (días)	p-valor	Niveles de EHHut (IC <sub>50</sub> )	Albumina (g/dL)
14	0.573	0	1.23 ± 0.08
		80	1.22 ± 0.08
		160	1.18 ± 0.08
		240	1.33 ± 0.05
28	0.436	0	1.57 ± 0.26
		80	1.34 ± 0.08
		160	1.27 ± 0.07
		240	1.28 ± 0.04
42	0.052	0	1.58 ± 0.09
		80	1.50 ± 0.03
		160	2.05 ± 0.28
		240	1.45 ± 0.03

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas, según prueba de Tukey (5% de nivel de significancia)

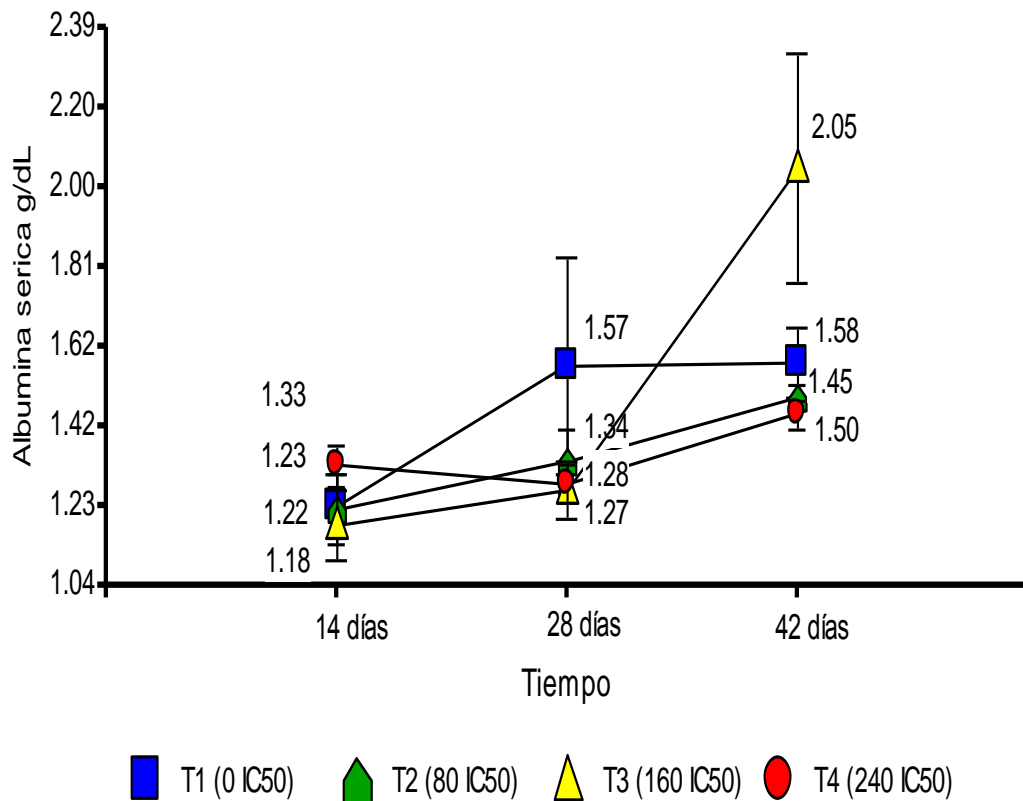


Figura 1. Concentración de albúmina (g/dL) de acuerdo a la edad (días) dentro de cada nivel de EHHut (Media  $\pm$  E.E)

En el Cuadro 7 y Figura 2, se observan el desdoblamiento de dos factores: edad de los pollos (días) dentro de cada nivel de EHHut, donde se observa que en el T3 (160 IC<sub>50</sub>) y T4 (240 IC<sub>50</sub>) a los 42 días se eleva la concentración de albumina sérica en la sangre ( $P < 0.05$ ).

Cuadro 7. Concentración de albúmina sérica (g/dL) de acuerdo a la edad (días) dentro de cada nivel de EHHut (media  $\pm$  error estándar)

Niveles de EHHut	p-valor	Edad (días)	Albumina sérica (g/dL)
T1 (0 IC <sub>50</sub> )	0.276	14	1.23 $\pm$ 0.08
		28	1.57 $\pm$ 0.26
		42	1.58 $\pm$ 0.09
T2 (80 IC <sub>50</sub> )	0.073	14	1.22 $\pm$ 0.08
		28	1.34 $\pm$ 0.08
		42	1.50 $\pm$ 0.03
T3 (160 IC <sub>50</sub> )	0.007	14	1.18 $\pm$ 0.08
		28	1.27 $\pm$ 0.07
		42	2.05 $\pm$ 0.28
T4 (240 IC <sub>50</sub> )	0.051	14	1.33 $\pm$ 0.05
		28	1.28 $\pm$ 0.04
		42	1.45 $\pm$ 0.03

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas, según prueba de Tukey (5% de nivel de significancia)

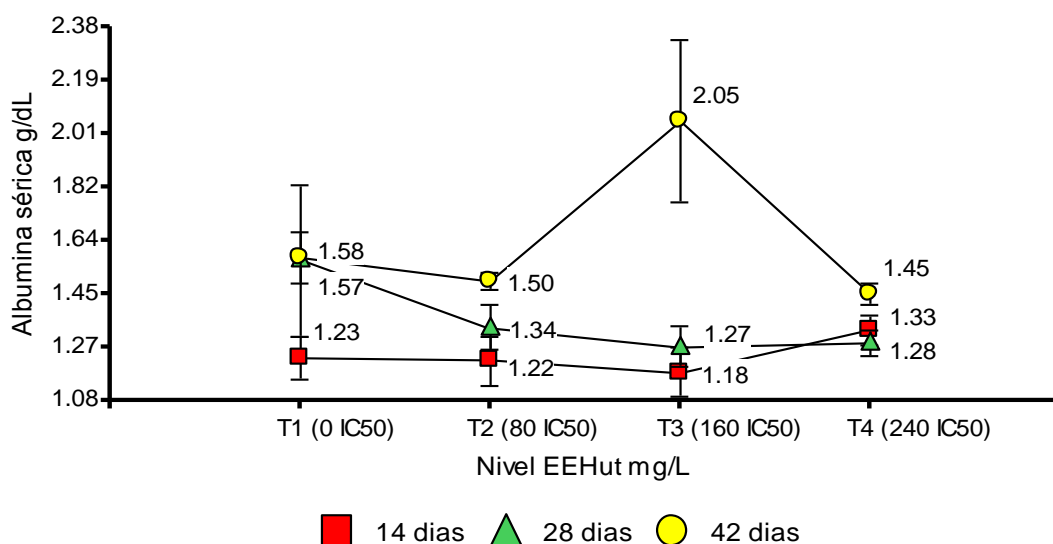


Figura 2. Concentración de albúmina (g/dL) de acuerdo a nivel de EHHut dentro de la edad (días) (Media  $\pm$  error estándar)

4.3. Efecto del extracto hidroalcohólico de la hoja de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) sobre los parámetros productivos de pollos de carne evaluadas a los 42 días de edad

En el Cuadro 8, se muestra los resultados obtenidos de consumo diario de alimento (CDA), ganancia diaria de peso (GDP) y conversión alimenticia (CA) donde se observa que los niveles de EHHut no tuvieron efecto para las variables en estudio ( $p > 0.05$ ).

Cuadro 8. Promedios  $\pm$  error estándar del CDA, GDP (g) y CA de pollos suplementados con diferentes dosis de EHHut

Tratamientos	CDA (g)	GDP (g)	CA
0 IC <sub>50</sub>	111.92 $\pm$ 2.09	61.72 $\pm$ 1.06	1.81 $\pm$ 0.04
80 IC <sub>50</sub>	107.35 $\pm$ 3.48	58.84 $\pm$ 1.03	1.82 $\pm$ 0.03
160 IC <sub>50</sub>	106.75 $\pm$ 1.29	57.88 $\pm$ 1.45	1.85 $\pm$ 0.03
240 IC <sub>50</sub>	112.42 $\pm$ 4.67	56.62 $\pm$ 1.39	2.00 $\pm$ 0.13
p-valor	0.469	0.0606	0.2563
C.V. (%)	6.44	4.75	8.38

CDA: consumo diario de alimento  
 GDP: ganancia diaria de peso  
 CA: conversión alimenticia

## V. DISCUSIÓN

5.1. Contenido de polifenoles totales y el coeficiente de inhibición IC50  $\mu\text{g/mL}$  del EHHut frente al 1,1 diphenyl-2-picrilhydrazyl (DPPH) de la hoja de la uña de gato (*Uncaria tomentosa*)

5.1.1. Contenido de polifenoles de la hoja de la uña de gato (*Uncaria tomentosa*)

La cantidad de polifenoles encontrados en el extracto hidroalcohólico de uña de gato es  $54.83 \pm 0.31$  g de AGE/100 g de muestra seca, este extracto tiene más del 50% de polifenoles totales, posiblemente se debe a la solubilidad de los polifenoles en compuestos orgánicos como el alcohol, esto se debe posiblemente a la afinidad química que tienen los polifenoles con los solventes para GEANKUPLIS, (1982); SINGH y HELDMAN, (1998) y TROMELIN, (2003).

Las diferencias encontradas de polifenoles, en los extractos comprados al resultado de ESTELO (2003), en dos especies de “chanca piedra”, obtuvo para *Phyllanthus urinaria* L. de 7,32 mg AGE/g y *P. niruri* L. de 3.010 mg/AGE/g muestra seca; probablemente está influenciada por las propiedades fisicoquímicas, unos están relacionadas con su potencial genético, otros con las características del suelo, las condiciones meteorológicas y la técnica agronómica como refiere (KEITH, 1994).

5.1.2. Capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) sobre el radical libre 1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl (DPPH).

Los resultados obtenidos de la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de uña de gato ( $IC_{50}$ ) fue de  $16.78 \pm 1.47$ g/mL (Cuadro 4), demuestran que es un antioxidante eficaz, que se sustenta en la capacidad inhibitoria del radical libre 1,1-diphenyl-2-picrilhidrazil (DPPH); esto se debe a que la uña de gato tiene una potente actividad como antioxidantes eliminando radicales libres, como afirma (RIZZI y COLS, 1993) y (SANDOVAL *et al.* 2000) indica que la uña de gato es un potente oxidante celular implicado como mediador en diversos procesos inflamatorios. Además, neutraliza el efecto citotóxico de radicales libre como 1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl (DPPH) para corteza de *Uncaria tomentosa*.

Además, si bien éste resultado es inferior a lo reportado por GARCÍA (2003) que halló un coeficiente de inhibición del 50 % de radicales libres ( $IC_{50}$ ) de hojas frescas de la *Uncaria t.* y *Uncaria guianensis* fue 47.741 y 42.085  $\mu$ g/ml respectivamente; puede deberse a una serie de factores o a los métodos aplicados, especies hasta tiempo de almacenamiento como refiere (BRAND *et al.* 1995) y MELCHOR (2002) que halló en su trabajo de actividad antioxidante de *Camellia sinesis* (L.) Kuntze. “te verde” halló como coeficiente de inhibición del 50 % de radicales libres ( $IC_{50}$ ) 47  $\mu$ g/ml.

5.2. Contenido de las constantes hematológicas y perfiles sanguíneos en pollos de carne, que recibieron el EHHut de la hoja de uña de gato a diferentes niveles y evaluadas a la edad de 15, 28 y 42 días.

**Constantes hematológicas.-** Los niveles del extracto hidroalcohólico de hoja de la uña de gato (*Uncaria tomentosa*) fueron estadísticamente iguales ( $p>0,05$ ); tanto para la hemoglobina como para el hematocrito, además se encuentra dentro de los parámetros reportado por (UNIVERSIDAD DE ZARAGOSA, 2011) y datos encontrados por (REATEGUI, 2012); además podríamos a que el trabajo está basado a muestras pequeñas que obviamente pueden verse afectados el nivel de significación así como afirma (BOWES *et al.*, 1989).

Al evaluar niveles de las constantes hematológicas, durante y después de la aplicación de los niveles del extracto hidroalcohólico de la uña de gato (*Uncaria tomentosa*); se puede apreciar que se encuentra diferencias estadísticas ( $p<0.05$ ) para el contenido de hemoglobina (g/dL); a excepción del hematocrito (%). Igual comportamiento hubo cuando se evaluó su efecto del EHHut en las edades de 14, 28 y 42 días, que no se halló diferencia estadística ( $p>0.05$ ) y se tuvo como resultado un promedio de 22.19 % de hematocrito, que indudablemente es un factor importante que nos sirve como un indicador del estado de la salud del animal (GALVEZ *et al.* 2009).

**Perfiles bioquímicos sanguíneos.** - Los resultados para la albúmina y aspartato fueron mejores al término del experimento, o sea a los 42 días; hay que tener presente que algunas constantes pueden estar influenciados por la edad, el sexo y la geografía (MATEO, 2006 y BOWES *et al.* 1989), pues los valores bajos de albúmina son normales en animales jóvenes; siendo más altos en la fase adulta, datos que concuerdan a lo mencionado por (WILLARD *et al.* 2001).

Al evaluar los niveles hallados del aspartato y alanina aminotransferasa que bajo el efecto de los niveles de EHHut de los pollos en estudio; probablemente este aumento en la sangre a mayor edad pueda deberse a lesiones a nivel del hígado, riñones, y músculos como indica (LIMDI e HYDE, 2003) pero como no se realizó estas evaluaciones presumiblemente esta elevación del nivel del aspartato y de la alanina puede deberse a otros factores principalmente la edad, o por la existencia de componentes como alcaloides secundarios que se encuentran la principalmente en las raíces, cortezas, hojas y semillas de las plantas, los cuales juegan un rol gravitante en la acción fitoterapéutica reconocida de muchas plantas medicinales como refiere (OBREGON, 1997 y KEPLINGER, 1989).

#### 5.2.1. Desdoblamiento de dos factores: Niveles de EHHut y edad (días)

Al evaluar la interacción del EHHut por la edad de los pollos y sus efectos, se halla el p-valor (0.0328) significativo para el perfil sanguíneo, por lo mismo el Cuadro 7 y Figura 1, muestra el desdoblamiento de dos

factores: niveles de extracto de la hoja de uña de gato EHHut, dentro de las edades de los pollos que, para los pollos de 42 días de edad, sí existe diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) siendo el T3 (160 IC<sub>50</sub>) resultado ( $2.05 \pm 0.28$ ) que supera a los demás tratamientos con los otros niveles; este resultado puede deberse al factor edad como lo demuestra el Cuadro 8 y Figura 2, al analizar la edad dentro de los niveles de EHHut, se observa que el T3 (160 IC<sub>50</sub>) y T4 (240 IC<sub>50</sub>) a los 42 días se encuentra mayor concentración de albumina sérica en la sangre ( $P < 0.05$ ), corroborando estos resultados a lo dicho por (WILLARD *et al.* 2001), animales jóvenes niveles bajos de albúmina y aumentan gradualmente hasta la etapa adulta.

### 5.3. Efecto del extracto hidroalcohólico de la hoja de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) sobre los parámetros productivos de pollos de carne evaluadas a los 42 días de edad

Los parámetros productivos a lo que se arribó el presente trabajo Cuadro 5, adicionando en el agua de bebida a diferentes niveles del extracto hidroalcohólico de la hoja de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) en la fase de crecimiento, y evaluados a los 42 días de edad; no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ); pero sí pequeñas diferencias numéricas, tal es así que la variable; consumo de alimento diario (CDA); el T4 (240 IC<sub>50</sub>) fue mejor con ( $112.42 \pm 4.67$ g), en relación al T3 (160 IC<sub>50</sub>) con ( $106.75 \pm 1.29$  g).

Mientras que para la ganancia de peso diario (GDP) la mejor ganancia de peso lo tuvo el T1 (testigo) y por tanto la mejor conversión alimenticia (CA); estos datos nos indica que hubo un consumo de nutrientes no

aprovechados en el trayecto digestivo por la actividad astringente de alguno de sus componentes como refiere HERNANDEZ (1988), sin traducirse en una eficiente ganancia de peso. Sin embargo nuestros resultados se encuentran por debajo de los parámetros indicado por COBB-VANTRES (2012) que en pollos machos de la línea Cobb 500 a los 42 días de edad es de 113 g de CDA, 66 g de GDP y 1.68 de CA y datos similares a lo hallado por CAMASCA (2014) y dentro de los parámetros normales los encontrados por SANDOVAL (2012), al evaluar capacidad antioxidante del extracto atomizado de uña de gato (*Uncaria tomentosa*.) que obtuvo ganancias de peso totales 2.77 kg por pollo; consumo de alimento de 443 kg y conversión alimenticia de 1.63.

## VI. CONCLUSIONES

- La inclusión del extracto hidroalcohólico de la hoja de uña de gato en el agua de bebida en pollos machos en la fase de crecimiento de la línea Cobb 500, no afectó los parámetros productivos y sanguíneos, por tanto, se rechaza la hipótesis planteada.
- La cantidad de polifenoles encontrados en el extracto hidroalcohólico de uña de gato es  $54.83 \pm 0.31$  g de AGE/100 g de muestra seca. Así mismo el coeficiente de inhibición ( $IC_{50}$ ) es de  $16.78 \pm 1.47$  ug/mL.
- Los niveles de extracto hidroalcohólico de hojas de uña de gato no mostraron efectos sobre perfil bioquímico y constantes hematológicas de los pollos, pero existió influencia de las diferentes edades con respecto a hemoglobina, proteína total, albumina sérica, aspartato aminotransferas y alanina aminotransferasa a estas variaciones se suma la influencia de la interacción de (EHHut y edad), para la variable albumina sérica.
- Los diferentes niveles de extracto hidroalcohólico de hojas de uña de gato no tuvieron influencia sobre los parámetros productivos mostrándose comportamiento estadístico iguales para ganancia de peso diario, conversión alimenticia y consumo diaria de alimento.

## VII. RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones con extracto acuoso de hojas de uña de gato bajo procesos de liofilización y atomizado, incorporando en la ración de animales domésticos.
- Realizar más investigaciones con plantas medicinales Fito farmacológicas para incorporar en la ración de los animales domésticos.
- Evaluar la toxicidad que causa el consumo del extracto hidroalcohólico de (*Uncaria tomentosa*) en diferentes especies domésticas.

## VIII. ABSTRACT

The current research work took place in two trials. The first trial was in vitro and took place in the Natural Products of the Amazon Research Center (CIPNA – acronym in Spanish) and the second trial took place in the experimental bird unit of the Zoology Farm's Center for Capacitation and Research (CCIGZ – acronym in Spanish) and in the laboratory of animal health in the Zoology Faculty at the National Agrarian University of the Jungle in the city of Tingo Maria, Leoncio Prado province, Huánuco region, Peru. The objective was to evaluate the antioxidant capacity of Cat's Claw leaves (*Uncaria tomentosa*) (EHHut) and its effect on the hematologic constants, biochemical profile and the rest of the productive parameters in chickens which were evaluated at forty two days of age. In order to do so, one hundred Cobb 500 chickens with an average weight of 43.22 g were used. They were divided into four treatments with the use of EHHut in the drinking water at levels of 0, 80, 160 and 240 IC50 in treatments 1, 2, 3 and 4 respectively, from fourteen to twenty eight days of age. It was determined that the total number of polyphenols (54.83g/100 gr of dry material) and the coefficient inhibitor (16.78 IC50 µg/ml) at the evaluated parameters had no statistical difference ( $p>0.05$ ) and had the following values: hemoglobin (9.46g/dL) and hematocrit (22.65%); in the same manner, the average total protein was (2.73 g/dL), the albumin (1.42 g/dL), the aspartate (95.82 UI/L) and the alanine (12.84 UI/L). With respect to the ages of fourteen, twenty eight and forty two days, a statistical difference was achieved in the hemoglobin and the biochemical profiles. In conclusion, the EHHut added to the drinking water at different levels had no effect on the hematologic constants, blood profiles or productive parameters.

Key words: Hematological constants, blood profiles, hydroalcoholic, polyphenols Cat's claw.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACTUALIDAD AVIPECUARIA (2015) Antioxidantes y su importancia en la producción avícola. Lima-Perú.v.7, n.24, p.1-5.

AMES, B., SHIGENAGA, M., HAGEN, T. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging.Proc Natl Acad Sci. v.90, p.7915-7922.

ANGULO, P., VARGAS, L., RODRIGUEZ, A., OSCANOVA, J. 2005. *Uncaria tomentosa* willd DC uña de gato aumenta la producción de óxido nítrico en ratones con endotoxemia por lipopolisacaridos. Rev. Cien.Vet. Lima, Perú. v.2, n.21, Pp.3-5.

AQUINO, R., PIZZA, C., STEIN, M. 1989. Plants Metabolites, Structure and in vitro antiviral activity of quinovic acid glycosides from *Uncaria tomentosa* and *Guertarda platypoda*. J. of Natural Products. v.2, n.52, Pp.9-13.

BENDICH, A. 1993. Physiological role of antioxidants in the immune system. Symposium: Antioxidants, immune response and animal function. J. Dairy Sci. p.2789-2794.

BOWES, V., JULIAN, R., STIRTZINGER, T. 1989. Comparison of serum biochemical profiles of male broilers with female broilers and white leghorn chickens Canadian Journal Veterinary Reserch.v.53, p.7-11.

- BRAND W., BERSET, C., CUVELIER, M. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *J. Agric. Food CHEM.* 1234-1238 p.
- CALLO, N., HINOSTROZA, R., LOCK DE UGAZ, O. Constitues of *uncaria guianensis* and *Uncaria tomentosa*. *Bol Soc Quim Perú* 1997; 63: 24.
- CAMASCA, K. 2014. Evaluación de tres formas físicas de presentación de raciones para pollos machos (Cobb 500) procesadas en la planta de alimentos balanceados de la Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tesis – Ing. Zootecnista. Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María. Huánuco-Perú. 52 p.
- CCAHUANA, A., KOGA-ITO, Y CARDOSO, A., OLAVO, J. 2007. La actividad antimicrobiana de *Uncaria tomentosa* contra patógenos humanos orales. *Rev. Scielo.* v.2, n.21, p.3-5.
- COBB VANTRES.2012. Suplemento informativo de rendimiento y nutrición de pollo de engorde. [En línea]: COBB-VANTRES, ([http://www.cobb-vantress.com/contactus/brochures/Cobb-BPN\\_SupplementSpanish.pdf](http://www.cobb-vantress.com/contactus/brochures/Cobb-BPN_SupplementSpanish.pdf), documentos, 3 de oct.2015).
- EROSKICONSUMER (2009). Efectos beneficiosos de los taninos. [En línea]: CONSUMER, (<http://www.consumer.es/efectos+beneficiosos+de+los+taninos/2Fcuriosidades.php> ; documentos,01 feb.2015).
- ESTELO, C. 2003. Capacidad antioxidante y polifenoles totales en dos especies de chanca piedra (*Phyllanthus niruri* L y *Phyllanthus urinaria* L).

Tesis Ing. en Recursos Naturales Renovables. Tingo María, Perú, Universidad Nacional Agraria de la selva. 63p.

DUKES, H. Y SWENSON, M. 1981. Fisiología de los animales domésticos. 1 ed. Ciudad de México D.F., FOJET Universal S.A. 1054p.

FERATO. 2015. Albúmina. [En línea] FERATO, (<http://www.ferato.com/wiki/index.php/Alb%C3%BAmina>), documentos virtual. 15 de set. 2015.

FRANKEL N, BRUCE G, HUANG S, SATUÉ M, REIN, D, HEINONEN M, 1998. Effect of Protein on the antioxidant Activity of Phenolic Compounds in a Lecithin-Liposome Oxidation System, Agric, California, Estados Unidos.v, 46, n. 27, p.9-14.

GALVEZ, C., RAMIREZ, G., OSORIO, J. 2009. El laboratorio clínico en hematología de aves exóticas. Rev.Biosalud. v.8, p.178-188.

GEANKOPLIS, C. 1982. Proceso de transporte y operaciones unitarias. Químico Continental. 757 p.

GIRALDO, L., HERNANDEZ, M., ANGULO, P., FUERTES, 2003. Actividad antinitrosativa y antiinflamatoria de los flavonoides de las hojas de *Uncaria tomentosa* Willd. D.C. (Uña de gato). Revista. Sociedad. Química de Perú. v.4, n.69, p.229-242.

GONZALES, M; BETANCOURT, M; ORTIZ, 2000. Daño oxidativo y antioxidante bioquímica. Revista. Sociedad. Química de Perú. v.1, p.3-9.

- GORRITI, A., ARROYO, J., QUISPE, F., CISNEROS, B., CONDORHUAMAN M., ALMORA, Y., CHUMPITAZ, V. 2010. Toxicidad oral a 60 días del aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y linaza (*Linum usitatissimum* L) y determinación de la dosis letal 50 en roedores. [En línea]: SCIELO ([www.scielo.org.pe/pdf/rins/v27n3/a07v27n3.pdf](http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v27n3/a07v27n3.pdf), documentos, 23 mayo. 2015).
- HOMEOVITA. 2008. Uña de gato. [En línea]: ([www.homeovita.com.uy/fichas/unadegato.pdf](http://www.homeovita.com.uy/fichas/unadegato.pdf), documento, 21 de enero, 2015).
- INFOSTAT PROGRAMA ESTADISTICO, 2014. [En línea] (<http://www.infostat.com.ar/>, programa, 21 de enero, 2015).
- JINEZ, T., CORTÉS, C., ÁVILA, E., CASAUBONT, T., SALCEDO, R. 1998. Efecto de niveles elevados de semilla de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en dietas para pollos sobre el comportamiento productivo y funcionamiento hepático. [En línea]: MEDIGRAPHIC, (<http://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm981f.pdf> documentos, 30 octubre, 2015).
- KANEKO, J.; HARVEY, J., BRUSS, M. 1997. Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 5ta Ed. San Diego, Academic Press, 932p.
- KEPLINGER, K. 1989. Oxindole Alkaloids Having the Properties Stimulating The Immunologic System. J. Of Pharmacology.u.s.patent.4.USA, 56p.
- KLYMENKO, M., BAZICA, M. 1998. Informe sobre el resultado del uso del

extracto liofilizado de *Uncaria tomentosa*. centro de investigación en medicina de reacción de la academia de ciencias médicas de ucrania.

Boletín INMETRA.LIMA, Perú.18 p.

LABORATORIO VALTEK, 2000. Transaminasas. [En línea] (<http://www2.valtek.cl/cgi-bin/procesa.pl?plantilla=/v2/distribuidores.html>), manual, 30 octubre, 2015).

LABORATORIO WIENER, 2000. Transaminasas. [En línea] (<http://www.wienerlab.com.ar/ES/SitePages/HomePortal.aspx?pais=Per%C3%BA>), manual, 30 octubre, 2015).

LAUS, G., BROSSNER, D., KEPLINGER, K. 1997. Separation of stereoisomeric oxindole alkaloids from *Uncaria tomentosa*. 124p.

LEMAIRE, I., ASSINEWWE, V., CANO, P., AWING, D., ARNASON, J. 1999 stimulation of interleukin-1 and -6 production in alveolar macrophages by the neotropical liana, *Uncaria tomentosa*. *J. ethopharmacol.* 64:109-115.

LIMDI, J., HYDE, G. 2003. Evaluación de las pruebas de función hepática anormales. *Rev. postgraduate medical journal.* v.79, n.932, p.307-312.

MARTINEZ, V., PERIAGO, M. J., ROS, G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos latinoamericanos de nutrición ALAN*, v.1, n.50, p.5-18.

- MATEO, R. 2006. El valor de hematocrito. [En línea]: MAILXMAIL (<http://www.mailxmail.com/curso-analisis-clinicos-rutina/valor-hematocrito>, documentos, 27 abr.2015).
- MELCHOR, V. 2002. Procesamiento tecnológico para la obtención de té vede (*Camelia sinesis*): Determinación de la actividad antioxidante y cuantificación de flavonoles por HPLC. Tesis Ing. Industrias alimentarias. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva, 66p.
- MURILLO, E., LOMBO, O., TIQUE, M., MÉNDEZ, M.2007. Potencial antioxidante de *Bauhinia kalbreyeri harms.* (FABACEAE). Información Tecnológica, 18 (6): 65-74 p.
- OBREGON, I.1997.uña de gato, genero uncaria .estudios botánicos, químicos y farmacológicos de *Uncaria tomentosa* y *Uncaria guinensis*. Lima, Perú, instituto de fitoterapia americano.169 p.
- POURMORAD, F., HOSSEINIMERH, S., SHAHABIMAJD, N. 2003. La actividad antioxidante, el fenol y el contenido de flavonoids de algunas plantas iranís, African Journal of Biotechnology. Irani v.5, p.45-53.
- PRIETO, J., PATIÑO, O., LESMES, L., LOZANO, J., CUCA, L., 2011. Estudio fitoquimico de *Uncaria guianensis* y evaluación antimicrobiana Journal of Natural Products, v.2, n.41, p.303-310.
- REATEGUI, R. 2012. Efecto de diferentes niveles de torta de sachá inchi (*Plukenetia volúbilis* L.) precocida sobre el hígado y el perfil bioquímico de

pollos de carne. Tesis Ing. Zootecnista. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 85 p.

RÍOS, E., BELMONTE, A., RODRIGUEZ, C., ORTIZ, L., CIOTTI, E., BOGADO, F., ACOSTA, O. 2005. Intoxicacion con *Ipomoea fistulosa* (aguapeí, mandiyurá) en cabras. Efectos sobre el hemograma e ionograma. [En línea]: UNNE (<http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2005/4-Veterinaria/V-017.pdf>, documentos, 20 jun.2015).

RIZZI, R., BIANCHI, A., DE FEO, V., DE SIMONE, F. 1993. Mutagenic and antimutagenic activities of *Uncaria tomentosa* and its extracts. J. of Ethnopharmacol. v.4, n.38, p.67-77.

RODRIGUES, J., MENENDEZ, J., TRUJILLO, Y. 2001. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidative. 2001. Instituto superior de medicina military. Revista cubana medica militar, v.1, n.30, p.36-24.

SAAVEDRA, 2008. Uso de uña de gato (*uncaria sp*) en la etapa de acabado de pollos parrilleros. Tesis Ing. Zootecnista. Tingo María, Perú. Universidad nacional agraria de la selva.38 p.

SANDOVAL, M., THOPSON, H., ZHANG, J. 1998. Antiinflammatory actions of cat's claw: the role of nf-kb. aliment pharmacol, v.12, p.1279-1289.

- SANDOVAL, M., CHARBONET, R., OKUHAMA, N. 2000. Cat's claw inhibits TNF  $\alpha$  production and scavenges free radicals: role in cytoprotection free rad. *Biología Medica*. v.29, p.71-78.
- SANDOVAL, C. 2012. Capacidad Antioxidante del extracto atomizado de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) y efecto sobre los perfiles bioquímicos sanguíneos, constantes hematológicas y parámetros productivos en pollos de carne. Tesis – Ing. Zootecnista. Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María. Huánuco-Perú. 79 p.
- SAUNIER, C., WATERHOUSE, P. 2002. Sur levolution du secteur des semi-conducteurs et ses liens avec les micro et nanotechnologies, Sénat-Rapport de IOPECST n°138.
- SHENG, R., y HELDMAN, D. 1998. Introducción a la ingeniería de Alimentos. Ed. Acribia, España. 544 p.
- TROMELIN, A, GUICHARD, E. 2003. Use of catalyst in a 3D-QSAR study of the interections between flavor compouds and  $\beta$ -Lacto globulin. *J. Agric.Food Chem*. v.51, p.1977-1983.
- UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA, 2012.Valores hematológicos normales. [En línea] (<http://cea.unizar.es/disenosl/sangre/valores%hematologicos.pdf>.) Documentos, 20 jun.2015).
- UREÑA, M., D'ÁRRIGO, M., VELIZ N. 1993. Evaluación sensorial de los alimentos. Editorial Agraria. Lima-Perú. 69p.

WAGNER, H., KREUTCAMP, B., JURIC K. 1985. The alkaloids of *Uncaria tomentosa* and their phagocytosis Increasing Effect. *Plant Med.* v. 51, p 56-67.

WILLAR, M., TVEDTEN, H., TURNWALD, G. 2001. Small animal clinical diagnosis by laboratory methods (3th ed). W. B. Saunders Compañy. Philadelphia. *Plant Med.* v. 4, p 6-9.

## **X. ANEXO**

## Anexo 1. Curva patrón de ácido gálico

Concentración de Ácido gálico (mg/ml)	1000	800	600	400	200	100	50
Absorbancia (500nm)	0.885	0.698	0.51	0.33	0.167	0.062	0.037

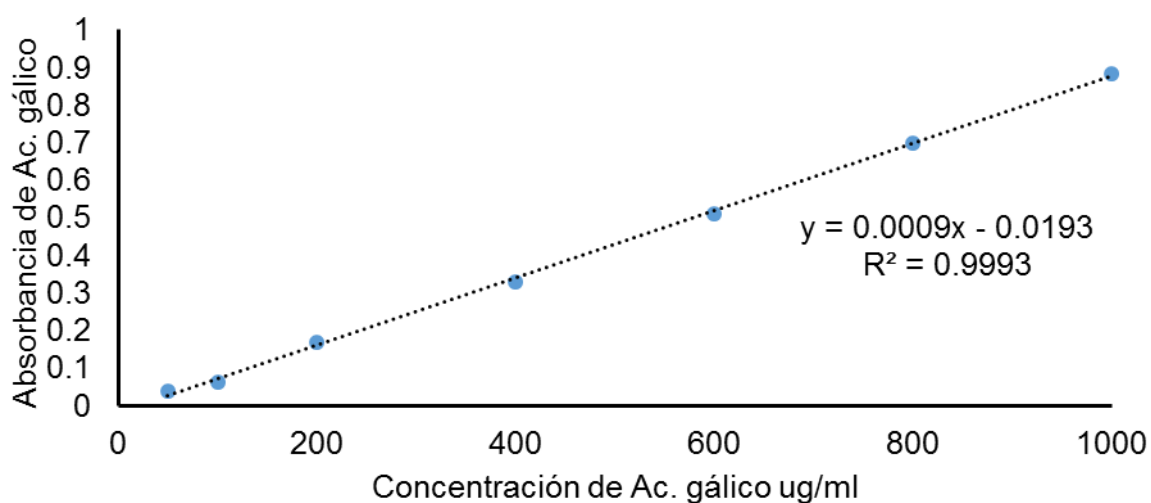


Gráfico 2. Determinación de la ecuación lineal.

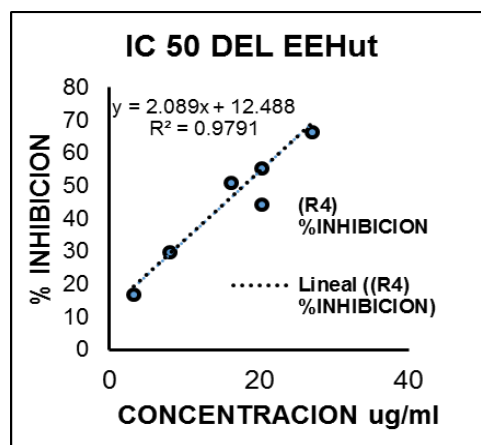
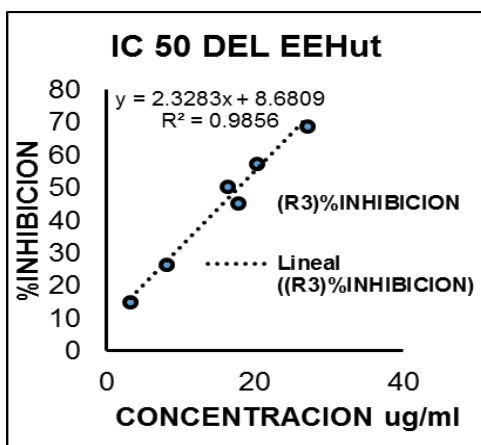
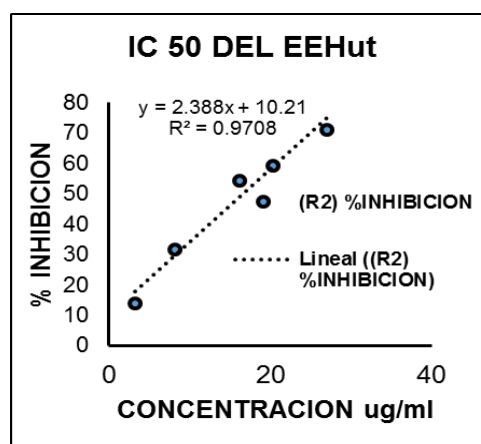
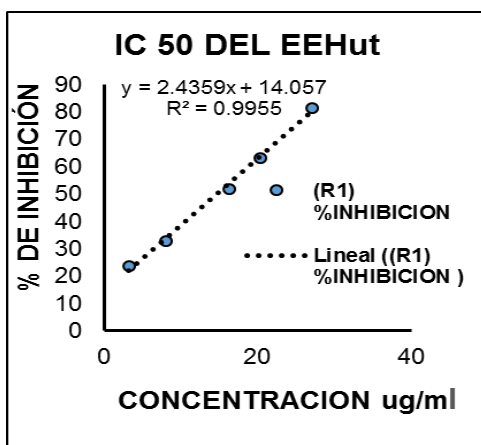
Anexo 2. Cuadro de absorbancias del extracto hidroalcohólico de hoja de uña de gato (*Uncaria tomentosa*)

Tiempo (Minutos)	Concentración de EEHut mg/ml	Absorbancia de la muestra (500 nm)	Polifenoles (g de AGE/100 g de muestra seca)
5	10.8	0.518	55.1
	13.0	0.619	54.9
	11.8	0.565	54.5

Anexo 3. Cuadro de absorbancias del extracto hidroalcohólico de hoja de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) al reaccionar con el radical DPPH (100Um)

Concentración de EEHut ug/ml	Absorbancias (500nm)			
	R1	R2	R3	R4
1083.33	0.174	0.266	0.288	0.312
812.5	0.348	0.376	0.394	0.412
650	0.455	0.423	0.458	0.454
325	0.632	0.632	0.679	0.649
130	0.720	0.796	0.786	0.768

Anexo 4. Regresión lineal simple para la obtención del IC<sub>50</sub> del extracto hidroalcohólico de hoja de uña de gato.



## Anexo 5. Análisis de varianza de hemoglobina

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F-valor	p-valor
Modelo	28.00	11	2.55	2.2	0.0321
Tratamiento	1.26	3	0.42	0.36	0.7798
Tiempo	18.61	2	9.31	8.04	0.0011
Tratamiento*Tiempo	7.43	6	1.24	1.07	0.3952
Error	50.96	44	1.16		
Total	78.96	55			

## Anexo 6. Análisis de varianza de hematocrito

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F-valor	p-valor
Modelo	117.48	11	10.68	1.74	0.0959
Tratamiento	29.97	3	9.99	1.63	0.1964
Tiempo	24.78	2	12.39	2.02	0.1448
Tratamiento*Tiempo	68.46	6	11.41	1.86	0.1096
Error	263.5	43	6.13		
Total	380.98	54			

## Anexo 7. Análisis de varianza de proteína total sérica

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F-valor	p-valor
Modelo	261.64	11	23.79	0.89	0.5576
Tratamiento	238.30	3	79.43	2.97	0.0415
Tiempo	7.63	2	3.82	0.14	0.8675
Tratamiento *Tiempo	13.58	6	2.26	0.08	0.9975
Error	1230.97	46	26.76		
Total	1492.61	57			

## Anexo 8. Análisis de varianza de albumina sérica

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F-valor	p-valor
Modelo	3.2	11	0.29	3.6	0.001
Tratamiento	0.25	3	0.08	1.03	0.3869
Tiempo	1.65	2	0.82	10.19	0.0002
Tratamiento*Tiempo	1.23	6	0.21	2.54	0.0328
Error	3.8	47	0.08		
Total	7	58			

## Anexo 9. Análisis de varianza de aspartato aminotransferasa

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F-valor	p-valor
Modelo	97489.32	11	8862.67	7.3	<0.0001
Tratamiento	6800.13	3	2266.71	1.87	0.1493
Tiempo	88137.34	2	44068.67	36.32	<0.0001
Tratamiento*Tiempo	3771.56	6	628.59	0.52	0.7914
Error	52176.31	43	1213.4		
Total	149665.63	54			

## Anexo 10. Análisis de varianza de alanina aminotrasferasa

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F-valor	p-valor
Modelo	789.13	11	71.74	1.98	0.0555
Tratamiento	215.12	3	71.71	1.97	0.132
Tiempo	429.27	2	214.63	5.91	0.0054
Tratamiento*tiempo	107.04	6	17.84	0.49	0.8113
Error	1561.6	43	36.32		
Total	2350.73	54			