# UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

# **FACULTAD DE ZOOTECNIA**



"USO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS DE UÑA DE GATO

(Uncaria tomentosa), SOBRE PERFILES BIOQUIMÍCOS, CONSTANTES

HEMATOLÓGICAS Y PARÁMETROS PRODUCTIVOS EN POLLOS DE

CARNE EN ETAPA DE INICIO EN TINGO MARÍA"

**Tesis** 

Para Optar el Título de:

**INGENIERO ZOOTECNISTA** 

**ELIZABETH QUIJANO ROJAS** 

Tingo María - Perú

2016

#### **DEDICATORIA**

A Dios por darme la vida y sus bendiciones, guiarme y protegerme durante mi existencia.

A mis abuelos: Filemón ZAVALA JARA y Francisca MARTINEZ HUAMAN, por el amor, enseñanzas, consejos, apoyo incondicional y por ser mi motivación constante durante mi formación profesión profesional para alcanzar mis sueños.

A mis padres: Gregoria MARTINEZ ROJAS y Sixto INGUNZA ATANACIO por su amor, consejos, apoyo y confianza depositado durante mi formación profesional.

A mis hermanos (a):
Karina, Luis, Frank y a mi sobrina
Dayani por su amor, confianza y
respeto brindado.

#### **AGRADECIMIENTO**

- A la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por ser mi Alma Máter, y por haberme aceptado ser parte de ella, permitiendo mi formación profesional.
- A la Facultad de Zootecnia, y en especial a los docentes que me brindaron sus conocimientos y su apoyo para seguir superándome día a día.
- Al M.Sc. Juan Lao Gonzales, Asesor del presente trabajo, mi eterno agradecimiento por su amistad, sus consejos, por su gran apoyo incondicional y conocimiento científico, que contribuyeron a la culminación del presente trabajo.
- Al Dr. Daniel Paredes, Asesor del presente trabajo, por sus consejos durante la ejecución del presente trabajo.
- A Phs. Manuel Sandoval Chacón, patrocinador de la siguiente investigación.
- A Los miembros de jurado de mi tesis: Dr. Carlos Arévalo Arévalo; M.Sc.
   Tula Alegría de Zamudio y al Ing. Walter Alberto Paredes Orellana; por sus consejos, correcciones y por el tiempo dedicado al presente trabajo.
- Al Ing. Darlín Reategui Díaz, M.Sc. Jose Eduar Hernandez, laboratorista
   Felix Jara y Dr. Rizal Robles por su apoyo, consejos y amistad durante la
   ejecución del presente trabajo de investigación.
- A mis queridos amigos (as): Lirza Alejo Cervantes, Kelly Caballero Salas,
   Jairo Loayza Bezares, por su apoyo en el presente trabajo de investigación.
- A Luis Miguel Villanueva Avel, por darme la mano cuando lo necesité y por su apoyo en este trabajo de investigación.
- Yefigenia Albornoz, Neil Núñez, a la vez con quienes compartí momentos inolvidables en mi formación profesional.

# **ÍNDICE GENERAL**

|      |       | Pa   | agina |  |  |  |
|------|-------|--|-------|--|--|--|
| RES  | SUMEN | I  |       |  |  |  |
| l.   | INTR  | ODUCCIÓN   | 1     |  |  |  |
| II.  | REVI  | REVISIÓN DE LITERATURA                                       |       |  |  |  |
|      | 2.1.  | Generalidades de la uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> ) | 3     |  |  |  |
|      | 2.2.  | Composición química y actividad farmacológica de la Uncaria  | }     |  |  |  |
|      |       | tomentosa  | 3     |  |  |  |
|      | 2.3.  | Polifenoles  | 4     |  |  |  |
|      |       | 2.3.1. Mecanismo de acción de los polifenoles                | 5     |  |  |  |
|      | 2.4.  | Radicales libres, estrés oxidativo y antioxidantes           | 7     |  |  |  |
|      |       | 2.4.1. Uso del radical DPPH (1,1-diphenyl-2-picrihildrazil   |       |  |  |  |
|      |       | radical)   | 9     |  |  |  |
|      | 2.5.  | Mecanismos de respuestas inmunitarias                        | 9     |  |  |  |
|      | 2.6.  | Perfiles bioquímicos y sanguíneos                            | 9     |  |  |  |
|      |       | 2.6.1. Transaminasa Aspartato aminotrasferasa (AST) y la     | l     |  |  |  |
|      |       | transaminasa alanina aminotrasferasa (ALT)                   | . 10  |  |  |  |
|      |       | 2.6.2. Proteína total sérica y albúmina sérica               | . 12  |  |  |  |
|      | 2.7.  | Constantes hematológicas                                     | . 12  |  |  |  |
|      | 2.8.  | Parámetros productivos en pollos de carne                    | . 14  |  |  |  |
| III. | MATE  | ERIALES Y MÉTODOS  | . 15  |  |  |  |
|      | 3.1.  | Lugar y fecha de ejecución de la investigación               | . 15  |  |  |  |
|      | 3.2.  | Tipo de investigación  | . 16  |  |  |  |
|      | 3.3.  | Componentes en estudio                                       | . 16  |  |  |  |
|      |       | 3.3.1 Materia prima  | 16    |  |  |  |

|     |       | 3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico de hojas de       |    |
|-----|-------|---|----|
|     |       | "Uncaria tomentosa" (EHHut)                                     | 16 |
|     |       | 3.3.3. Determinación de capacidad antioxidante in vitro         | 17 |
|     |       | 3.3.4. Animales en estudio                                      | 17 |
|     |       | 3.3.5. Alimento y alimentación                                  | 18 |
|     |       | 3.3.6. Instalaciones y equipos                                  | 18 |
|     | 3.4.  | Sanidad   | 19 |
|     | 3.5.  | Variable independiente  | 19 |
|     | 3.6.  | Tratamientos en estudio   | 19 |
|     | 3.7.  | Diseño y análisis estadístico                                   | 20 |
|     | 3.8.  | Croquis de distribución de tratamientos                         | 21 |
|     | 3.9.  | Variables dependientes  | 22 |
|     | 3.10. | Datos a registrar   | 23 |
|     |       | 3.10.1. Prueba del radical 1,1-Diphenyl-2-picrilhdrazil (DPPH)  | 23 |
|     |       | 3.10.2. Evaluación de polifenoles totales                       | 23 |
|     |       | 3.10.3. Perfiles bioquímicos                                    | 24 |
|     |       | 3.10.4. Constantes hematológicos                                | 25 |
|     |       | 3.10.5. Parámetros productivos                                  | 25 |
| IV. | RESU  | JLTADOS   | 26 |
|     | 4.1.  | Contenido de polifenoles totales del extracto hidroalcohólico   |    |
|     |       | de hoja de uña de gato "Uncaria tomentosa" (EHHut)              | 26 |
|     | 4.2.  | Coeficiente de inhibición IC <sub>50</sub> (ug/mL) del extracto |    |
|     |       | hidroalcohólico de hoja de una de gato "Uncaria tomentosa"      |    |
|     |       | (EHHut)   | 26 |
|     |       |   |    |

|       | 4.3. | Perfiles bioquímicos sanguíneos y constantes hematológicos,     |    |
|-------|------|---|----|
|       |      | en pollos suplementados con extracto hidroalcoholico de         |    |
|       |      | hojas de uña gato "Uncaria tomentosa" (EHHUt) en la etapa       |    |
|       |      | de inicio, evaluados a los 14 y 42 días                         | 27 |
|       | 4.4. | Efecto de la suplementación del extracto hidroalcoholico de     |    |
|       |      | hojas de uña de gato "Uncaria tomentosa" (EHHUt), sobre los     |    |
|       |      | parámetros productivos de pollos, evaluados a los 42 días       | 31 |
| V.    | DISC | USIÓN   | 33 |
|       | 5.1. | Contenido de polifenoles totales del extracto hidroalcohólico   |    |
|       |      | de hoja de "Uncaria tomentosa" (EHHut)                          | 33 |
|       | 5.2. | Coeficiente de inhibición IC <sub>50</sub> (ug/mL) del extracto |    |
|       |      | hidroalcohólico de hoja de una de gato "Uncaria tomentosa"      |    |
|       |      | (EHHut)   | 34 |
|       | 5.3. | Perfiles bioquímicos sanguíneos y constantes hematológicos,     |    |
|       |      | en pollos suplementados con extracto hidroalcohólico de         |    |
|       |      | hojas de uña gato (EHHut) en la etapa de inicio, evaluados a    |    |
|       |      | los 14 y 42 días  | 35 |
|       | 5.4. | Efecto de la suplementación del extracto hidroalcohólico de     |    |
|       |      | hojas de uña de gato "Uncaria tomentosa" (EHHut), sobre los     |    |
|       |      | parámetros productivos de pollos evaluados a los 42 días        | 40 |
| VI.   | CON  | CLUSIONES   | 42 |
| VII.  | RECO | DMENDACIONES  | 43 |
| VIII. | ABST | RACT  | 44 |
| IX.   | REFE | RENCIAS BIBLIOGRAFÍCAS  | 45 |
| X.    | ANEX | O   | 52 |

# **ÍNDICE DE CUADROS**

| Cua | ndro Pá  | gina |
|-----|--|------|
| 1.  | Valores normales del perfil bioquímico y constantes hematológicas      |      |
|     | de pollos  | 10   |
| 2.  | Contenido de polifenoles totales del extracto hidroalcohólico de hojas |      |
|     | de uña de gato "Uncaria tomentosa" (EHHut)                             | 26   |
| 3.  | Coeficiente de inhibición IC50 del DPPH por el extracto                |      |
|     | hidroalcohólico de hojas de uña de gato "Uncaria tomentosa"            |      |
|     | (EHHut)  | 27   |
| 4.  | Perfiles bioquímicos sanguíneos y constantes hematológicas de          |      |
|     | pollos suplementados con diferentes niveles de extracto                |      |
|     | hidroalcohólico de hoja de "Uncaria tomentosa" (EHHut)                 | 28   |
| 5.  | Concentración de proteína sérica en la sangre (g/dL) de acuerdo a      |      |
|     | Niveles de EHHut y edad (días)   | 30   |
| 6.  | Promedio ± desviación estándar de ganancia diario de peso (GDP,        |      |
|     | g/día), consumo diario de alimento (CDA, g/día) y conversión           |      |
|     | alimenticia (CA) en pollos suplementados con diferentes niveles de     |      |
|     | FHHut a los 42 días  | 32   |

# ÍNDICE DE GRÁFICOS

| Grá | fico P  | ágina |
|-----|---|-------|
| 1.  | Concentración de proteína sérica en la sangre (g/dL) en función a los |       |
|     | niveles de EHHut a los 14 y 42 días                                   | 30    |
| 2.  | Concentración de proteína sérica en la sangre (g/dL) a los 14 y 42    |       |
|     | días en diferentes concentraciones de EHHut                           | 31    |

#### RESUMEN

El experimento se realizó en el laboratorio Centro de Investigación de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA) y en el Centro de Investigación y Capacitación Granja Zootécnica (CICEGZ), y en el Laboratorio de Sanidad Animal (LSA) de la Facultad de Zootecnia, de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, provincia Leoncio Prado, región Huánuco-Perú; con el objetivo de evaluar su efecto antioxidante de las hojas de uña de gato (Uncaria tomentosa), suplementado en la fase de inicio hasta los 14 días y evaluados a los 42 días de edad; sobre el perfil bioquímico, constantes hematológicos y parámetros productivos en pollos de carne Cobb Vantres 500. Se utilizó 100 pollos de 1 a 42 días de edad, con peso promedio de inicio 43.64 g. Se adicionó extracto hidroalcohólico de hojas de "Uncaria tomentosa" (EHHUt) en agua de bebida, niveles de 0, 80, 160 y 240 IC<sub>50</sub>, en los T1 (testigo) T2, T3 y T4 respectivamente. Se empleó el DCA con arreglo factorial de 4x2; y se obtuvo los siguientes resultados a los 14 y 42 días de edad: en el hematocrito se obtuvo (21.4 y 24.50 %); para la hemoglobina (8.21 y 8.88 g/dL); proteína sérica fue (2.42 y 2.88 g/dL); del aspartato (86.13 y 192.17 UI/L); alanina (29.36 y 23.92 UI/L) y albúmina fue (1.17 y 1.39 g/dL), para T1, T2, T3 y T4 respectivamente. Asimismo los parámetros productivos evaluados a los 42 días se obtuvo: consumo diario de alimento (106.31g); ganancia de peso diario (59.81g) y conversión .alimenticia (1.78). En conclusión si bien no se halló diferencias estadísticas a la inclusión del EHHut en el agua de bebida hasta los 14 días y evaluados a los 42 días de edad fue el T3 fue que tuvo mejores resultados a excepción de la proteína sérica total fue el T2 (80 IC<sub>50</sub>) con 2.75 ± 0.42 influenciados a la prueba de la interacción por las edades.

Palabras clave: Coeficiente de inhibición, extracto hidroalcohólico polifenoles, perfiles bioquímicos sanguíneos y uña de gato.

#### I. INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo, es un fenómeno que ocurre en la vida de todas las especies, esto genera un desbalance entre; la producción de radicales libres y los sistemas de defensa, provocando estados de inmunodeficiencia produciendo enfermedades sub clínicas, deteriorando los índices productivos y bioquímicos sanguíneos. Para disminuir el impacto negativo, de las exigencias a las que es sometido el pollo en su crianza, se debe inhibir la acción de estas sustancias reactivas, pero los costos y reacciones colaterales de medicamentos utilizados limitan el uso de esta terapia.

Es por ello que en la actualidad la industria viene introduciendo productos naturales para incorporar en el alimento o agua de bebida a base de plantas naturales, que poseen beneficios antioxidantes para mejorar en el proceso de crianza y tratar de aliviar los factores que afectan negativamente la producción. Entonces como alternativa trascendental, constituye el uso de recursos vegetales medicinales, cuyas bondades biomédicas ya están estudiadas, tal es el caso como uña de gato (*Uncaria tomentosa*). Planta nativa de la amazonia, reconocida por sus propiedades beneficiosas en procesos inflamatorios, antioxidantes, inmunoestimulante, antimutágenos y antivirales. Frente a este contexto se plantea la siguiente pregunta, ¿Cómo influirá el extracto hidroalcohólico de hojas de uña de gato (*Uncaria tomentosa*), en la

etapa de inicio, sobre perfiles bioquímicos, constantes hematológicos y parámetros productivos en pollos de carne y evaluados a los 42 días?; por lo mismo que se planteó la hipótesis: el suministro de extracto hidroalcohólico de hoja de uña de gato durante las dos primera semanas, en cantidades de 80 IC<sub>50</sub>,160 IC<sub>50</sub>, y 240 IC<sub>50</sub> suministrado en el agua de bebida mejoró los perfiles bioquímicos, constantes hematológicos y parámetros productivos en los pollos de carne Cobb Vantres 500; lo que proponemos los siguientes objetivos:

#### Objetivo general:

Evaluar la capacidad antioxidante, in vitro, del extracto hidroalcohólico de hoja de uña de gato "*Uncaria tomentosa*" (EHHut) y determinar su efecto de suplementar en la fase de inicio, sobre perfiles bioquímicos, constantes hematológico y parámetros productivos.

## Objetivos específicos:

- Determinar el coeficiente de inhibición IC<sub>50</sub> (ug/mL) frente al radical libre 1,1-diphenyl-2-picrihydrazil (DPPH) y contenido de polifenoles del extracto hidroalcohólico de hoja de uña de gato "Uncaria tomentosa" (EHHut).
- Diferenciar los perfiles bioquímicos sanguíneos y constantes hematológicos,
   en pollos suplementados con extracto hidroalcohólico de hojas de uña gato
   (EHHut) en la etapa de inicio, evaluados a los 14 y 42 días, en Tingo María.
- Evaluar los parámetros productivos de pollos evaluados a los 42 días, en
   Tingo María.

# II. REVISIÓN DE LITERATURA

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

Liana trepadora, que llega a medir hasta 20 metros de altura, de la Amazonia peruana, de gran potencial medicinal. La parte más utilizada es la corteza interna de los tallos, hojas y raíz, que se emplean como extracto acuoso liofilizado, ungüentos, infusión, etc. (HOMEOVITA, 2008).

2.2. Composición química y actividad farmacológica de la *Uncaria* tomentosa

ANGULO et al. (2005) al examinar la *Uncaria tomentosa* por cromatografía de comparación se identificaron los principales alcaloides primarios: oxindólicos tetra y pentaciclicos (Rincofilina e Isoriconfilina), luego los alcaloides secundarios Mitrafilina e Isomitrafilina hallado solo en *Uncaria tomentosa*, demostraron además, la potente acción inmunoestimulante de los alcaloides indróxilicos, isoteropodina, pteropodina, isomitrofilina e isorinchofilina, de la uña de gato por medio de la prueba de luminiscencia; además reporta que la 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.

Los azúcares encontrados en "Uncaria tomentosa" fueron la glucosa, fructosa, quimosa, ramosa y galactosa; también se han aislado triterpenos polihidroxilados derivados del ácido ursólico y quinóvico; se han aislado los triterpenos lupeol, los ácidos ursólico y oleanolicos (CALLO et al., 1997); asimismo KEPLINGER (2000) demostró, que los alcaloides oxindólicos pentacíclicos extraídos de Uncaria tomentosa tienen actividad citostática contraceptiva y antiinflamatoria; concluyendo que estos alcaloides producen aumento de fagocitosis.

PERALTA y ZAMBRANO (1999) refieren que la uña de gato tiene una actividad inmuno estimulante y antiinflamatoria de procesos como artritis, gastritis, inflamaciones dérmicas, genitourinarias, etc. Asimismo (RODRÍGUEZ et al. 2001) indicaron que el estrés oxidativo es un desbalance entre la producción de compuestos reactivos del oxígeno y los sistemas de defensa antioxidante, debido a la carencia de vitaminas y minerales, procesos inflamatorios, deficiencia del sistema inmune, situaciones de ejercicio intenso y factores ambientales que impiden al organismo controlar la reacción en cadena de las especies reactivas del oxígeno

#### 2.3. Polifenoles

MARTINEZ *et al.* (2000) indican que los compuestos polifenólicos, constituyen un grupo de sustancias químicas, considerados como metabolitos secundarios de numerosas especies de plantas. Generalmente la absorción y metabolismo de los polifenoles es influenciado por la solubilidad y estructura

química (DREOSTI, 2000). Es evidente que algunos compuestos fenólicos simples libres son los flavonoides (quercetina y genisteina) y los ácidos fenólicos pueden ser directamente absorbidos a través de la mucosa del intestino delgado (MARTINEZ y VALVERDE *et al.*, 2000).

## 2.3.1. Mecanismo de acción de los polifenoles

Según FRANKEL (1995) menciona que los polifenoles tienen propiedades conocidas en el secuestro de radicales libres, protección a las lipoproteínas de baja densidad del daño oxidativo, acción antiinflamatoria y actúan como antioxidantes, actuando como atrapadores de radicales libres; 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 y por sus propiedades de solubilidad pueden localizarse sobre la superficie de partícula de lipoproteínas de baja densidad.

CALA y VÁSQUEZ (2008) refieren que a mayor contenido total de fenoles mayor será la capacidad antioxidante de la sustancia estudiada. Por su lado KUSKOSKI et al. (2004) y ROBLES et al. (2007) indican su potencial antioxidante de polifenoles depende del número y de la posición de los grupos hidroxilos y su conjugación; atribuyéndoseles a su vez un efecto beneficioso en la prevención de enfermedades como: circulatorios, cancerígenas y cardiovasculares y también poseen actividades, antialérgicas, anti-inflamatorias, antitrombotica y antimicrobiana.

ROMERO (2012) en un trabajo de cuantificación de polifenoles en hojas de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) proveniente de tres localidades en Ucayali, indicó que los valores promedio encontró diferencia significativa, influenciado por el lugar de procedencia, las propiedades fisicoquímicas de las diferentes estructuras, la polaridad del solvente y el tiempo de extracción indicando mayor cantidad de fenoles en zonas húmedas. MURILLO *et al.* (2007) refieren que la diferencia entre los extractos se deba probablemente a la solubilidad de los polifenoles, siendo relativamente solubles en compuestos orgánicos como el alcohol, esto se debe posiblemente a la afinidad química que tienen los polifenoles con los solventes.

ESTELO (2003) determino el contenido de polifenoles en hojas de dos especies de "chanca piedra", obteniendo para *Phyllanthus urinaria* L. de 7,32 ± 0.05 mg AGE/g y *Phyllanthus. niruri* L. de 3.010 ± 0.05mg/AGE/g muestra seca. DAZA (2004), determino el contenido de polifenoles en hojas de *colycophyllum spruceanum* "capirona", realizado en dos formas de extracción (acetona/agua en 2.081 ± 0.282 mg/AGE/g y agua a 45°C con 0.318 ± 0.017 mg/AGE/g de muestra seca. Así mismo PERDOMO (2009), determino el contenido de polifenoles en hojas de *Ochroma pyramidale* "topa", realizado en dos formas de extracción hidroalcohólico en 2.081 ± 0.282mg/AGE/g y acuoso a 45°C con 0.318 ± 0.017mg/AGE/g de muestra seca.

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

Los radicales libres (RL) son moléculas que presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo y puede ser inestable, altamente reactivo y de vida corta. 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). Por su lado GONZÁLES et al. (2000) los radicales libres se producen continuamente en el organismo como consecuencia de procesos metabólicos normales y fuentes exógenos como ejercicio intenso, situaciones de estrés, factores ambientales y agentes contaminantes (drogas y pesticidas).

En las aves se ha relacionado el estrés oxidativo con el desarrollo de enfermedades como ascitis en pollos parrilleros e hígado graso en gallinas produciendo una de las principales perdidas económicas; está asociada a problemas de hipertensión pulmonar y excesiva producción de células inflamatorias en los tejidos pulmonares, debido a la pobre ventilación de los galpones que causa hipoxia en aves. Las células inflamatorias activan a los linfocitos para generar una variedad de radicales libres hacia tejidos como pulmón, hígado y corazón, causando daño oxidativo al provocar desbalance entre la producción de radicales libres y sistemas antioxidantes de defensa (HUERTA et al., 2004).

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. Nuestro organismo está constantemente luchando contra los radicales libres (BENDICH, 1993). La ingesta de antioxidantes por encima de los niveles mínimos requeridos para evitar su deficiencia, ha mostrado efectos benéficos en la respuesta inmune de humanos y animales, (GONZALES *et al.*, 2000).

RIZZ y COLS (1993) reportaron resultados de la capacidad antioxidante del extracto acuoso atomizado de uña de gato, demostraron que es un antioxidante eficaz que tiene la capacidad inhibidora del radical 1,1-difenil-2-picrihidrazil (DPPH), esto se debe a que la uña de gato tiene en su composición cis-epicatequina, prociadinas, acidos oleanolico y ursolico; que tienen una potente actividad como antioxidantes eliminando radicales libres, por su parte SHARMA *et al.* (2001) menciona que el proceso de atomizado conserva la mayoría de sus compuestos volátiles, la calidad y las propiedades funcionales de la uña de gato haciéndolo más disponibles.

SANDOVAL *et al.* (2000) refiere 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, además,
neutraliza el efecto citotóxico de radicales libre como 1,1-difenil-2-picrihidrazil
reportando para corteza de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) liofilizado y micro
pulverizado IC<sub>50</sub> de 18 y 150ug/mL. Asimismo, SANDOVAL (2012), determinó
la capacidad antioxidante del extracto atomizado de uña de gato (*Uncaria tomentosa*), reportando datos de coeficiente de inhibición al 50% (IC<sub>50</sub>) de
DPPH de 105.03 ug/mL del extracto acuoso atomizado de uña de gato.

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

Uno de los métodos más aplicados para la determinación antioxidante de plantas y alimentos es el DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), que es un polvo cristalino de color oscuro compuesto de estabilidad de los radicales libres moléculas. 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 e intensidad de la resonancia paramagnética de electrones señales (BRAND *et al.*, 2000).

#### 2.5. Mecanismos de respuestas inmunitarias

El extracto acuoso de corteza de uña de gato estimula la producción de interleucinas 1 y 6 en macrófagos alveolares, las cuales inician la cadena actividades defensivas del sistema inmune, concluyendo que la uña de gato posee una potente actividad inmunoestimulante (LEMAIRE *et al.*, 1999); por su parte CABIESES (1997) corrobora que los alcaloides, glicósidos y terpenos presentes tienen propiedades inmunoestimulantes que fortalecen el sistema inmunológico, permitiendo la regeneración de células.

#### 2.6. Perfiles bioquímicos y sanguíneos

Los datos que se obtienen se basan en pequeñas 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.*, 2000).

Asimismo, éste indica que el perfil bioquímico se utiliza para investigar fisiológicos, necesarios para el correcto funcionamiento del organismo, con este examen se puede obtener información general del funcionamiento de los órganos, en las aves fuera del rango normal indican enfermedades subclínicas posibles. BAUER (1989) que menciona que los valores de hematocrito se ven influenciados por la edad, sexo y geografía.

Cuadro 1. Valores normales del perfil bioquímico y constantes hematológicas de pollos

| ALT <sup>1</sup><br>(UI/L) | AST <sup>2</sup><br>(UI/L) |           | Proteína <sup>3</sup><br>sérica (g/dL) | Hematocrito <sup>4</sup> (%) | Hemoglobina <sup>4</sup><br>(g/dL) |
|----------------------------|----------------------------|-----------|--|------------------------------|------------------------------------|
| 3.5 - 80.4                 | 89.6 - 243.2               | 1.0 - 2.7 | 2.1 - 5.3                              | 23 - 55                      | 7.0 - 18.6                         |

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>ARRIETA et al. (2006) y REÁTEGUI (2012)

# 2.6.1. Transaminasa Aspartato aminotrasferasa (AST) y la transaminasa alanina aminotrasferasa (ALT)

El uso de estos marcadores en aves sirve para determinar el daño de los hepatocitos, cada uno de estos marcadores son más específicos o más sensibles que otros. Las transaminasas 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 cetoglutárico para producir ácido oxalacético y pirúvico, respectivamente (JONES, 1999).

<sup>&</sup>lt;sup>2, 3</sup>ARRIETA *et al.* (2007) y REÁTEGUI (2012)

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup>UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA (2012)

La AST está presente en las isoenzimas citosólicas y mitocondriales del hígado, músculo esquelético y cardiaco, riñón, cerebro, páncreas, pulmón, leucocitos y glóbulos rojos. Es menos específica y sensible para el hígado; al encontrarse también en células musculares puede elevarse su actividad en situaciones de estrés físico, (Barret y Chalmers, 1977; Vassrt *et al.*, 1992, citados por MONTANE, 2002 y LÓPEZ, 2014); por su parte SANDOVAL (2012), indica que los pollos suplementados con extracto acuoso atomizado de uña de gato respecto a la edad, a los 14 días alcanza un ALT de 124.02 UI/L, mientras que a los 42 días dicho valor sube a 244.62 UI/L.

La alanina es una enzima citológica que se encuentra en altas concentraciones en el hígado, cuyo incremento se debe al daño hepatocelular; esta enzima entra a la sangre cuando los hepatocitos resultan dañados o destruidos y circula por el torrente sanguíneo durante unos días, es un indicador sensible de la lesión hepática activa (WILLARD *et al.*, 2001); por su parte SANDOVAL (2012) indica que los pollos suplementados con extracto acuoso atomizado de uña de gato hasta los 42 días alcanzaron niveles de alanina de 32.45 UI/L; considerando que a los 21 valores muy bajo (3.87 UI/L).

En un experimento realizado por ARRIETA et al. (2007) determinó el efecto del alimento suplementado con y sin Saccharomyces cerevisiae (SC) en pollos de engorde sobre la actividad sérica de la aspartato aminotrasferasa (AST) y la alanino aminotrasferasa (ALT), en la cual no se detectó diferencia en los valores de AST y ALT, basándose en que los datos registrados cayeron dentro de los parámetros normales.

## 2.6.2. Proteína total sérica y albúmina sérica

Las proteínas totales del suero sanguíneo se agrupan en dos grandes categorías, la albúmina y las globulinas que permiten el mantenimiento de la presión osmótica del plasma, trasporte de sustancias (hormonas, minerales, medicamento, etc.), inmunidad, regulación enzimática, etc., además, los valores bajos de albúmina son normales para animales jóvenes; siendo más altos en la fase adulta (WILLARD *et al.*, 2001), aunque hay valores ínfimos que pueden deberse a una hiperhidratación (RUÍZ, 1998).

En aves la fracción más grande de proteína (40-60%) es la albúmina, 100% sintetizada en el hígado, por lo que su medición puede ayudar al diagnóstico de enfermedades del hepáticas (KANEKO *et al* 1997), por su parte EVANS y DUNCAN (2005) mencionan que en las aves hay cambios relacionados con la edad en las concentraciones de proteínas séricas y plasmáticas, existiendo diferencias significativas entre especies.

#### 2.7. Constantes hematológicas

Constituyen 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).

Hemoglobina es una proteína que contiene hierro, que se encuentra en los glóbulos rojos y es la encargada del transporte de oxígeno y dióxido de carbono por la sangre, igualmente señala que la hemoglobina está en relación con la edad, peso corporal y ambiente (DUKES y SWENSON, 1981). Por su parte MATEO (2006) menciona que los valores de hematocrito y hemoglobina se ven influenciados por la edad, siendo más elevado en edad adulta y/o machos, sexo y geografía, de un laboratorio a otro.

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, mientras que SAAVEDRA (2008) encontró una ligera disminución de hemoglobina en aves que recibieron extracto acuoso de corteza de uña de gato en etapa de acabado en comparación a las aves que no la recibieron.

REATEGUI (2012) reporto en una investigación realizada brindando Torta de Sacha inchi precocida (TSIP) en la ración a pollos parrilleros de la línea Cobb 500 utilizando los siguientes tratamientos T1 (TSI 0%); T2 (TSI 7%); T3 (TSI 14%); obtuvo valores de constantes hematológicas y perfil bioquímico: hematocrito en % ,T1 (27,38  $\pm$  0,38), T2 (30,00  $\pm$  0,38), T3 (29,56  $\pm$  0,45); Proteína sérica (g/dL) T1 (2,86  $\pm$  0,10), T2 (2,98  $\pm$  0,11), T3 (2,82  $\pm$  0,10); Albúmina (g/dL) T1 (1,11  $\pm$  0,02), T2 (1, 12,  $\pm$  0,03), T3 (29,56  $\pm$  0,45); AST (UI/L) T1 (104,51  $\pm$  2,44), T2 (92,74  $\pm$  1,96), T3 (92,53  $\pm$  2,29).

### 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 Vantress 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. Por otro lado, el rendimiento productivo recomendado para pollos machos de la línea Cobb Vantress 500, con todas las condiciones favorables, a los 42 días de edad debe tener una ganancia promedia de 70.3 g, consumo diario de alimento 228 g y una conversión alimenticia de 1.69 (COBB-VANTRES, 2012).

SANDOVAL (2012) evaluó la capacidad antioxidante del extracto atomizado de uña de gato y efecto sobre los parámetros productivos en pollos de carne Cobb Vantress 500, a los 42 días de edad de pollos obteniendo ganancia diaria de peso 65.95 g por pollo; consumo de alimento diario de 105.48 g y conversión alimenticia de 1.63.

# III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar y fecha de ejecución de la investigación

El presente trabajo se realizó en dos ensayos: ensayo 1: investigación in vitro que se llevó acabo en el laboratorio del Centro de Investigación de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA); y el ensayo 2: en la unidad experimental de aves del Centro de Investigación y Capacitación Granja Zootécnica (CICEGZ) 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, distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco-Perú Geográficamente está ubicada a 09° 08 17" de latitud sur 75° 59 52" de longitud oeste, con una altitud de 660msnm, temperatura media anual de 24.5°C, precipitación pluvial media anual de 3200mm y humedad relativa de 83.6%; 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 30 de mayo del 2015.

# 3.2. Tipo de investigación

La presente investigación es de tipo experimental y comprende dos ensayos:

Ensayo 1: Contempla los análisis in vitro de la capacidad antioxidante del EHHut frente al radical DPPH y polifenoles totales.

Ensayo 2: Comprende el suministro del extracto hidroalcohólico (EHHut) en el agua de bebida en la etapa de inicio por semanas consecutivas, a pollos de carne Cobb Vantress 500.

#### 3.3. Componentes en estudio

#### 3.3.1. Materia prima

Se utilizó hojas intermediarias de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) de plantas maduras con más de 8 años de edad cosechadas de la localidad de Pachacútec, ubicado a 15km Noreste de Tingo María; para su posterior secado por 48 horas bajo sombra, luego en estufa a 65°C por dos horas y luego trituradas para obtener el extracto hidroalcohólico.

3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico de hojas de "Uncaria tomentosa" (EHHut)

La obtención del extracto hidroalcohólico de hojas de "Uncaria tomentosa" (EHHut) se realizó siguiendo el procedimiento establecido por el CIPNA-UNAS, el mismo que consiste en colocar en un frasco 200g de muestra hoja seca triturada, luego se adicionó 1100 mL de hidroalcohol al 75% de etanol para ser macerado por 48 horas para su posterior filtrado. La sustancia filtrada que contiene el extracto, se sometió a evaporación del etanol usando un rota vapor (BUCHI R-200) que finalmente se completó el secado en estufa a 65°C. El extracto hidroalcohólico obtenido fue envasado y almacenado para proseguir con los ensayos 1 y 2 del presente investigación.

#### 3.3.3. Determinación de capacidad antioxidante in vitro

La determinación in vitro de la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la hoja de "Uncaria tomentosa" (EHHut), se realizó en el Centro de Investigación de Productos Naturales de la Amazonia (CIPNA), se utilizó un espectrofotómetro de luz UV y visual (UV/Vis), marca termo Electrón Corporation, modelo genesys-6. La investigación in vivo se realizó en la unidad experimental de aves del Centro de Capacitación e Investigación Granja Zootecnia (CCIGZ) y en laboratorio de Sanidad Animal de la Facultad de Zootecnia.

#### 3.3.4. Animales en estudio

Se trabajó con 100 pollos machos, de la línea Cobb Vantress 500, procedentes de Lima, con un peso promedio inicial de 43.64g; los que recibieron similares condiciones de manejo; fueron distribuidos en cuatro tratamientos, con cinco repeticiones y cada repetición con cinco aves por unidad experimental.

#### 3.3.5. Alimento y alimentación

El alimento fue adquirido de la empresa Santa Victoria, preparado para tres fases (inicio, crecimiento y acabado), siguiendo las recomendaciones nutricionales de la NRC 1994; teniendo en cuenta que esté libre de aditivos de uso preventivo a enfermedades (antibióticos, nitrofuranos). La alimentación y el suministro de agua fueron a libre discreción. Cabe indicar que los primeros 14 días se le adicionó al agua de bebida el extracto hidroalcohólico de hojas de uña de gato a diferentes niveles.

## 3.3.6. Instalaciones y equipos

El galpón donde se realizó la fase experimental tuvo las siguiente características: 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, ambos son de material noble. Contó una puerta de acceso, instalaciones eléctricas; vigas y postes de madera, el techo fue de calamina a dos aguas superpuestas con claraboya; paredes de malla metálica. Se trabajó con 20 jaulas experimentales, hechas de madera y malla metálica a nivel de piso; cuyas dimensiones fueron calculadas en base a 12 aves por m²; dentro de caja jaula se acondicionó los comederos y bebederos independientes; como cama se utilizó viruta y para fuente de calor en las primeras semanas un foco de 60 watts. El galpón fue cubierto con una mantada color negro para protección climática.

#### 3.4. Sanidad

El galpón y las jaulas se desinfectaron con detergente, lejía y lanzallamas, luego se pasó cal viva en las paredes y el piso, también se desinfectó los comederos y bebederos; se colocó un pediluvio con cal viva en la entrada al galpón como mecanismo preventivo contra enfermedades. Se vacunó el día siete y catorce de edad a los pollitos, por vía ocular contra New Castle, Bronquitis infecciosa y Gumboro (triple aviar).

## 3.5. Variable independiente

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

## 3.6. Tratamientos en estudio

Ensayo 1: determinación del coeficiente de Inhibición (IC<sub>50</sub>) frente al DPPH de concentraciones de Extracto hidroalcohólico de hoja de *Uncaria tomentosa* (EHHut): 130, 325, 650, 812.50 y 1083.33 µg/mL y polifenoles.

Ensayo 2: el suministro de 4 niveles de extracto hidroalcohólico de hojas de "uncaria tomrntosa" (EHHut) en el agua de bebida durante los primeros 14 días. Teniendo en cuenta siguientes tratamientos.

- T1: 0 IC<sub>50</sub> Pollos sin suministro de EHHut.
- T2: 80 IC<sub>50</sub> ug/mL de EHHut en el agua de bebida.
- T3: 160 IC<sub>50</sub> ug/mL de EHHut en el agua de bebida.
- T4: 240 IC<sub>50</sub> ug/mL de EHHut en el agua de bebida.

### 3.7. Diseño y análisis estadístico

Para los datos de perfil bioquímico y constantes hematológicas se utilizó el diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial 4x2 (cuatro niveles de EHHut y 2 edades), con 4 tratamientos y 5 repeticiones, donde cada unidad experimental fue conformada por 5 aves. Los resultados fueron analizados mediante análisis de varianza, con 5% de significancia; se utilizó el test de Tukey para comparar las diferencias entre medias. Se empleó el software InfoStat (versión libre), cuyo modelo aditivo lineal es:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + E_j + T_{ixEj} + e_{ijk}$$

#### Dónde:

 $Y_{ijk}$ : i-ésimo tratamiento de la j-ésima edad del k-ésimo error

μ : Media poblacional

 $T_i$ : Efecto del i-ésimo nivel de inclusión de EHHut (0, 80, 160 y 240 IC<sub>50</sub>)

 $E_i$ : Efecto de la j-ésima edad (i=14 y 42)

 $T_{ixEi}$ : Interacción del i-ésimo x la j-ésima nivel de inclusión de EHHut

 $e_{ijk}$ : Error experimental

Para los datos de parámetros productivos se utilizó el diseño completamente al azar (DCA). Los resultados fueron analizados mediante el análisis de varianza, en la que se empleó el test de Tukey con un nivel de significancia del 5%. Para todo el desarrollo estadístico se empleó el software. InfoStat (versión libre). El modelo aditivo lineal es el siguiente:

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

Dónde:

 $Y_{ij}$  = i-ésimo tratamiento de la j-ésima edad del k-ésimo error

 $\mu$  = Media poblacional

 $T_i$  = Efecto del i-ésimo nivel de inclusión de EHHut (0 IC<sub>50</sub>, 80 IC<sub>50</sub>, 160 IC<sub>50</sub> y 240 IC<sub>50</sub>).

 $e_{ijk}$  = Error experimental

Para determinar los resultados de coeficiente de inhibición (IC<sub>50</sub>) y polifenoles totales del extracto hidroalcohólico de hojas de "*Uncaria tomentosa*" (EHHut), se realizó un análisis de regresión.

# 3.8. Croquis de distribución de tratamientos

| T3R4 | T1R3 | T4R4 | T2R3 |
|------|------|------|------|
| T1R5 | T2R5 | T1R2 | T3R1 |
| T3R5 | T4R2 | T2R2 | T4R1 |
| T4R3 | T3R3 | T3R2 | T1R1 |
| T2R4 | T1R4 | T4R5 | T1R1 |

# 3.9. Variables dependientes

Ensayo 1: Coeficiente de inhibición IC50 y polifenoles totales.

Ensayo 2: Se tiene los siguientes:

# Perfiles hematológicos:

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

# Perfiles bioquímicos

- Proteína total sérica (g/dL)
- Albúmina sérica(g/dL)
- Actividad de transaminasa: Alaninaaminotransferasa (ALT) y Aspartato aminotransferasa (AST) en UI/L.

# Parámetros productivos

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

#### 3.10. Datos a registrar

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

Se utilizó 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 procederá de las diferentes concentraciones de extractos evaluados. Se pesó 0.04 g del radical DPPH que será disuelto en 100 mL de etanol al 96%, obteniendo una solución stock de 1mM, seguidamente, la mezcla obtenida fue sometida al vortex por un tiempo de 30 minutos con la finalidad de obtener una solubilidad completa del DPPH. Posteriormente se preparó una solución intermedia (DPPH, 100Um), para lo cual se tomó 1mL de solución stock y se añadió 9mL de etanol al 96%.

Paralelamente a partir de la solución del EHHut se prepararon soluciones de trabajo a concentraciones de 130.00, 325.00, 650.00, 812.50 y 1083.33 μg/mL. De cada una de estas soluciones de trabajo se tomó 25 uL para hacerlos reaccionar con 975 uL de solución de DPPH (100uM).

# 3.10.2. Evaluación de polifenoles totales

Para la evaluación de polifenoles totales en el EHHut se utilizó el método de: Folin-ciocalteau, descrito por (Singleton y Rossi, 1965) citado por (SAUVIER y WATERHOUSE, 1994).

Se preparó las siguientes soluciones stocks en tubos de capacidad de 30 ml: Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20 % H<sub>2</sub>O dd (+), ácido gálico 100 mg/ml fue disuelto en H<sub>2</sub>Odd. Se agregó la cantidad de 1.58 ml de H<sub>2</sub>O dd, y 20 uL de patrón con tips de 10-1000 uL, y se agregó 100uL de Folin-Ciocalteu y 300 uL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20% dejando incubar 2 horas, se leyó la absorbancia a 500 nm.

Para la lectura de las muestras la absorbancia debe estar dentro del rango de la curva estándar. Para el caso del blanco se agregó 20 uL de agua destilada, 100 uL de solución de fenol Folin-Ciocalteu (Sigma chemical Co) y se agitó ligeramente, se incubó por 1 minuto a temperatura de ambiente, se agregó 300uL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20%, se incubó por 2 horas a temperatura ambiente; finalmente se registró la absorbancia por espectofotómetro (marca Genesys 6 UV/VIS) a 700 nm usando cubetas de poliestireno, 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 ug/ml.

#### 3.10.3. Perfiles bioquímicos

Se determinó de 5 pollos por tratamiento (1/repetición), los días 14 y 42. Las muestras de sangre se tomaron por punción en la vena alar; fue recolectada en dos tubos de ensayo estériles, sin anticoagulante para determinar la actividad sérica de transaminasas aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), proteínas séricas y albúminas (VALTEK LAB).

#### 3.10.4. Constantes hematológicos

Se determinó de 5 pollos por tratamiento (1/repetición), los días 14 y 42. Las muestras de sangre se tomaron por punción en la vena alar; fue recolectada en un tubo de ensayo estéril, con anticoagulante para determinar hemoglobina y hematocrito (VALTEK LAB).

#### 3.10.5. Parámetros productivos

Consumo de alimento diario (g/día).- El consumo diario de alimento se determinó por diferencia entre la cantidad de alimento ofrecido al inicio de las fases y la cantidad no consumida al final de la misma, dividido entre el número de días de la fase y entre el número de aves por jaula para establecer el consumo de alimento de toda la fase.

Ganancia de peso (g/día).- La ganancia de peso diario (GPD, g/día), se determinó por diferencia de peso de las aves al final de cada fase menos el peso inicial de la fase y esto a su vez se dividió entre el número de día que duro la evaluación (42 días).

Conversión alimenticia (CA).- La conversión alimenticia se determinó utilizando la siguiente fórmula:

$$CA = \frac{Alimento\ consumido\ (Kg)}{Ganancia\ de\ peso\ (KG)}$$

#### **IV. RESULTADOS**

4.1. Contenido de polifenoles totales del extracto hidroalcohólico de hoja de uña de gato "Uncaria tomentosa" (EHHut)

El Cuadro 2, se muestra el contenido de polifenoles totales ± D.E del extracto hidroalcohólico de hojas de "*Uncaria tomentosa*" (EHHut), siendo el promedio de tres repeticiones 54.83 ± 0.31g de AGE/100 g de muestra seca.

Cuadro 2. Contenido de polifenoles totales del extracto hidroalcohólico de hojas de uña de gato "Uncaria tomentosa" (EHHut)

| Polifenoles (g de AGE/100 g de muestra seca) |      |      |      |              |  |  |
|--|------|------|------|--------------|--|--|
| EHHut -                                      | R1   | R2   | R3   | PROM ± D.E   |  |  |
|  | 55.1 | 54.9 | 54.5 | 54.83 ± 0.31 |  |  |

D.E: Desviación estándar

4.2. Coeficiente de inhibición IC<sub>50</sub> (ug/mL) del extracto hidroalcohólico de hoja de una de gato "*Uncaria tomentosa*" (EHHut)

El Cuadro 3, muestra el promedio  $\pm$  D.E del coeficiente de inhibición de (IC50) frente al radical libre 1,1-diphenyl-2-picrihidrazil (DPPH); del extracto hidroalcohólico de hojas de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) requerida para inhibir el 50% es de 16.78  $\pm$  1.47ug/mL.

Cuadro 3. Coeficiente de inhibición IC<sub>50</sub> del DPPH por el extracto hidroalcohólico de hojas de uña de gato "*Uncaria tomentosa*" (EHHut)

| Coef     | — PROMEDIOS ± D.E |                     |          |                    |  |
|----------|-------------------|---------------------|----------|--------------------|--|
| IC 50 R1 | IC 50 R2          | IC <sub>50</sub> R3 | IC 50 R4 | — 1 NOMEDIOS : D.E |  |
| 14.75    | 16.66             | 17.75               | 17.97    | 16.78 ± 1.47       |  |

D.E: desviación estándar

4.3. Perfiles bioquímicos sanguíneos y constantes hematológicos, en pollos suplementados con extracto hidroalcoholico de hojas de uña gato "*Uncaria tomentosa*" (EHHUt) en la etapa de inicio, evaluados a los 14 y 42 días

En el Cuadro 4, se observan los promedios ± desviación estándar de perfiles bioquímicos y constantes hematológicos en pollos de carne Cobb Vantress 500, teniendo en cuenta los perfiles y constantes hematológicas, como; proteína total sérica (PT, g/dL), albúmina (ALB, g/dL), hemoglobina (HB, gr/dL), hematocrito (HC, %), alanino aminotransferasa (ALT, UI/L) y aspartato aminotranferasa (AST, UI/L); suplementados en la etapa de inicio con diferentes niveles IC50 del extracto hidroalcohólico (EHHut); evaluados a los 14 días y su efecto retardado a los 42 días de edad.

Cuadro 4. Perfiles bioquímicos sanguíneos y constantes hematológicas de pollos suplementados con diferentes niveles de extracto hidroalcohólico de hoja de "*Uncaria tomentosa*" (EHHut)

| <del>-</del>               |                    | PERFIL BIOQUÍMICO Y CONSTANTES HEMATOLÓGICAS |                   |                    |                    |                   |  |  |  |  |
|----------------------------|--------------------|--|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--|--|--|--|
| Tratamientos               | HC (%)             | HB (g/dL)                                    | ALB (g/dL)        | ALT (UI/L)         | AST (UI/L)         | PT (g/dL)         |  |  |  |  |
| Niveles de EHHut           |                    |  |                   |                    |                    |                   |  |  |  |  |
| T1 (0 IC <sub>50</sub> )   | 22.70 ± 2.87       | 8.24 ± 1.16                                  | 1.20 ± 0.14       | 27.78 ± 4.23       | 139.36 ± 62.10     | 2.47 ± 0.51       |  |  |  |  |
| T2 (80 IC <sub>50</sub> )  | $23.50 \pm 2.46$   | $8.66 \pm 1.35$                              | 1.31 ± 0.18       | $26.88 \pm 5.15$   | $133.32 \pm 59.26$ | $2.75 \pm 0.42$   |  |  |  |  |
| T3 (160 IC <sub>50</sub> ) | $23.10 \pm 2.42$   | $8.92 \pm 1.58$                              | $1.34 \pm 0.31$   | $27.25 \pm 6.80$   | 149.13 ± 63.29     | $2.66 \pm 0.49$   |  |  |  |  |
| T4 (240 IC <sub>50</sub> ) | $22.50 \pm 3.50$   | $8.37 \pm 0.94$                              | $1.28 \pm 0.14$   | $24.65 \pm 5.46$   | 134.79 ± 54.64     | $2.71 \pm 0.18$   |  |  |  |  |
| Edad en días               |                    |  |                   |                    |                    |                   |  |  |  |  |
| 14                         | 21.4 ± 1.64 a      | 8.21 ± 1.41 a                                | 1.17 ± 0.13 a     | 29.36 ± 4.50 a     | 86.13 ± 20.74 a    | 2.42 ± 0.43 a     |  |  |  |  |
| 42                         | $24.5 \pm 2.82  b$ | $8.88 \pm 1.02 b$                            | $1.39 \pm 0.21 b$ | $23.92 \pm 4.93 b$ | 192.17 ± 23.13 b   | $2.88 \pm 0.25 b$ |  |  |  |  |
| EHHut X Edad <sup>1</sup>  | P= 0.6809          | P= 0.7025                                    | P= 0.065          | P= 0.8502          | P=0. 0.9418        | P= 0.0349         |  |  |  |  |
| C.V (%) <sup>2</sup>       | 5.15               | 13.98  | 12.4              | 18.4               | 16.38              | 5.34              |  |  |  |  |

Letras diferentes en la misma columna, indican diferencia estadística (Tukey 5 %).

TRAT: Tratamientos.

HC: Hematocrito.

HB: Hemoglobina. PT: Proteína total.

ALB: Albumina sérica.

ALT: Alanino aminotransferasa.

AST: Aspartato aminotranferasa

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>EHHUt X Edad: Extracto hidroalcohòlico de hojas de Uncaria tomentosa por edad.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>CV: Coeficiente de variación.

Como se puede observar (cuadro 4), sobre perfiles bioquímicos sanguíneos y constantes hematológicas de pollos suplementados con diferentes niveles de extracto hidroalcohólico de hoja de "Uncaria tomentosa" (EHHut) no se encontró diferencias estadísticas significativas (p>0.05) con la inclusión de diferentes niveles de EHHut, pero sí hay diferencias numéricas con respecto a las variables; siendo superior el hematocrito y la proteína total, el T2 con 23.5 ± 2.46% y 2.75 ± 0.42g/dL; para la hemoglobina y albúmina, fue el T3 con 8.92 ± 1.58 y 1.34 ± 0.31g/dL, todos ellos con respecto al T1 que obtuvo resultados de 22.7 ± 2.87%, 2.47 ± 0.51g/dL; 8.24 ± 1.16g/dL y 1.2 ± 0.14g/dL, respectivamente. Con respecto a la alanina aminotransferasa, el T1 (T2 (27.78 ± 4.23UI/L), fue mejor al T4 (24.65 ± 5.46UI/L) y el aspartato amino-transferasa, el T3 (149.13 ± 63.29UI/L) obtuvo mejor resultado que el T2 (133.32 ± 59.26UI/L).

Sin embargo al realizar el análisis de varianza para determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de hojas de uña de gato "Uncaria tomentosa" (EHHut) en sus diferentes concentraciones para la proteína sérica total dentro de las edades (días), no se encontró diferencia estadística significativa (p>0.05), aunque numéricamente si los hubo, como el T4 (240 IC50) 2.74 ± 0.23 a los 42 días y el T3 (160 IC50) 2.99 ± 0.28 en relación a las otros concentraciones, pero con respecto a edades (días) dentro de niveles del extracto hidroalcohólico de hojas de uña de gato "Uncaria tomentosa" (EHHut), si se encuentra más de dos grupos diferenciados estadísticamente (p<0.05).

Cuadro 5. Concentración de proteína sérica en la sangre (g/dL) de acuerdo a Niveles de EHHut y edad (días)

|                | Concentr                 | Concentración de Proteína sérica en la sangre (g/dL) |                            |                            |  |  |  |  |  |
|----------------|--------------------------|--|----------------------------|----------------------------|--|--|--|--|--|
| Edad<br>(días) | Niveles de EHHut         |  |                            |                            |  |  |  |  |  |
|                | T1 (0 IC <sub>50</sub> ) | T2 (80 IC <sub>50</sub> )                            | T3 (160 IC <sub>50</sub> ) | T4 (240 IC <sub>50</sub> ) |  |  |  |  |  |
| 14             | 2.09 ± 0.43 a A          | 2.51 ± 0.42 a A                                      | 2.32 ± 0.43 a A            | 2.74 ± 0.23 a A            |  |  |  |  |  |
| 42             | 2.85 ± 0.21 b B          | 3.00 ± 0.27 b A                                      | 2.99 ± 0.28 b B            | 2.69 ± 0.14 b A            |  |  |  |  |  |

Letras minúsculas diferentes en la misma fila y mayúsculas diferentes en la misma columna, indican diferencia estadística (Tukey 5%)

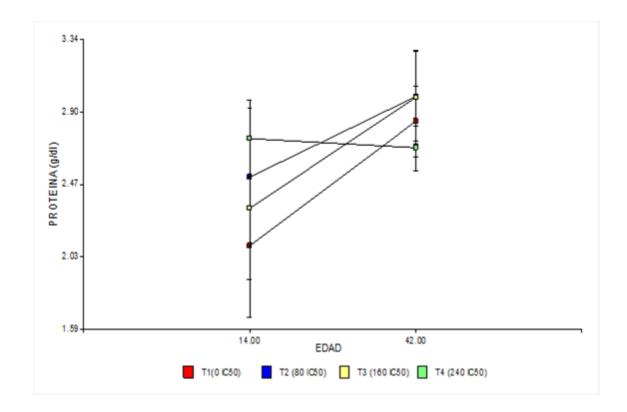


Gráfico 1. Concentración de proteína sérica en la sangre (g/dL) en función a los niveles de EHHut a los 14 y 42 días

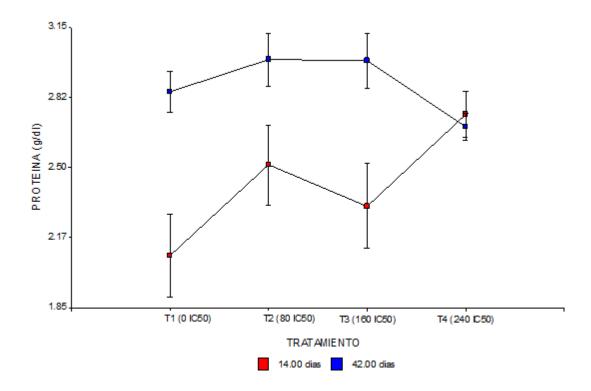


Gráfico 2. Concentración de proteína sérica en la sangre (g/dL) a los 14 y 42 días en diferentes concentraciones de EHHut

4.4. Efecto de la suplementación del extracto hidroalcohólico de hojas de uña de gato "*Uncaria tomentosa*" (EHHut), sobre los parámetros productivos de pollos, evaluados a los 42 días

El Cuadro 6, muestra el consumo diario de alimento (CDA, g), ganancia diaria de peso (GDP, g) y conversión alimenticia (CA), de pollos suplementados con extracto hidroalcohólico de hoja de "*Uncaria tomentosa*" (EHHut) llevados al análisis estadístico a los 42 días evaluados, no se halló diferencia estadística significativa (p>0.05).

Cuadro 6. Promedio ± desviación estándar de ganancia diaria de peso (GDP, g/día), consumo diario de alimento (CDA, g/día) y conversión alimenticia (CA) en pollos suplementados con diferentes niveles de EHHut a los 42 días

| Tratamiento                | CDA (g)       | GDP (g)          | CA              |
|----------------------------|---------------|------------------|-----------------|
| T1 (0 IC <sub>50</sub> )   | 106.88 ± 4.63 | 59.11 ± 0.96     | 1.81 ± 0.07     |
| T2 (80 IC <sub>50</sub> )  | 106.66 ± 3.00 | 59.38 ± 1.80     | $1.80 \pm 0.05$ |
| T3 (160 IC <sub>50</sub> ) | 105.97 ± 2.87 | $60.02 \pm 2.30$ | $1.77 \pm 0.08$ |
| T4 (240 IC <sub>50</sub> ) | 105.73 ± 3.07 | 60.74 ± 2.07     | $1.74 \pm 0.03$ |
| P-valor                    | 0.9335        | 0.5314           | 0.3327          |
| C.V                        | 3.06          | 3.10             | 3.40            |

Letras diferentes dentro de la misma columna para cada índice, indican diferencia estadística (Tukey 5%)

CDA: Consumo diario de alimento (g) GDP: Ganancia diario de peso (g)

CA: Conversión alimenticia

## V. DISCUSIÓN

5.1. Contenido de polifenoles totales del extracto hidroalcohólico de hoja de "Uncaria tomentosa" (EHHut)

Los valores promedio de polifenoles hallados en el extracto hidroalcohólico de hojas de uña de gato "*Uncaria tomentosa*" (EHHut) (Cuadro 2), fue de 54.83 ± 0.31g de EAG/100g de muestra seca, resultados que tiene más del 50% de 100 g son polifenoles; por tanto su capacidad antioxidante es mayor de la sustancia estudiada por su alto contenido de flavonoides y vitamina C, respaldado por CALA Y VÁSQUEZ (2008), quien indica mayor contenido total de polifenoles, mayor capacidad antioxidante. También hay que tener presente, menciona (DROSTI, 2000 y MURILLO *et al.*, 2007) por lo general los polifenoles se ven influenciado por la solubilidad de los polifenoles en compuestos orgánicos como el alcohol, su afinidad química y otros factores como; el lugar de procedencia, propiedades fisicoquímicas, la polaridad del solvente, tiempo de extracción, etc., (ROMERO, 2012).

Comparando con otros estudios los resultados de la cuantificación de polifenoles totales en otras especies; se puede observar que el extracto hidroalcohólico de "*Uncaria tomentosa*" (EHHut), obtuvieron mayores resultados, ESTELO (2003) encontró el contenido de polifenoles en hojas en

dos especies de "chanca piedra", *Phyllanthus urinaria* L. de 7.32 ± 0.05mg AGE/g y *Phyllanthus unrinaria* L. y de 3.010 ± 0.05mg/AGE/g en muestra seca; también DAZA (2004) halló en hojas de *Colycophyllum spruceanum* "capirona", en dos formas de extracción (acetona/agua 2.081 ± 0.282mg/AGE/g y agua a 45°C con 0.318 ± 0.017mg/AGE/g de muestra seca. Así mismo PERDOMO (2009), en hojas de *Ochroma pyramidale* "topa", en extracción hidroalcohólico 2.081 ± 0.282mg/AGE/g y acuoso 0.318 ± 0.017mg/AGE/g de muestra seca. Estos datos son inferiores a lo reportado se debe posiblemente a que la *Uncaria tomentosa*, en su composición están especialmente los flavonoides (quercetina y genisteina) y antocianinos, muestran una gran capacidad para captar radicales libres causantes del estrés oxidativo, KUSKOSKI *et al.*, (2005)

5.2. Coeficiente de inhibición IC<sub>50</sub> (ug/mL) del extracto hidroalcohólico de hoja de una de gato "*Uncaria tomentosa*" (EHHut)

Los resultados obtenidos de la capacidad antioxidante IC<sub>50</sub> frente al radical libre 1,1-diphenyl-2-picrihidrazil (DPPH) es de 16.78 ug/mL del extracto hidroalcohólico de uña de gato demostrando 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 en su composición; cis-epicatequina, procianidinas, ácido oleanolico y ursólico; que tienen una potente actividad como antioxidantes eliminando radicales libres mencionado por (RIZZI y COLS, 1993).

Comparando con SANDOVAL (2012), reporta datos de coeficiente de inhibición al 50% (IC50) de DPPH de 105.03 ug/mL del extracto acuoso atomizado de uña de gato. Notándose que las hojas de uña de gato tienen mayor capacidad exhibidora de los radicales libres, esto se debe quizás a que las hojas contienen mayor cantidad de polifenoles como los flavonoides que actúan potentes antioxidantes, por su parte 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 peroxinitrito, un potente oxidante celular implicado como mediador en diversos procesos inflamatorios. Además, neutraliza el efecto citotóxico de radicales libre como 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH).

5.3. Perfiles bioquímicos sanguíneos y constantes hematológicos, en pollos suplementados con extracto hidroalcohólico de hojas de uña gato (EHHut) en la etapa de inicio, evaluados a los 14 y 42 días

ΕI tiempo de suministro de diferentes niveles extracto hidroalcohólico de "Uncaria tomentosa" (EHHut) a los pollos fue en la etapa de inicio (14 días), cuyas evaluaciones se realizaron a los 14 y 42 días; observándose igualdad estadística en los tratamientos, con respecto a los niveles de albúmina, hematocrito y hemoglobina (ver cuadro 6); aunque numéricamente, la "Uncaria tomentosa" medida que se incrementó los niveles de extracto hidroalcohólico de hojas de (EHHUt) T1 (0 IC50), T2 (80 IC50), T3 (160 IC<sub>50</sub>), también se incrementaron estas variables; estos resultados coinciden con SANDOVAL (2012), quien también encontró un incremento de los niveles de albúmina, hemoglobina y hematocrito, mostrando además diferencia estadística entre sus tratamientos (T1, T2, T3 y T4 μg/mL de extracto acuoso atomizado de uña de gato); asimismo, CABIESES (1997) corrobora que los alcaloides, glicósidos y terpenos presentes en la uña de gato tienen propiedades inmunoestimulantes fortaleciendo el sistema inmunológico, permitiendo la regeneración de células, aun bajo condiciones no favorables. Tampoco se encontró diferencia estadística (p>0.05) para las variables de alanino aminotransferasa y aspartato aminotransferasa.

Los porcentajes de hematocrito (Cuadro 5) de pollos bajo los efectos de los niveles de extracto hidroalcohólico de hojas de "Uncaria tomentosa" (EHHut), son estadísticamente iguales, aunque numéricamente se observa que a medida que se incrementó los niveles de extracto hidroalcohólico de hojas de *Uncaria tomentosa* (EHHut), aumentó el porcentaje de hematocrito; esto se debe a que la uña de gato tiene una potente actividad antioxidante prolongando la vida de los eritrocitos e incrementando los niveles de hematocrito.

Los valores obtenidos en el presente estudio son bajos, y no todos se encuentran dentro del rango normal que es de 23 a 55% (UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA, 2011); esto probablemente se debe a una hiperhidratación (RUÍZ, 1998), debido a la alta densidad de pollos en la que se trabajó (12 pollos/m²) considerando el estrés calórico que se puede producir en la zona. Con respecto a la edad de las aves, los porcentajes de hematocrito fueron estadísticamente diferentes (p<0.05); cuyo valor a la edad de 14 días fue de

21.4%, mientras que a los 42 días subió a 24.5%; esto es respaldado por BAUER (1989), quien menciona que los valores de hematocrito se ven influenciados por la edad, sexo y geografía.

Los valores de hemoglobina obtenidos bajo los efectos de los niveles de extracto hidroalcohólico de hojas de "*Uncaria tomentosa*", son estadísticamente iguales (p>0.05); siendo el T1 el que obtuvo el menor valor numérico comparado al T2, T3 y T4; evidenciando que la incorporación de extracto hidroalcohólico, aumenta el nivel de hemoglobina.

Estos resultados son similares a lo reportado por SANDOVAL (2012), quien encontró un comportamiento similar al suministrar extracto acuoso atomizado de uña de gato en pollos hasta los 42 días. Sin embargo, estos datos difieren con SAAVEDRA (2008) quien encontró una ligera disminución de hemoglobina en aves que recibieron extracto acuoso de corteza de uña de gato en etapa de acabado en comparación a las aves que no la recibieron. Los valores encontrados se encuentran dentro del rango normal que es de 7 a 18.6 g/dL (UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA, 2011).

Con respecto a la edad de las aves, los valores de hemoglobina son estadísticamente diferentes (p<0.05); siendo de 8.2 g/dL a los 14 días, mientras que a los 42 días, aumentó a 8.88 g/dL, este aumento es respaldado por BAUER (1989), quien menciona que la hemoglobina está en relación a la edad, peso corporal y ambiente.

Los niveles de albúmina sérica obtenidos en el presente estudio (Cuadro 6) de pollos bajo los efectos de los niveles de extracto hidroalcohólico "Uncaria tomentosa" (EHHut), son estadísticamente iguales (p<0.05), siendo el T1 quien presentó un valor numérico menor comparado con el T2, T3 y T4; evidenciandose además, un incremento del nivel de albúmina en la sangre a medida que la concentración de extracto hidroalcohólico aumenta; esto se debe a que la uña de gato tiene una gran actividad antiinflamatoria e inmunoestimulante (PERALTA Y ZAMBRANO, 1992). Cabe indicar que los valores obtenidos están dentro del rango normal que van de 1.0 – 2.7g/dL (ARRIETA et al., 2007 y REÁTEGUI, 2012).

Con respecto a la edad del ave, los niveles de albúmina sérica presentan diferencia estadística (p<0.05); observándose que a los 14 días de edad es de 1.17 g/dL; mientras que a los 42 días aumenta a 1.39 g/dL; esto lo corrobora WILLARD *et al.* (2001), señala que los valores bajos de albúmina son normales para animales jóvenes; siendo más altos en la fase adulta.

Los niveles de alanino y aspartato aminotransferasa obtenidos en el trabajo de investigación (Cuadro 5) son estadísticamente iguales (p>0.05); los resultados muestran que no hubo efecto de la "Uncaria tomentosa" sobre estos parámetros bioquímicos. Los resultados obtenidos están dentro de los rangos normales, tal como lo indican ARRIETA et al. (2006) y REATEGUI (2012) que los parámetros de ALT y AST son de 3.38 a 80.4 UI/L y 89.6 a 243.21 UI/L respectivamente. Con respecto a la edad, los niveles de alanina aminotranferasa son estadísticamente diferentes (p<0.05); encontrándose que

el valor a los 14 días es de 29.36 UI/L y a los 42 días es 23.92 UI/L; lo cual difiere con SANDOVAL (2012), quien indica que los pollos suplementados con extracto acuoso atomizado de uña de gato hasta los 42 días alcanzan niveles de ALT de 32.45 UI/L; considerando que a los 21 días este valor es más bajo (3.87 UI/L).

Con respecto a la edad, los niveles de aspartato aminotranferasa obtenidas son estadísticamente diferentes (p<0.05); observándose que el valor a los 21 días de edad es de 86.13 UI/L y a los 42 días es de 192.17 UI/L; sin embargo SANDOVAL (2012), indica que los pollos suplementados con extracto acuoso atomizado de uña de gato a los 14 días alcanza un valor de AST de 124.02 UI/L, mientras que a los 42 días dicho valor sube a 244.62 UI/L. Es necesario mencionar además, que los valores de ALT encontrados están dentro de los parámetros normales.

En el cuadro 5, se muestra el desdoblamiento de dos factores: Niveles de extracto hidroalcohólico de hojas de "*Uncaria tomentosa*" y edad (días) para la proteína sérica, notándose igualdad significativa (p>0.05) en niveles de EHHut dentro de edades (días), mientras que en edades dentro de niveles de EHHut, se muestra dos grupos diferenciados estadísticamente (p<0.05), observándose que el valor de la proteína total sérica aumenta a medida que la edad de los pollos aumenta; por su parte EVANS y DUNCAN (2005), mencionan que en las aves hay cambios relacionados con la edad en las concentraciones de proteínas séricas y plasmáticas, existiendo diferencias significativas entre especies.

5.4. Efecto de la suplementación del extracto hidroalcohólico de hojas de uña de gato "Uncaria tomentosa" (EHHut), sobre los parámetros productivos de pollos evaluados a los 42 días

En la evaluación de los parámetros productivos, consumo de alimento diario (CAD, g), ganancia de peso (GDP, g) y conversión alimenticia (CA), de pollos suplementados con extracto hidroalcohólico de hojas de "Uncaria tomentosa" (EHHut) (ver cuadro 6) no se observaron diferencias significativas (p>0.05) para las variables evaluadas.

Sin embargo numéricamente se observa que el tratamiento con mayor inclusión T4 IC<sub>50</sub> de extracto hidroalcohólico de hojas de "*Uncaria tomentosa*" (EHHut), suministrada en agua de bebida las primeras dos semanas tuvo la mayor ganancia de peso diario y la mejor conversión alimenticia, ya que la uña de gato tiene componentes bioactivos que se comportan como antioxidantes y antiinflamatorios haciendo que el pollo mejore sus condiciones metabólicas e inmunológicas (SANDOVAL *et al.*, 1998).

SANDOVAL (2012) determino la capacidad antioxidante del extracto atomizado de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) sobre parámetros productivos en pollos de carne hasta los 42 días de edad de pollos Cobb Vantres 500 obteniendo ganancias de peso totales 2.770 kg por pollo; consumo de alimento de 4.430 kg y conversión alimenticia de 1.63, comparado con los resultado obtenidos son diferentes, demostrando que son mejores, esto se debe a que trabajo con 5 pollos por metro cuadrado y con sustrato atomizado.

El rendimiento productivo recomendado para 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 (COBB – VANTRESS 500, 2012); estos datos difieren con los obtenidos en el presente trabajo de investigación (Cuadro 6), probablemente debido a la alta densidad con la que se trabajó (12 pollo/m²), y las altas temperaturas del trópico en los cuales también influye los diversos factores de zona. Hay que resaltar también que los parámetros productivos se ven influenciados por la edad, raza, y manejo como indica (OJEDA, 2012).

### VI. CONCLUSIONES

- Al adicionar 80, 160 y 240 del coeficiente de inhibición del IC<sub>50</sub> (16. 78 ug/mL) del extracto hidroalcohòlico de hojas de "Uncaria tomentosa" (EHHut) en pollos fase inicio, sobre perfiles bioquímicos, constantes hematológicas y parámetros productivos, no se encontró diferencia significativa por tanto se rechaza la hipótesis planteada.
- 2. El coeficiente de inhibición (IC<sub>50</sub>) frente al radical libre 1,1-diphenyl-2-picrilhidrazil (DPPH) es de 16.78 ug/mL y el contenido de polifenoles totales es de 54.83 ± 0.31g de AGE/100 g de muestra seca del extracto hidroalcohòlico de hoja de uña de gato "Uncaria tomentosa" (EHHut).
- 3. Para los perfiles bioquímicos y constantes hematológicos tales como: albumina, hemoglobina, hematocrito, alanino aminotransferasa y aspartato aminotranferasa, no se encontraron diferencias estadísticas, mientras que en proteína sérica, se vio influenciada por el extracto hidroalcohólico de hojas de "Uncaria tomentosa" (EHHut) en la etapa de inicio, evaluados a los 14 y 42 días.
- 4. Los niveles del extracto hidroalcohólico de hojas de "Uncaria tomentosa" (EHHut), no tuvieron influencia sobre los parámetros productivos, por ende no se observaron diferencias significativas (p>0.05) para las variables evaluadas: ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia, de pollos evaluados a los 42 días.

### VII. RECOMENDACIONES

- Realizar más investigaciones con extracto hidroalcohólico de hojas de uña de gato "Uncaria tomentosa" (EHHut), con otros niveles y en otras especies animales.
- Utilizar el extracto hidroalcohólico de hojas de uña de gato "Uncaria tomentosa" (EHHut), hasta los 35 días de edad, considerando la densidad de pollos/m² recomendable para la zona.
- Realizar investigaciones con hojas de uña de gato en distintas presentaciones (extracto atomizado, liofilizado, infusión, etc.) para generar mayor información.

#### VIII. ABSTRACT

The experiment took place in the laboratory of the Amazon Natural Products Research Center (CIPNA-acronym in Spanish), in the Farm and Zoology Investigation and Training Research Center, and in the Animal Health Laboratory (LSA - Acronym in Spanish) at the National Agrarian University of the Jungle in the Leoncio Prado province, Huánuco region, Peru. The objective was to evaluate the antioxidant effect of Cat's Claw leaves (*Uncaria tomentosa*) on the biochemical profile, hematologic constants and productive parameters in Cobb 500 meat chickens when supplemented during the initial phase, until the 14th day, and then evaluated at forty two days of age. One hundred chickens from one to forty two days of age with an average weight of 43.64 g were used. The hydro alcoholic extract from the leaves of *Uncaria tomentosa* (EHHUt – acronym in Spanish) was added to the drinking water at levels of 0, 80, 160 and 240 IC 50 in the T1 (control), T2, T3 and T4 respectively. The DCA (acronym in Spanish) with a factorial arrangement of 4x2 was used and the following results were achieved between fourteen and forty days of age: the hematocrit was (21.4 y 24.50%), the hemoglobin was (8.21 y 8.88 g/dL), the serum protein was (2.42 y 2.88 g/dL), the aspartate was (86.13 y 192.17 UI/L), the alanine was (29.36 y 23.92 UI/L) and the albumin was (1.17 y 1.39 g/dL) for T1, T2, T3 and T4 respectively. With regards to the productive parameters which were evaluated at forty two days of age, no significant statistical difference was found (p>0.05). The average result for daily food consumption was (106.31 g), for daily weight gain was (59.81 g), and for food conversion was (1.78). In conclusion, no statistical differences were found with the inclusion of EHHUt through the 14th day when evaluated at forty two days of age. The T3 had the best results with the exception of the serum protein of the T2 (80 IC 50) with 2.75±0.42 and influenced the trial of the interaction by ages.

Key Words: Cat's Claw, Inhibition Coefficient, Poly phenols, Biochemical Blood Profiles, Hydro Alcoholic Extract

# IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍCAS

- ANGULO, P., VARGAS, L., RODRÍGUEZ, A., OSCANOA, J. 2005. *Uncaria tomentosa* willd DC. Uña de gato aumenta la producción de óxido nítrico en ratones con endotoxemia por lipopolisacáridos. Rev. Cien. Vet. Lima, Perú. v. 21 (2) 3-5p.
- ARRIETA, D., PÉREZ, M., GÓMEZ, C., MOLERO, G., NOVOA, RINCÓN, H., ASCANEO, E. 2006. Efecto del alimento contaminado con aflatoxina (0,07 Mg/Kg), sobre la morfología hepática y actividad enzimática sérica (AST y ALT), en pollos de engorde. 145p.
- ARRIETA, D., PÉREZ, M., J. 2007. Alteraciones histológicas hepáticas e incremento de proteínas séricas en pollos de engorde alimentados con dietas suplementadas con Saccharomyces cerevisiae. SCIELO (www.scielo.org.ve/pdf/ic/v48n4/art04.pdf).
- BAUER, J. D. 1989. Clinical Chemistry, theory, Analisys, and Correlation. Ed. Mosby. Madrid, España. 513-517p.

- BENDICH, A. 1993. Physiological role of antioxidants in the immune system.

  Symposium: Antioxidants, immune response and animal function. J.

  Dairy Sci. Pp. 2789 2794.
- BOWES, V., JULIAN, R., STIRTZINGER, T. 2000. Comparison of serum biochemical profiles of male broilers with female broilers and white leghorn chickens can J Vet Res 53:7-11p.
- CABIESES, F. 1997. La uña de gato y su entorno. 2 ed. Universidad San Martín de Porres, Lima. 231p.
- CALA, M. y VÁSQUEZ, A. 2008. Estudio comparativo por electroforesis capilar y cromatografía líquida de alta eficiencia de catequinas extraídas de plantas de la familia Labiaceae y determinación de su actividad antioxidante. Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. 151p.
- CALLO, N., HINOSTROZA, R., LOCK DE UGAZ., O. 1997. Constitues of uncaria guianensis and *Uncaria tomentosa*. Bol. Soc. Quim. Perú. Pp. 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. Tesis Ing. Zootecnista. Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María. Huánuco-Perú. 52p.

- COBB-VANTRES 500. 2012. Suplemento informativo sobre rendimiento y nutrición de pollos d engorde. 14p.
- DAZA, E. 2004. Polifenoles totales y capacidad antioxidante en Calycophyllum s. "capirona". Tesis Ing. En Recursos Naturales Renovables, Mención Forestales. Universidad Nacional Agraria de la Selva-Perú. 71p.
- DREOSTI, I. 2000. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine nutrition. 16 (7/8): 692-694p.
- DUKES, H. y SWENSON, M. 1981. Fisiología de los animales domésticos. 1° edición Ciudad de México D.F., FOCET. Universal S.A. 1054p.
- ESTELO, Q. 2003. Contenido de fenoles en chanca piedra. Tesis para optar el título de Ingeniero de Recursos Naturales. Tingo María, Universidad Nacional Agraria de la Selva, Perú. 55p.
- EVANS, E. y DUNCAN, R. 2005. Proteínas, lípidos y carbohidratos. Patología clínica veterinaria, Multimédica ediciones veterinarias-Barcelona. 1199 235p.
- FRANKEL, 1995. Productos naturales de origen vegetal: una alternativa a los aditivos antimicrobianos en alimentación animal.
- GALVEZ, C., RAMIREZ, G., OSORIO, J. 2009. El laboratório clínico en hematologia de aves exóticas. Rev. Bio salud. Vol.8, 178-188p.

- GONZÁLES, M., BETANCOURT. M., ORTIZ, 2000. Daño oxitativo y antioxidante bioquímica. 25 (1): 3-9 p.
- HALLIW EL, B. 1994. Free radicals and antioxidants: A personal view. Nutr. Rev. 52: 253-265p.
- HOMEOVITA. 2008. Uña de gato, [www.homeovita.com.uy/fichas/ uña de gato.pdf], documento, 21 de enero. 2015.
- HUERTA, M., ORTEGA, M., COBOS, M., 2004. Estrés oxidativo y el uso de antioxidantes en animales domésticos. 215 p.
- JONES, P. 1999. Avian Clinical pathology. Vet Clin North Am. 2: 663-685p.
- KANEKO, J., HARVEY, J. BRUSS, M. 1997. Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 5 ed., San Diego, Academic Press, 932p.
- KEPLINGER, K. 2000. Oxindole Alkaloids Having the Properties Stimulating

  The Immunologic System. J. Of Pharmacology.u.s.patent. 4 ed. USA.

  156p.
- KUSKOSKI, M., ASUERO, A., GARCÍA-PARILLA, C., TRONCOSO, A., FETT, R. 2004. Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. Departamento de Análisis Químico y Departamento de Bioquímica, Bromatología y Toxicología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. Vol. 24 Nº 4.

- LEMAIRE, I., ASSINEWWE, V., CANO, P., AWING, D., ARNASON, J. 1999.

  Stimulation of interleukin and production in alveolar macrophagens by the neotropicalliana, *Uncaria tomentosa*.j. ethopharmacol. 64:109-115p.
- LOPEZ, J. 2014. Análisis bioquímicos. [En linea]: TUOTROMEDICO, (http://www.tuotromedico.com/indiceanalisis.htm.documentos), 15 de septiembre 2015.
- MARTÍNEZ, V., PERIAGO, M., ROS, G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Archivos latinoamericanos de nutrición. Órgano oficial de la Sociedad latinoamericano de nutrición. 5 -15p.
- MATEO, R. 2006. El valor de hematocrito. MAILXMAIL (http://www.mailxmail.com/curso-analisis-clinicos-rutina/valor-hematocrito, documentos, 27 abr.2015).
- MONTANE, J. 2002. Valoración del estrés captura, trasporte y manejo en el corzo (Capreolus Capreolus): Efecto de acepromacina y de la cautividad. Tesis. Universidad Autónoma de Barcelona, España. 167 p.
- MURILLO, E., LOMBO, O., TIQUE, M., MÉNDEZ, M. 2007. Potencial antioxidante de Bauhinia kalbreyeri harms. (FABACEAE). Información Tecnológica, 18 (6): 65-74p.

- PERALTA, M., ZAMBRANO, H. 1999. Efecto antiinflamatoria del extracto glucósido de "Uña de gato". Tesis. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú. 80p.
- PERDOMO, A. 2009. Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante en extractos acuosos e hidroalcohólico de hojas y corteza de Ochroma pyramidele (Cav. Ex Lam.) Urban "topa". Tesis, Facultad de Recursos Naturales Renovables, Mención Forestales, Universidad Nacional Agraria de la Selva-Perú.
- REÁTEGUI, R. 2012. Efecto de diferentes niveles de torta de sacha inchi (Plukenetia volúbilis L) precocida sobre el hígado y el perfil bioquímico sanguíneo en pollos de carne. Tesis Ing. Zootecnista. Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María Perú. 85p.
- RIZZ y COLS, 1993. Capacidad antioxidante del extracto acuoso de atomizado frente al radical 1,1-difenil-2-picrihidrazil (DPPH).
- ROBLES, M., GORINSTEIN, SH., MARTÍN, O., ASTIAZARÁN, H., GONZÁLEZ, G., CRUZ, R. 2007. Frutos tropicales mínimamente procesados: potencial antioxidante y su impacto en la salud. 227-32p.
- RODRIGUES, J.; MENENDEZ, J; TRUJILLO, Y. 2001. Radicales Libres En La Biomedicina Y Estrés Oxidative.2001.Instituto superior de medicina military" Dr Luis Días Soto".Rev. cubana med milit 2001;30(1)36-44p.

- ROMERO, R. 2012. Cuantificación de Polifenoles en hojas en una de gato (Willd. ex Schult) DC provenientes de tres localidades en Ucayali. Lima-Perú. Facultad de Forestales, Universidad Nacional Agraria la Molina. 107p.
- RUÍZ, G. 1998. Fundamentos de hematología. 2 ed. Editorial Médica Panamericana. México. 125p.
- 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.38p.
- 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. 79p.
- SANDOVAL, M., THOPSON. JH., ZHANG, J. 2000. Antiiflammatory actions of cat Sclaw: The role of aliment pharmacol. 12:1279-1289p.
- SHARMA, H.K., CHHANGTE, L., y DOLUI, A.K. 2001. Traditional medicinal plants in Mizoram, India. Fitoterapia 72:146-161p.
- UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA. 2012. Valores hematológicos normales. [En línea]: CEA.UNIZAR.ES (http://cea.unizar.es/Disenosexperimentales /sangre/VALORES%20HEMATOLOGICOS.pdf. Documento. 15 de abril del 2015).



Anexo 1. Curva patrón de ácido gálico para determinar el contenido de polifenoles totales.

| Concentración de     |       | Absorbancia |       |  |  |  |  |
|----------------------|-------|-------------|-------|--|--|--|--|
| ácido gálico (mg/ml) | R1    | R2          | R3    |  |  |  |  |
| 1000 ug/mL           | 0.032 | 0.045       | 0.037 |  |  |  |  |
| 800 ug/mL            | 0.062 | 0.062       | 0.062 |  |  |  |  |
| 600 ug/mL            | 0.173 | 0.175       | 0.167 |  |  |  |  |
| 400 ug/mL            | 0.35  | 0.343       | 0.33  |  |  |  |  |
| 200 ug/mL            | 0.509 | 0.514       | 0.51  |  |  |  |  |
| 100 ug/mL            | 0.619 | 0.696       | 0.698 |  |  |  |  |
| 50 ug/mL             | 0.836 | 0.899       | 0.885 |  |  |  |  |

Gráfico 3. Determinación de la ecuación lineal para determinar el contenido de polifenoles totales.

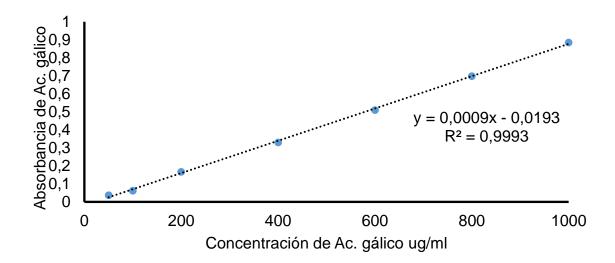
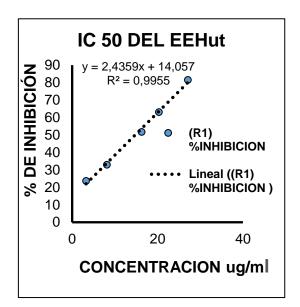
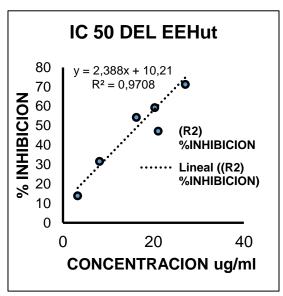
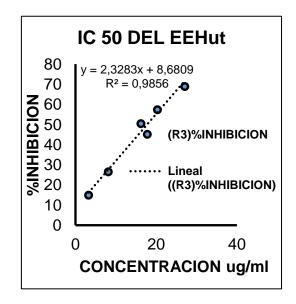
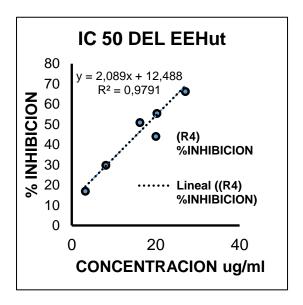


Gráfico 4. Regresión lineal simple para determinar el IC<sub>50</sub> del extracto hidroalcohólico de hojas de "*Uncaria tomentosa*" (EHHut) de cada repetición.









Anexo 2. Cuadro de absorbancias (515nm) y porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de hojas de uña gato "Uncaria tomentosa" (EHHut), al reaccionar con el radical (1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl) DPPH (100uM)

| FD | Concentración   |       | Absorbancia (515 nm) |       |       |       | % Inhibición |       |       |  |
|----|-----------------|-------|----------------------|-------|-------|-------|--------------|-------|-------|--|
|    |                 | R1    | R2                   | R3    | R4    | R1    | R2           | R3    | R4    |  |
| 6  | 130.00 (ug/mL)  | 0.720 | 0.796                | 0.786 | 0.768 | 23.65 | 13.85        | 14.94 | 16.88 |  |
| 8  | 325.00 (ug/mL)  | 0.632 | 0.632                | 0.679 | 0.649 | 32.98 | 31.60        | 26.52 | 29.76 |  |
| 10 | 650.00 (ug/mL)  | 0.455 | 0.423                | 0.458 | 0.454 | 51.75 | 54.22        | 50.43 | 50.87 |  |
| 20 | 812.50 (ug/mL)  | 0.348 | 0.376                | 0.394 | 0.412 | 63.10 | 59.31        | 57.36 | 55.41 |  |
| 50 | 1083.33 (ug/mL) | 0.174 | 0.266                | 0.288 | 0.312 | 81.55 | 71.21        | 68.83 | 66.23 |  |

FD: Factor de dilución

Anexo 3. Datos de perfiles bioquímicos y constantes hematológicas de pollos suplementados con diferentes niveles de EHHut, evaluados a los 14 y 42 días de edad

| TRAT.      | EDAD     | PT           | ALB.         | HC (%)   | HB<br>(r/-II) | ALT           | AST              |
|------------|----------|--------------|--------------|----------|---------------|---------------|------------------|
|            |          | (g/dL)       | (g/dL)       | ` ,      | (g/dL)        | (UI/L)        | (UI/L)           |
| T1<br>T1   | 14<br>14 | 1.42<br>2.27 | 1.05<br>1.23 | 19<br>22 | 6.9<br>6.73   | 31.25<br>27.5 | 92.90<br>92.90   |
| T1         | 14       | 1.95         | 0.97         | 23       | 7.73          | 36            | 101.10           |
| † †<br>†1  | 14       | 2.56         | 1.28         | 21       | 6.93          | 26            | 64.50            |
| †¦         | 14       | 2.26         | 1.04         | 21       | 10.06         | 28            | 64.50            |
| T2         | 14       | 2.23         | 1.13         | 22       | 8.24          | 24.75         | 101.10           |
| T2         | 14       | 2.5          | 1.07         | 23       | 7.2           | 25            | 62.00            |
| T2         | 14       | 2.23         | 1.31         | 20       | 7.28          | 24.5          | 100.67           |
| T2         | 14       | 3.23         | 1.42         | 23       | 9.07          | 37            | 58.37            |
| T2         | 14       | 2.36         | 1.12         | 23       | 11.19         | 35.5          | 82.11            |
| T3         | 14       | 1.59         | 1.11         | 20       | 9.7           | 32.92         | 104.56           |
| Т3         | 14       | 2.71         | 1.16         | 24       | 7.67          | 28.3          | 122.69           |
| Т3         | 14       | 2.33         | 1            | 22       | 7.51          | 25            | 59.50            |
| Т3         | 14       | 2.42         | 1.15         | 20       | 7.25          | 26.5          | 74.34            |
| T3         | 14       | 2.55         | 1.14         | 24       | 11.21         | 36.5          | 117.07           |
| <u>T4</u>  | 14       | 2.54         | 1.22         | 22       | 7.55          | 22.5          | 95.49            |
| T4         | 14       | 2.63         | 1.07         | 20       | 9.38          | 33            | 73.91            |
| T4         | 14       | 3.13         | 1.29         | 21       | 7.08          | 31            | 101.10           |
| T4         | 14       | 2.78         | 1.34         | 19       | 7.29          | 27.25         | 54.50            |
| <u>T4</u>  | 14       | 2.63         | 1.34         | 19       | 8.23          | 28.75         | 99.38            |
| T1         | 42       | 2.67         | 1.28         | 25       | 8.65          | 31.5          | 210.74           |
| T1         | 42       | 2.97         | 1.34         | 23       | 8.86          | 28            | 161.97           |
| T1<br>T1   | 42<br>42 | 2.86<br>2.61 | 1.36<br>1.31 | 24<br>20 | 9.66          | 23<br>22.75   | 184.84<br>205.56 |
| T1         | 42<br>42 | 3.13         | 1.09         | 20<br>29 | 8.53<br>8.32  | 23.75         | 214.63           |
| T2         | 42       | 3.19         | 1.48         | 29       | 10.16         | 24.15         | 166.71           |
| T2         | 42       | 3.19         | 1.46         | 29       | 9.76          | 23            | 164.99           |
| T2         | 42       | 2.54         | 1.21         | 24       | 7.79          | 24.15         | 183.55           |
| T2         | 42       | 3.23         | 1.42         | 26       | 7.45          | 22.75         | 187.86           |
| T2         | 42       | 3.02         | 1.6          | 23       | 8.46          | 28            | 225.85           |
| T3         | 42       | 2.9          | 2.01         | 24       | 10.84         | 24.5          | 240.96           |
| T3         | 42       | 3.26         | 1.59         | 26       | 10.83         | 35.5          | 234.05           |
| Т3         | 42       | 2.93         | 1.45         | 26       | 8.59          | 20.5          | 190.45           |
| Т3         | 42       | 2.6          | 1.2          | 20       | 8.2           | 28.5          | 165.42           |
| T3         | 42       | 3.27         | 1.55         | 25       | 7.37          | 14.25         | 182.25           |
| T4         | 42       | 2.82         | 1.41         | 24       | 8.53          | 21            | 197.79           |
| <u>T</u> 4 | 42       | 2.77         | 1.48         | 23       | 8.3           | 26            | 180.53           |
| <u>T</u> 4 | 42       | 2.48         | 1.13         | 31       | 9.89          | 16.5          | 189.16           |
| <u>T4</u>  | 42       | 2.74         | 1.4          | 22       | 8.12          | 22.5          | 182.00           |
| <u>T4</u>  | 42       | 2.62         | 1.15         | 24       | 9.36          | 18            | 174.05           |

Datos de parámetros productivos de pollos suplementados con Anexo 4. diferentes niveles de EHHut, evaluados hasta los 42 días de edad.

| TRAT. | REP | PI (g) | PF (g)  | GPD (g) | CAD (g) | CA   |
|-------|-----|--------|---------|---------|---------|------|
| T1    | R1  | 45.4   | 2500.40 | 58.45   | 104.73  | 1.79 |
| T1    | R2  | 45.2   | 2559.40 | 59.86   | 103.95  | 1.74 |
| T1    | R3  | 43.7   | 2548.00 | 59.63   | 117.42  | 1.97 |
| T1    | R4  | 41.4   | 2467.20 | 57.76   | 103.49  | 1.79 |
| T1    | R5  | 41.5   | 2556.20 | 59.87   | 107.56  | 1.80 |
| T2    | R1  | 49.6   | 2612.50 | 61.02   | 108.73  | 1.78 |
| T2    | R2  | 41.5   | 2581.25 | 60.47   | 114.45  | 1.89 |
| T2    | R3  | 41.3   | 2437.25 | 57.05   | 103.86  | 1.82 |
| T2    | R4  | 45.1   | 2474.50 | 57.84   | 105.52  | 1.82 |
| T2    | R5  | 42.2   | 2583.75 | 60.51   | 107.09  | 1.77 |
| T3    | R1  | 49     | 2553.40 | 59.63   | 104.32  | 1.75 |
| Т3    | R2  | 42.8   | 2522.50 | 59.04   | 110.51  | 1.87 |
| Т3    | R3  | 39.9   | 2659.50 | 62.37   | 105.00  | 1.68 |
| Т3    | R4  | 41.2   | 2430.20 | 56.88   | 105.16  | 1.85 |
| Т3    | R5  | 42     | 2653.50 | 62.18   | 112.71  | 1.81 |
| T4    | R1  | 47.2   | 2562.60 | 59.89   | 105.89  | 1.77 |
| T4    | R2  | 41.2   | 2506.67 | 58.70   | 107.06  | 1.82 |
| T4    | R3  | 43.1   | 2714.75 | 63.61   | 111.08  | 1.75 |
| T4    | R4  | 47.2   | 2538.20 | 59.31   | 103.20  | 1.74 |
| T4    | R5  | 42.2   | 2653.50 | 62.17   | 109.44  | 1.76 |

PI (g): Peso inicial en gramos. PF (g): Peso final en gramos. GDP (g): Ganancia de peso diario en gramos. CAD (g): Consumo diario de alimento en gramos.

CA: Conversión alimenticia.

Anexo 5. Análisis de varianza del hematocrito.

| Fuentes de variación        | SC   | GL | CM   | F - valor p-va | lor |
|-----------------------------|------|----|------|----------------|-----|
| EDAD                        | 1.02 | 1  | 1.02 | 16.83 0.00     | 003 |
| Concentración EHHut         | 0.07 | 3  | 0.02 | 0.39 0.7       | 59  |
| EDAD*Concentración de EHHut | 0.09 | 3  | 0.03 | 0.51 0.68      | 309 |
| Error                       | 1.94 | 32 | 0.06 |                |     |
| Total                       | 3.12 | 39 |      |                |     |

Anexo 6. Análisis de varianza de Proteína total sérica.

| Fuentes de variación        | SC   | GL | CM   | F - valor | p-valor |
|-----------------------------|------|----|------|-----------|---------|
| EDAD                        | 2.16 | 1  | 2.16 | 21.04     | 0.0001  |
| Concentración EHHut         | 0.47 | 3  | 0.16 | 1.54      | 0.2242  |
| EDAD*Concentración de EHHut | 1    | 3  | 0.33 | 3.24      | 0.0349  |
| Error                       | 3.29 | 32 | 0.1  |           |         |
| Total                       | 6.92 | 39 |      |           |         |

Anexo 7. Análisis de varianza de Albúmina.

| Fuentes de variación        | SC   | GL | CM   | F - valor p-valor |
|-----------------------------|------|----|------|-------------------|
| EDAD                        | 0.48 | 1  | 0.48 | 18.99 0.0001      |
| Concentración EHHut         | 0.11 | 3  | 0.04 | 1.5 0.2326        |
| EDAD*Concentración de EHHut | 0.2  | 3  | 0.07 | 2.66 0.065        |
| Error                       | 0.81 | 32 | 0.03 |                   |
| Total                       | 1.6  | 39 |      |                   |

Anexo 8. Análisis de varianza de Hemoglobina

| Fuentes de variación        | SC      | GL | CM      | F - valor | p-valor |
|-----------------------------|---------|----|---------|-----------|---------|
| EDAD                        | 0.0012  | 1  | 0.0012  | 4.27      | 0.047   |
| Concentración EHHut         | 0.00039 | 3  | 0.00013 | 0.47      | 0.7063  |
| EDAD*Concentración de EHHut | 0.0004  | 3  | 0.00013 | 0.47      | 0.7025  |
| Error                       | 0.01    | 32 | 0.00028 |           |         |
| Total                       | 0.01    | 39 |         |           |         |

Anexo 9. Análisis de varianza de ALT

| Fuentes de variación        | SC      | GL | СМ     | F - valor | p-valor |
|-----------------------------|---------|----|--------|-----------|---------|
| EDAD                        | 296.59  | 1  | 296.59 | 12.34     | 0.0013  |
| Concentración EHHut         | 56.74   | 3  | 18.91  | 0.79      | 0.51    |
| EDAD*Concentración de EHHut | 19.1    | 3  | 6.37   | 0.26      | 0.8502  |
| Error                       | 769.06  | 32 | 24.03  |           |         |
| Total                       | 1141.49 | 39 |        |           |         |

Anexo 10. Análisis de varianza de AST

| Fuentes de variación        | SC       | GL | CM     | F - valor | p-valor |
|-----------------------------|----------|----|--------|-----------|---------|
| EDAD                        | 112431   | 1  | 112431 | 216.54    | <0.0001 |
| Concentración EHHut         | 1526.04  | 3  | 508.68 | 0.98      | 0.4145  |
| EDAD*Concentración de EHHut | 201.81   | 3  | 67.27  | 0.13      | 0.9418  |
| Error                       | 16614.74 | 32 | 519.21 |           |         |
| Total                       | 130773.6 | 39 |        |           |         |