

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**

**FACULTAD DE ZOOTECNIA**

**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIAS PECUARIAS**



**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**

**Para optar el título de:**

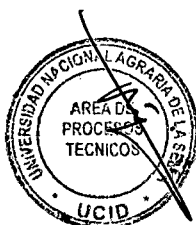
**INGENIERO ZOOTECNISTA**

**CHRIS LADY SANDOVAL CUEVA**

**PROMOCIÓN 2010 - II**

**Tingo María – Perú**

**2012**



**L51**

**S21**

**Sandoval Cueva, Chris Lady**

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 - Tingo María 2012

77 páginas.; 07 cuadros; 03 fgrs.; 51 ref.; 30 cm.

Tesis (Ingeniero Zootecnista) Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de Zootecnia.

- |                        |                     |                       |
|------------------------|---------------------|-----------------------|
| <b>1. ANTIOXIDANTE</b> | <b>2. ATOMIZADO</b> | <b>3. UÑA DE GATO</b> |
| <b>4. BIOQUÍMICOS</b>  | <b>5. EXTRACTO</b>  | <b>6. POLLOS</b>      |



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
**FACULTAD DE ZOOTECNIA**

Av. Universitaria Km. 2 Teléfono: (062) 561280  
TINGO MARÍA

"Año de la Integración Nacional y el Reconocimiento de nuestra Diversidad"

## **ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**


Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 03 de Diciembre de 2012, a horas 7:00 p.m. para calificar la tesis titulada:

**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.**

Presentada por la Bachiller **Chris Lady SANDOVAL CUEVA**; después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara aprobada con el calificativo de "**EXCELENTE**".

En consecuencia, la sustentante queda apta para optar el **TÍTULO DE INGENIERO ZOOTECNISTA**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para la otorgación del título, de conformidad con lo establecido en el Artículo 95, inciso "i" del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 14 de Diciembre de 2012

  
-----  
**MSc. JUAN LAO GONZALES**  
Presidente



  
-----  
**MSc. TULITA ALEGRIA GUEVARA**  
Miembro

  
-----  
**Ing. WAGNER VILLACORTA LÓPEZ**  
Miembro

  
-----  
**Dr. DANIEL PAREDES LÓPEZ**  
Miembro - Asesor

## DEDICATORIA

A Dios.

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado la fuerza espiritual para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi madre Nelly.

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada por su amor.

A mi padre Luis.

Por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

A mis hermanos.

Karol, Luis y Patricia, por su cariño, comprensión y permanente aliento de apoyo en todo momento, los quiero mucho.

A mi tía Eloísa.

Con todo cariño por su permanente aliento, y apoyo incondicional. Siempre ocuparás un lugar importante en mi vida.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Agraria de la Selva y a la Facultad de Zootecnia por formarme profesionalmente.

A mis asesores de tesis, Dr. Daniel Paredes López y Dr. Rizal Robles Huaynate, por su aporte intelectual compartida en todo momento de la investigación, por su gran ayuda, dedicación y paciencia que han permitido la elaboración de la tesis.

Mi tío, PhD. Manuel Sandoval por el apoyo continuo, mi Maestro en el estudio y la investigación, por su paciencia, motivación, entusiasmo y conocimiento inmenso.

A todos los docentes de la Facultad de Zootecnia por sus enseñanzas brindadas.

A Jean Paul Díaz, por el apoyo brindado durante la realización de la tesis; gracias por todo.

A mi amiga Rocío Lázaro por todos los momentos gratos que vivimos.

A mis amigos: Lesly Ccori, Sadith De La Cruz, Yessenia Montesinos, Roxana Lázaro, Miguel Rojas y Sergio Liberato; con quienes compartimos momentos agradables e inolvidables durante nuestros años de universitarios.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1. Aspectos botánicos de la uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> WILLD. DC.).....	5
2.2. Composición química de la uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> WILLD. DC.).....	7
2.3. Actividades farmacológicas de la uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> ).....	8
2.4. Radicales libres.....	11
2.5. Estrés oxidativo.....	12
2.6. Antioxidante.....	13
2.7. Mecanismos de respuestas inmunitarias.....	14
2.8. Perfiles bioquímicos sanguíneos.....	15
2.8.1. Aspartato aminotransferasa (AST) y alanino aminotransferasa (ALT).....	16
2.8.2. Proteína total sérica y albumina sérica.....	18
2.8.3. Hemoglobina y hematocrito.....	20
2.9. Parámetros productivos en pollos de carne.....	23
2.10. Proceso de atomización .....	23
2.10.1. Ventajas del extracto acuoso atomizado de uña de gato ( <i>Uncaria tomentosa</i> ).....	24
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
3.1. Lugar y fecha de ejecución.....	26
3.2. Tipo de investigación.....	27
3.3. Ensayo 1.....	27
3.3.1. Instalaciones y equipos.....	27

3.3.2. Insumo en estudio.....	27
3.3.3. Atomizado de la muestra.....	28
3.3.4. Variable independiente.....	29
3.3.5. Tratamientos.....	29
3.3.6. Variable dependiente.....	29
3.3.7. Metodología.....	29
3.3.7.1. Preparación del extracto acuoso.....	29
3.3.7.2. Prueba del radical DPPH.....	30
3.3.8. Análisis estadístico.....	32
3.4. Ensayo 2.....	33
3.4.1. Animales.....	33
3.4.2. Instalaciones y equipos.....	34
3.4.3. Alimento y alimentación.....	35
3.4.4. Sanidad.....	35
3.4.5. Metodología.....	36
3.4.5.1. Perfiles bioquímicos y constantes hematológicas	36
3.4.5.2. Parámetros productivos.....	39
3.4.6. Variable independiente.....	41
3.4.7. Tratamientos.....	41
3.4.8. Croquis de distribución de tratamientos.....	42
3.4.9. Análisis estadísticos.....	42
3.4.10 Variables dependientes.....	44
IV. RESULTADOS.....	46
4.1. Actividad antioxidante del extracto acuoso atomizado de uña de gato sobre el radical libre 1,1-diphenyl-2-picrilhydrazil (DPPH).....	46
4.2. Efecto de la suplementación del extracto acuoso atomizado de uña de gato sobre los perfiles bioquímicos sanguíneos.....	49

4.3. Efecto de la suplementación del extracto acuoso atomizado de uña de gato sobre los parámetros productivos de pollos.....	51
V. DISCUSIÓN.....	53
5.1. Actividad antioxidante del extracto acuoso atomizado de uña de gato sobre el radical libre 1,1-diphenyl-2-picrilhydrazil (DPPH).....	53
5.2. Efecto de la suplementación del extracto acuoso atomizado de uña de gato sobre los perfiles bioquímicos sanguíneos.....	54
5.3. Efecto de la suplementación del extracto acuoso atomizado de uña de gato sobre los parámetros productivos de pollos.....	61
VI. CONCLUSIONES.....	64
VII. RECOMENDACIONES.....	65
VIII. ABSTRACT.....	66
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	68
ANEXOS.....	77



## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1.	Valores normales del perfil bioquímico sanguíneo de pollos.....	22
2.	Preparación de las reacciones entre el extracto atomizado de uña de gato y DPPH (100uM).....	31
3.	Efecto del extracto acuoso atomizado de uña de gato en la inhibición del DPPH.....	46
4.	Perfiles bioquímicos sanguíneos de pollos suplementados con diferentes niveles de EAAUG y evaluados a los 21 y 42 días de edad.....	50
5.	Desdoblamiento de dos factores: Niveles de EAAUG y edad (días).....	59
6.	Promedios $\pm$ error estándar del consumo de agua (mL/día) de pollos suplementados con diferentes niveles de EAAUG en función a las fases evaluadas.....	51
7.	Promedios $\pm$ error estándar del PI, PF, CAD, GPD en gramos/día y CA de pollos suplementados con diferentes niveles de EAAUG en función a los fases evaluadas.....	52

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Porcentaje de inhibición del radical libre DPPH con extracto acuoso atomizado de uña de gato.....	47
2.	Curvas de inhibición del DPPH por acción del extracto acuoso atomizado de uña de gato.....	48
3.	Coeficiente de inhibición (IC <sub>50</sub> ) del DPPH por el extracto acuoso atomizado de uña de gato.....	48

## RESUMEN

La presente investigación se realizó de Diciembre del 2011 - Abril 2012 en el Centro de Investigación de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA), unidad experimental de aves del Centro de Capacitación e Investigación Granja Zootecnia (CCIGZ) y en el Laboratorio de Sanidad Animal de la Facultad de Zootecnia. Estas instalaciones están ubicadas en la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), Departamento de Huánuco, Provincia de Leoncio Prado, y el Distrito de Rupa Rupa. La información geográfica es la siguiente: 09°17'58" de latitud Sur, 76°01'52" de longitud oeste, 660m sobre el nivel del mar, 24.85 °C de temperatura media anual, 3200mm de precipitación pluvial, y 80% de humedad relativa. Ecológicamente esta zona es considerada como bosque muy húmedo pre-Montano sub-tropical (BMH - PMST) bosque. El objetivo de este estudio usando un extracto acuoso atomizado de uña de gato (EAAUG) *Uncaria tomentosa*, fue doble: (1) para determinar la capacidad antioxidante *in vitro* medida por el porcentaje de inhibición y el coeficiente de inhibición del 50% (IC<sub>50</sub>ug/mL) del radical 1,1 diphenil-2-picrylhidrazyl [DPPH] y (2) para evaluar *in vivo*, la administración de 0, 5, 10 y 20 IC<sub>50</sub>ug/mL de EAAUG en el agua potable de pollos de carne de la línea Cobb 500 sobre los perfiles bioquímicos sanguíneos (proteínas total, albúmina sérica, aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa), constantes hematológicas (hematocrito y hemoglobina) y parámetros productivos (ganancia de peso corporal, conversión alimenticia, consumo de alimento y consumo de agua) durante las fases de inicio, crecimiento y acabado, respectivamente. Se

utilizaron 4 tratamientos de 25 pollitos de un día de edad, cada uno con 5 repeticiones por 42 días. Para la capacidad antioxidante *in vitro* de EAAUG se utilizó el método de secuestro del radical libre DPPH (100µM) haciendo reaccionar con 63, 125, 188 y 250µg/mL de EAAUG. Se cuantificó la absorbancia a 515 nm, se registró cada 30 segundos durante 10 minutos usando un espectrofotómetro UV / Vis. Los resultados de los experimentos *in vitro* mostraron que EAAUG a una concentración de 63µg/mL y 250µg/mL inhibe DPPH en 34.73 y 88.17%, respectivamente. Estos resultados demostraron que la inhibición de DPPH fue dependiente de la dosis con la concentración de EAAUG. El coeficiente de inhibición del 50% de DPPH (IC<sub>50</sub>) para EAAUG fue de 105.03µg/mL. Los resultados *in vivo* para los perfiles bioquímicos sanguíneos mostraron que a medida que la concentración de EAAUG aumenta, los niveles de albúmina, hemoglobina y hematocrito también se incrementan, encontrándose diferencias significativas (P <0,05) entre tratamientos. Sin embargo, EAAUG no influyó en la proteína total de la sangre, AST y ALT, respectivamente (P> 0,05). Del mismo modo, los resultados para los parámetros productivos, especialmente ganancia de peso, no fueron diferentes (P> 0,05) entre los grupos experimentales.

## I. INTRODUCCIÓN

La industria avícola tiene por objetivo la producción de pollos de carne, en forma rápida, eficiente y de calidad; acorde a las pautas del mercado, en corto plazo y con costos rentables. Esto, ha hecho que en los últimos tiempos la producción de pollos de carne alcance altos grados de tecnificación, intensificando todo lo referido al mejoramiento genético y a normas de manejo, que abarca instalaciones, alimentación y sanidad. Estas estrategias, que tienden al mejoramiento productivo, inciden sobre la salud de las aves, generando numerosos factores de estrés, afectando la producción y provocando estados de inmunodepresión que favorecen a la aparición de enfermedades.

El fenómeno de estrés ocurre en la vida de todas las especies animales, sobre todo en aquellas de crecimiento precoz como el pollo de carne, que por sus características fisiológicas y actividad metabólica intensa, está permanentemente produciendo sustancias oxidativas lo cual puede afectar sobre la producción, ocasionando grandes pérdidas a los criadores.

Una de las acciones innovadoras que la industria fabricante de alimentos balanceados está introduciendo en la crianza de mascotas y animales domésticos, es incorporar en la ración o en el agua de bebida, insumos no tradicionales tales como productos naturales obtenidos de plantas que poseen información etnobotánica de beneficio antioxidante y que son usados para aliviar estados de estrés oxidativo, que en turno causan inflamación, con la finalidad de ofrecer una alternativa a los fármacos sintéticos cuyo uso frecuente genera efectos colaterales.

La uña de gato (*Uncaria tomentosa*) es una planta de la Amazonía peruana, que posee metabolitos secundarios con actividad antioxidante, demostrado por su capacidad de inhibir radicales libres y disminuir la producción de nitritos, indicador de inflamación, en ensayos *in vitro*; por estas características la uña de gato se utiliza en la medicina tradicional, natural o complementaria por su actividad antioxidante y antiinflamatoria.

Recientemente, en diversos países del mundo, la industria de alimentos para animales domésticos ha demostrado interés por incorporar la uña de gato como parte de las raciones y suplementos alimenticios o dietéticos. Al existir una demanda de uña de gato para uso en animales domésticos, la materia prima ha sido sometida a procesamientos tecnológicos como la atomización, para así facilitar su uso y disponibilidad.

Frente a este contexto se plantea esta investigación bajo la siguiente interrogante ¿Cómo influirá la suplementación del extracto acuoso atomizado de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) sobre los perfiles bioquímicos, constantes hematológicas, y parámetros productivos de los pollos de carne en el trópico?, por sus propiedades antioxidativas y antiinflamatorias se puede afirmar que, a mayor nivel de inclusión del extracto acuoso atomizado de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) en el agua de bebida de los pollos de carne mejorará los perfiles bioquímicos, constantes hematológicas (Parámetros que sirven como indicadores de varias funciones fisiológicas, necesarias para el correcto funcionamiento del organismo) y parámetros productivos. Por tanto, los objetivos del presente trabajo de investigación son:

#### OBJETIVO GENERAL:

- Determinar la capacidad antioxidante *in vitro* del extracto acuoso atomizado de uña de gato (*Uncaria tomentosa*), y evaluar el efecto de su suplementación en el agua de bebida, sobre los perfiles bioquímicos sanguíneos, constantes hematológicas y parámetros productivos de los pollos de carne.

#### OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar el porcentaje de inhibición y el coeficiente de inhibición  $IC_{50}$  ug/mL del extracto acuoso atomizado de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) frente al radical DPPH (1,1 diphenyl-2-picrilhydrazyl).

- Determinar la proteína total sérica, albumina sérica e índices de transaminasas aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa en el suero sanguíneo de pollos de carne suplementados con diferentes niveles de extracto acuoso atomizado de uña de gato (*Uncaria tomentosa*), en el agua de bebida.
  
- Determinar los valores de hematocrito y hemoglobina en la sangre de pollos de carne suplementados con diferentes niveles de extracto acuoso atomizado de uña de gato (*Uncaria tomentosa*), en el agua de bebida.
  
- Evaluar la ganancia de peso, consumo de alimento, consumo de agua y conversión alimenticia en pollos de carne suplementados con diferentes niveles de extracto acuoso atomizado de uña de gato (*Uncaria tomentosa*), en el agua de bebida.



## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Aspectos botánicos de la uña de gato (*Uncaria tomentosa* WILLD. DC.)

Taxonomía. Según el sistema de clasificación de Adolf Engler, modificado por Hans Melchior (1664), citado por OBREGON (2007); su clasificación taxonómica es la siguiente:

Reino	: Vegetal
División	: Angiospermas
Clase	: Dicotiledóneas
Orden	: Gentianales
Familia	: Rubiaceae
Género	: <i>Uncaria</i>
Especie	: <i>Uncaria tomentosa</i> (Willd.) DC.

Denominada así desde 1830; el término *Uncaria* proviene del latín *uncus*, que significa ganchos, en alusión a las espinas encorvadas. Conocida también como: Garabato amarillo, unganangui, garabato, samento, paotati, misho, kug kukjaqui. La uña de gato se halla en variados espacios geográficos y en diferentes niveles de altitudes; encontrando esta especie desde 0 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.) a 500 m.s.n.m. (BRAKO Y ZARUCHI, 1993) inclusive hasta 600 m.s.n.m. Algunos investigadores refieren hallarla desde 75 m.s.n.m. en la selva peruana (OBREGON, 1997).

La uña de gato es un gran arbusto trepador, presente en bosques secundarios que sube a los árboles aledaños a su nacimiento, formando enredaderas frecuentes en el espesor de la Selva. Esta planta, llega a medir hasta 20 metros de altura aproximadamente, las ramas jóvenes tienen forma cuadrangular, los tallos poseen espinas macizas, leñosas, que llegan a tener 2 cm de largo por 0.4 cm a 0.6 cm de ancho aproximadamente, dirigidos hacia abajo, no encorvadas. Las hojas tienen un corto pecíolo hasta 1.5 cm de largo. El limbo es de consistencia membranosa, de forma oblonga aovado de aproximadamente entre 9 a 17 cm de longitud por 4.3 a 9.0 cm de ancho agudo, a veces redondeado en el ápice, de color verde amarillento, opaco en el haz y verde pálido en el envés. (OBREGON, 1997).

Según algunos autores existen tres variedades de *Uncaria tomentosa* que en el aspecto exterior no tienen diferencias entre sí, estas se notan al

observar el color de la corteza recién cortada y el color de la raíz; así se distinguen los tres tipos de acuerdo al color del liber fresco (fibra leñosa): plantas con una coloración de liber gris blanquecino, marrón amarillento y rojo oscuro (OBREGON, 1997).

## 2.2. Composición química de la uña de gato (*Uncaria tomentosa* WILLD. DC.)

ANGULO *et al.* (2005) al examinar la *Uncaria tomentosa* por cromatografía de comparación se identificaron los principales alcaloides oxindólicos tetra y pentacíclicos (Rincofilina e Isoriconfilina), luego los alcaloides secundarios Mitrafilina (característico de la familia Rubiaceae) e Isomitrafilina hallado sólo en *Uncaria tomentosa*.

En un estudio experimental utilizando la corteza y raíz de una especie de *Uncaria sp.* del Perú, se obtuvo los alcaloides crudos por extracción metanólica de las partes de la planta, micropulverizada y sin residuos de grasas, se detectaron cinco alcaloides identificados como: pteropodina, especiofilina, isopteropodina, uncarina F e isomitrafilina. También examinaron los constituyentes polifenólicos de *Uncaria sp.* para evaluar el efecto antitumoral, encontrando la presencia de epicatecina y 4 procianidinas dimericas (A<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>4</sub>) (OBREGON, 1997).

Los azúcares encontrados en *Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis* fueron la glucosa, fructosa, quinovosa, ramnosa y galactosa. También se han

aislado triterpenos polihidroxiados derivados del ácido ursólico y del ácido quinóvico; se han aislado los triterpenos lupeol, los ácidos ursólico y oleanólicos. Recientemente se ha descrito la presencia del ácido 7- deoxilogánico, que es un iridoide (CALLO *et al.* 1997).

Se han encontrado constituyentes no alcaloidicos como heterósidos, compuestos fenólicos (flavonoides, las procianidinas y cinchonaínas) y el ácido quinóvico, siendo este último uno de los principales responsables de la actividad antiinflamatoria (OBREGON, 1997).

### 2.3. Actividades farmacológicas de la uña de gato (*Uncaria tomentosa*)

WAGNER *et al.* 1985, demostraron la potente acción inmuno estimulante de los alcaloides indólicos, isoteropodina, pteropodina, isomitrofilina e isorinchofilina, de la corteza de uña de gato por medio de la prueba de luminiscencia química; además reporta que el extracto acuoso de corteza de uña de gato estimula la producción de interleucinas 1 y 6 en macrófagos alveolares las cuales inician la cascada de actividades de defensa del sistema inmune.

WAGNER *et al.* 1985, realizaron una prueba de aclaramiento de carbón en ratas para determinar la velocidad con que el sistema retículo-endotelial (RES) reacciona frente a determinadas sustancias extrañas al organismo; observándose una acción fagocitósica en aquellas ratas a las que se les suministró un macerado acuoso con contenido alcaloide de *Uncaria tomentosa* en

una concentración de 10 mg/kg; una mínima acción tuvieron aquellos macerados con baja concentración de alcaloides.

RUIZ (1995), trató con diversas preparaciones de *Uncaria tomentosa* a 20 gatas y 30 perras que sufrían de cáncer en las glándulas mamarias. Las preparaciones detuvieron el crecimiento de los tumores y, disminuyeron su tamaño en 20% comparadas con gatas no tratadas, además las gatas tratadas sobrevivieron tres a cuatro años más. Las perras tratadas sobrevivieron dos a tres años más que las no tratadas.

KEPLINGER (1989), demostró que los alcaloides oxindólicos pentacíclicos extraídos de la corteza de la *Uncaria tomentosa* tienen actividad citostática contraceptiva y antiinflamatoria; concluyendo que los alcaloides mencionados producen aumento de fagocitosis, en determinados ensayos *in vitro* e *in vivo*.

PERALTA Y ZAMBRANO (1992), compararon la eficiencia antiinflamatoria de un extracto cloroformometanólico de *Uncaria tomentosa* (0.16 mg/kg) con la de la indometacina (1.07 mg/kg), el piroxicam (0.3 mg/kg) y la dexametasona (0.04 mg/kg). Considerando los promedios de eficiencia antiinflamatoria cada media hora hasta la 5ta hora, el extracto de uña de gato mostró un efecto antiinflamatorio mayor que el de los fármacos mencionados (87.2, 77.0, 72.5, y 72.0 % respectivamente).

SANDOVAL *et al.* 1998, demostraron que la uña de gato posee excelentes propiedades antioxidativas para inhibir oxidantes y radicales libres dañinos y biodisponibilidad de componentes que alivian efectos negativos en procesos de inflamación y estrés oxidativo.

RIZZI *et al.* 1993, atribuyeron la acción antimutagénica de la uña de gato a un efecto antioxidante. La cis-epicatequina tiene una acción antioxidante superior a la de la vitamina E; más potentes aun como antioxidante son sus procianidinas. Además de estos flavonoides, la uña de gato contiene triterpenos como los ácidos oleanólico y ursólico, que también barren radicales libres (BALANCHRU Y NAGARAJAN, 1991).

El extracto acuoso de la corteza de uña de gato es capaz de inducir la apoptosis e inhibir la proliferación de células tumorales *in vitro* (SHENG *et al.*, 1998). Asimismo se ha observado, que este extracto incrementa la reparación de ADN, tanto en rupturas de cadena sencilla, como de cadena doble, inducidas por radiación en ratas (SHENG *et al.*, 2000).

SAAVEDRA (2008), determinó que el extracto acuoso de corteza de uña de gato incorporado en el agua de bebida de pollos de carne incrementó los niveles de leucocitos en la sangre, esto se debe a que la uña de gato tiene un efecto inmunoestimulante.

#### 2.4. Radicales libres

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

Los radicales libres se producen continuamente en el organismo como consecuencia de los procesos metabólicos normales y fuentes exógenas como el ejercicio intenso, situaciones de estrés, factores ambientales y agentes contaminantes (drogas y pesticidas). Cuando la producción de radicales libres es excesiva, el resultado es el estrés oxidativo, término que se relaciona con el daño a las biomoléculas: proteínas, lípidos, carbohidratos y ADN (GONZALES *et al.*, 2000).

Los radicales libres producidos durante la respiración aerobia causan daño oxidativo que se acumula y resulta una pérdida gradual de los mecanismos homeostáticos en una interferencia en patrones de expresión génica y pérdida de la capacidad funcional de la célula, lo que conduce al envejecimiento y a la muerte (RODRIGUEZ *et al.*, 2001).

Uno de los métodos más aplicados para determinar la capacidad antioxidante de plantas y alimentos es el DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), el cual es un polvo cristalino de color violeta compuesto de moléculas estables de radicales libres. El DPPH tiene dos aplicaciones principales, tanto en la investigación de laboratorio (monitor de reacciones químicas que involucran radicales) y como un estándar de la posición e intensidad de la resonancia paramagnética de electrones señales (BRAND- WILLIAMS *et al.*, 1994).

## 2.5. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es un desbalance entre la producción de compuestos reactivos del oxígeno y los sistemas de defensa antioxidante enzimáticos o no, 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. Este desbalance interviene en procesos como la lipoperoxidación de las membranas y organelos celulares y en la peroxidación de ácidos nucleicos (RODRIGUEZ *et al.*, 2001).

En aves se ha relacionado el estrés oxidativo con el desarrollo de enfermedades como ascitis en pollos parrilleros e hígado graso en gallinas ponedoras. La ascitis en la producción avícola es una de las principales causas de pérdidas económicas; esta enfermedad, está asociada a problemas de hipertensión pulmonar y la excesiva producción de células inflamatorias en los



tejidos pulmonares, debido a la pobre ventilación de los galpones que causa hipoxia en las aves. Las células inflamatorias activan a los linfocitos que pueden generar una variedad de radicales libres hacia los tejidos como pulmón, hígado y corazón principalmente causando daño oxidativo al provocar un desbalance entre la producción de radicales libres y los sistemas antioxidantes de defensa (HUERTA *et al.*, 2004).

## 2.6. Antioxidante

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 de animales, lo que sugiere la importancia del desarrollo de nuevas dietas de inmunoapoyo (GONZALES *et al.*, 2000).

SANDOVAL *et al.* 2000, mencionan 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 y ejerce una acción protectora contra la muerte celular inducida por radiaciones ultravioleta.

## 2.7. Mecanismos de respuestas inmunitarias

La respuesta del sistema inmunitario a un antígeno se inicia con la liberación de una serie de compuestos llamados citoquinas. La liberación de citoquinas específicas activa los componentes celulares y humorales del sistema inmunitario, provocando cambios en las vías endocrinas y los procesos metabólicos corporales. Los animales tienen numerosos mecanismos de defensas en donde participan antioxidantes, pero estas defensas no son perfectas, por ejemplo el ADN, se oxida. El daño de la oxidación al ADN se repara por enzimas que eliminan las lesiones y es excretada en la orina (AMES *et al.*, 1993).

La exposición de los animales a sustancias extrañas puede originar cambios en los procesos fisiológicos normales, que incluso pueden llegar a producir la muerte. Las células fagocíticas destruyen las bacterias o virus que infectan a las células con un estallido oxidante, óxido nítrico (NO), O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Y OCl<sup>-</sup>. La infección crónica por virus, bacterias, o parásitos en una actividad de fagocitosis y la inflamación crónica consecuente son un factor de riesgo mayor para el cáncer (RADI Y FREKMAN, 1996).

KLYMENCO Y BAZICA (1998), estudiaron el efecto de uña de gato en pacientes de la catástrofe de la central atómica de Chernovyl obteniendo

resultados alentadores, pues los títulos de anticuerpos, la población y subpoblación celular de los linfocitos T y B se incrementaron en los pacientes con inmunodeficiencia hasta niveles próximos a las personas sanas.

El extracto acuoso de la corteza de uña de gato estimula, la producción de interleucinas 1 y 6 en macrófagos alveolares, las cuales inician la cadena de actividades defensivas del sistema inmune. Este incremento se ha observado incluso en macrófagos estimulados con lipopolisacáridos, concluyendo que la uña de gato posee una potente actividad inmunoestimulante (LEMAIRE *et al.*, 1999).

## 2.8. Perfiles bioquímicos sanguíneos

El perfil bioquímico se utiliza para investigar varias funciones fisiológicas, necesarias para el correcto funcionamiento del organismo; con este examen se obtiene una información general del funcionamiento de los órganos. Los valores fuera del rango normal indican enfermedades subclínicas posibles. En las aves el uso de esta herramienta se limita a lotes comerciales, porque muchas veces no se cuenta con valores de referencia para explotaciones avícolas, siendo esto un problema cuando se quiere hacer comparaciones. Otro problema es que la mayoría de los datos que se obtienen se basan en un tamaño pequeño de muestras, lo cual puede disminuir la significación estadística de los resultados debido a que muchos parámetros obtenidos de los individuos tienen la

influencia de factores específicos, tales como edad, sexo, y estado productivo (BOWES *et al.*, 2000).

### 2.8.1. Aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (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 cetoglutarico para producir ácido oxalacético y pirúvico, respectivamente (JONES, 1999).

La AST está presente en las isoenzimas citosólicas y mitocondriales del hígado, músculos esquelético y cardíaco, riñón, cerebro, páncreas, pulmones, leucocitos y glóbulos rojos; es menos específica y sensible para el hígado. Al encontrarse también en células musculares puede elevarse su actividad sérica en situaciones de estrés físico (BARRET Y CHALMERS, 1977; VASSART *et al.*, 1992; citados por MONTANE, 2002 y LOPEZ, 2004). Un aumento de esta enzima se ha encontrado en situaciones de deficiencia en la perfusión tisular, disminución de la disipación de calor e hipoxia (SPRAKER, 1993).

La ALT es una enzima citosólica que se encuentra en altas concentraciones en el hígado, por lo cual es más específica de este órgano. La permeabilidad alterada de la membrana hepatocelular causada por daño o un

disturbio metabólico resulta en un escape de esta enzima soluble. El incremento de la ALT se debe sobre todo al daño hepatocelular de cualquier causa. Esta enzima entra en 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, pero no indica la causa o la reversibilidad del daño (SODIKOFF, 1996; WILLARD *et al.*, 2001).

Los eritrocitos y las células del músculo estriado contienen cantidades pequeñas de ALT y el daño a estas puede causar aumentos relativamente menores en la ALT sérica, como ocurre con el ejercicio (WILLARD *et al.*, 2001).

ARRIETA, *et al.*, (2007), realizó un estudio sobre alteraciones histológicas hepáticas e incremento de proteínas séricas en pollos de engorde alimentados con dietas suplementadas con *Saccharomyces cerevisiae* (SC), donde utilizaron dos grupos de pollos que recibieron la dieta T1 (alimento comercial sin SC) y la dieta T2 (alimento comercial con 0.1% SC). A los 42 días, los valores de AST para el T1 y T2 fueron de 243.21 y 227.18 UI/L, respectivamente; para el caso de la ALT fueron de 4.97 y 5.35 UI/L; concluyendo para ambos que no se detectó diferencia en los valores de AST y ALT, basándose en que los datos registrados cayeron dentro de los parámetros normales.

### 2.8.2. Proteína total sérica y albumina sérica

Las proteínas totales del suero sanguíneo se agrupan en dos grandes categorías, la albúmina y las globulinas, las cuales tienen muchas funciones; siendo las más importantes aquellas relacionadas con mantenimiento de la presión osmótica del plasma, el transporte de sustancias a través del cuerpo (hormonas, minerales, medicamentos, etc.), la inmunidad, la acción de amortiguación y la regulación de enzimas (WILLARD *et al.*, 2001).

Las proteínas plasmáticas son captadas por el hígado y desdobladas en aminoácidos que, tras volver a la sangre, pueden ser reutilizados por los tejidos para elaborar nuevas proteínas celulares. De este modo las proteínas plásticas cumplen una función de depósito lábil y constituyen una fuente de aminoácidos rápidamente disponibles (GUYTON Y HALL, 1999).

Las alteraciones de las proteínas plasmáticas totales son en general inespecíficas. El incremento en las proteínas totales puede deberse a deshidratación, también a un aumento en el nivel de globulinas cuando no existe deshidratación, como en enfermedades hepáticas avanzadas (cirrosis), infecciones crónicas y en algunos casos de neoplasias (ZAPATA Y FAJARDO, 1997). Mientras que las glomerulopatías, las hepatopatías, la desnutrición y la malabsorción pueden producir un descenso en los niveles de proteínas plasmáticas totales (SODIKOFF, 1996).

En aves hay cambios relacionados con la edad en las concentraciones de proteínas séricas y plasmáticas, existiendo diferencias significativas entre especies. Los intervalos de referencia relacionados con la edad son ideales para interpretar los datos de proteína pero raramente se dispone de ellos (EVANS y DUNCAN, 2005).

En las aves la fracción más grande de proteína (40-60%) es la albúmina, que es 100% sintetizada en el hígado, por lo que su medición puede ser una ayuda adicional para el diagnóstico de las enfermedades del hígado. La función más importante de la albumina es mantener la presión coloidosmótica del plasma, además, también es su función principal unirse y transportar a los componentes plasmáticos que no tienen una proteína específica de transporte. En pollos los niveles normales de albumina están en un rango de 16 a 20 g/L (KANEKO *et al.*, 1997; SMITH, 1990).

La producción disminuida de albumina se debe a una insuficiencia hepática crónica o hiperglobulinemia; la albumina también se reduce ligeramente en lesiones tisulares agudas o inflamaciones, es una proteína reactiva de fase aguda negativa. La síntesis disminuida de albumina usualmente no ocurre en una enfermedad hepática aguda (WILLARD *et al.*, 2001; SMITH, 1990).

Los valores bajos de albumina son normales para los animales muy jóvenes, los valores aumentan gradualmente hasta la adultez; los más altos son

los valores promedio normales para adultos. Tanto la albumina como la globulina tienden a declinar con el avance de la ancianidad (WILLARD *et al.*, 2001).

ARRIETA, *et al.*, (2007), realizó un estudio sobre alteraciones histológicas hepáticas e incremento de proteínas séricas en pollos de engorde alimentados con dietas suplementadas con *Saccharomyces cerevisiae* (SC), sus resultados indican un aumento de las proteínas totales, disminución de la albumina y aumento de las globulinas a los 42 días de experimentación, indicando probables alteraciones hepáticas por consumo de (SC).

### 2.8.3. Hemoglobina y hematocrito

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

La Hemoglobina es una proteína globular, que se encuentra en grandes cantidades dentro de los glóbulos rojos y es de vital importancia fisiológica, para el aporte normal de oxígeno a los tejidos. Está constituida por cuatro grupos heme (porfirinas), unidos a una cadena polipeptídica. Los grupos heme son capaces de ligar reversiblemente oxígeno o dióxido de carbono. La Hemoglobina transporta el oxígeno desde los pulmones a los diferentes tejidos



corporales, donde es utilizado en el metabolismo energético, y retira de ellos el dióxido de carbono producido por dicho metabolismo (RUIZ, 1998).

Una disminución de la tasa de hemoglobina en la sangre puede ser debida a una hemorragia o una hemolisis, o ser el resultado de una perturbación de la formación de las secuelas sanguíneas en la medula ósea hematopoyética. De forma inversa un aumento de la hemoglobina en la sangre puede tener su origen en una anomalía del intercambio gaseoso a nivel pulmonar, deshidratación u otras enfermedades; el aumento de hemoglobina también está en relación con ciertos factores como edad, peso corporal y ambiente (BAUER, 1989).

El hematocrito es el porcentaje que ocupan los glóbulos rojos en un volumen determinado de sangre centrifugada. Se trata de un indicador clave del estado corporal de hidratación, anemia o pérdida grave de sangre, así como la capacidad de la sangre para transportar oxígeno. Una lectura reducida de hematocrito puede deberse a una hiperhidratación, que aumenta el volumen plasmático, o a una reducción en la cantidad de hematíes debido a anemias o a hemorragias. Un hematocrito alto puede deberse a la pérdida de fluidos, como una deshidratación, o a un aumento de los hematíes, tal y como sucede con los trastornos cardiovasculares, renales, y los problemas de ventilación (RUIZ, 1998).

Por otra parte MATEO, (2006); citado por REÁTEGUI, (2012), indica que los valores de hematocrito se ven influenciados por la edad, el sexo y la

geografía. También se debe tener en cuenta que los valores varían de un laboratorio a otro, de ahí que en los resultados de las pruebas analíticas se pongan también los valores usados; no obstante, sirvan los datos expuestos como referencia.

En un experimento realizado por SAAVEDRA (2008), que consistió en la incorporación de un extracto acuoso de corteza uña de gato (*Uncaria sp*) en el agua de bebida de pollos parrilleros durante la fase de acabado (21 a 35 días de edad). Se utilizaron dos grupos de pollos que recibieron dos tratamientos el T1 (agua sin extracto acuoso de corteza de uña de gato) y T2 (agua con extracto acuoso de corteza de uña de gato). A los 35 días de edad los valores de hemoglobina para el T1 y T2 fueron 10.06 y 9.93 % respectivamente; concluyendo que hubo diferencia significativa ( $p < 0.01$ ), teniendo un ligero incremento el T1 en comparación con el T2.

El cuadro N° 1 se muestra los valores normales del perfil bioquímico y constantes hematológicas de pollos parrilleros.

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

ALT <sup>1</sup> (UI/L)	AST <sup>2</sup> (UI/L)	Albúmina <sup>3</sup> (g/dL)	Proteína sérica <sup>3</sup> (g/dL)	Hematocrito <sup>4</sup> (%)	Hemoglobina <sup>4</sup> (g/dL)
3.4 – 80.4	89.6 – 243.2	1.0 – 2.7	2.1 – 5.3	23 - 55	7.0 – 18.6

<sup>1</sup> ARRIETA *et al.* (2006) Y REATEGUI (2012).

<sup>2</sup> ARRIETA *et al.* (2006) Y REATEGUI (2012).

<sup>3</sup> JÍNEZ *et al.*, (1998) Y REATEGUI (2012).

<sup>4</sup> UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA (2011).

## 2.9. Parámetros productivos en pollos de carne

SAAVEDRA (2008), al evaluar el efecto de la adición del extracto acuoso de uña de gato en la etapa de acabado de pollos parrilleros, en la Universidad Nacional Agraria de la Selva, usando una ración convencional con 2990 Kcal de EM y 20.5% de PT, en el tratamiento 1 (suministro de agua sin extracto acuoso de corteza de uña de gato) se obtuvo un consumo de alimento de 1.89 Kg por pollo y en el tratamiento 2 (suministro de agua con extracto acuoso de corteza de uña de gato) se obtuvo un consumo de alimento de 2.02 Kg por pollo, ambos pesos se registraron durante la etapa de acabado que duro 15 días, igualmente la ganancia de peso fue de 0.84 Kg y 1.03 Kg respectivamente, y la conversión alimenticia 2.25 y 1.96 ; encontrándose que el segundo tratamiento tiene mejor respuesta en las tres variables: consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia.

## 2.10. Proceso de atomización de extractos de plantas naturales

La atomización tiene por característica principal la formación de gotas y el contacto de estas con el aire. La etapa de atomización produce un rocío para una condición óptima de evaporación y por consiguiente un producto dentro de estas características técnicas. La atomización resulta de la rotura del seno del líquido en pequeñas gotas y las diferentes técnicas de atomización disponibles varían de acuerdo al tipo de energía utilizado para producir las gotas (BARBOSA *et al.*, 2000).

El secado por aspersion se utiliza en una amplia gama de aplicaciones, desde productos farmacéuticos hasta alimento y detergentes. Los materiales de la alimentación se hallan por lo general en forma líquida capaz de ser dispersada en forma de rocío. El fluido es atomizado o dispersado en forma de gotitas finas que se ponen en contacto inmediato con un flujo de aire o gas caliente, proporcionando estas gotitas una extensa área superficial para la transferencia de calor y masa, por lo tanto el enfriamiento por evaporación y el tiempo de residencia corto mantienen una temperatura baja del producto (BARBOSA *et al.*, 2000).

El proceso de atomización tiene ciertas ventajas como conservar la calidad, las propiedades funcionales y la mayoría de los compuestos volátiles del producto; además de tener una gran facilidad de regulación del sistema y una utilización de energía comparable con la de otros métodos de secado. Dentro de las desventajas del proceso de atomización tenemos una inversión inicial alta, tamaño de partícula muy difícil de controlar y problemas con la recuperación del producto y los polvos (SHARMA *et al.*, 2003).

#### 2.10.1. Ventajas del extracto acuoso atomizado de uña de gato (*Uncaria tomentosa*)

El extracto acuoso atomizado de uña de gato tiene una alta concentración de alcaloides, no contiene fibra ni celulosa, tiene una rápida

absorción en el organismo, no causa trastornos estomacales, es soluble y tiene gran efectividad en sus propiedades benéficas (CABIESES, 1997).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar y fecha de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en dos ensayos: Ensayo 1: Investigación *in vitro* que se llevó a cabo en el Centro de Investigación de Productos Naturales de la Amazonia (CIPNA) y el Ensayo 2: Investigación *in vivo* que se realizó en la unidad experimental de aves del Centro de Capacitación e Investigación Granja Zootécnica (CCIGZ) y en el laboratorio de Sanidad Animal de la Facultad de Zootecnia. Estas instalaciones están localizadas en la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ciudad de Tingo María, Provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco; geográficamente está ubicada a 09° 17' 58" de latitud sur, 76° 01' 52" longitud oeste, con una altitud de 660 msnm, temperatura media anual de 24.85 °C, precipitación pluvial media anual de 3200 mm y humedad relativa de 80%; ecológicamente considerada como bosque muy húmedo pre-Montano Subtropical (UNAS, 2009). El trabajo de investigación tuvo una duración de 4 meses, desde el 20 de diciembre hasta el 20 de abril del 2012.

### 3.2. Tipo de investigación

El presente trabajo corresponde a una investigación experimental y consta de dos ensayos.

### 3.3. Ensayo 1

El objetivo fue determinar la capacidad antioxidante *in vitro* del extracto acuoso atomizado de uña de gato (*Uncaria tomentosa*).

#### 3.3.1. Instalaciones y equipos

La determinación *in vitro* de la capacidad antioxidante del extracto acuoso atomizado de uña de gato fue realizado 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.

#### 3.3.2. Insumo en estudio

La corteza de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) fue cosechada de plantas adultas en la zona de Tingo María, se seleccionó la corteza y se cortó en trozos (5 x 2 cm) para luego proceder al proceso de atomización.

### 3.3.3. Atomizado de la muestra

Se utilizó el método reportado por SANDOVAL *et al.*, (1998). El objetivo principal del atomizado es la eliminación total del agua de la muestra (SHARMA, *et al.* 2003). Para el proceso de atomización de la uña de gato (*Uncaria tomentosa*) se siguió los siguientes pasos:

- La corteza seleccionada de uña de gato fue secada en una estufa de aire forzado a una temperatura de 65 °C por 16 horas.
- Se procedió a realizar la molienda, para lo cual se utilizó un molino de martillo (acero inoxidable) para obtener una muestra homogénea de 0.5 cm de longitud.
- La proporción de muestra molida y agua fue de 1:10 respectivamente; esta solución fue sometida a extracción acuosa a una temperatura de 75 °C / 6 horas.
- Se realizó el filtrado, eliminando el material sólido, luego se realizó otro filtrado del extracto líquido con el fin de obtener un tamaño granular de 150 micras para esto se utilizó mallas de acero inoxidable.
- El extracto filtrado fue concentrado hasta obtener una relación del 10 % de sólidos totales.
- Luego de realizar el concentrado se procedió a realizar el atomizado a una temperatura de 165° C por 10 segundos.



- El producto final fue empaquetado en bolsas de polietileno para posteriormente ser suministrada diariamente en el agua de bebida.

#### 3.3.4. Variable independiente

Extracto acuoso atomizado de uña de gato.

#### 3.3.5. Tratamientos

T1: 63 ug/mL de extracto acuoso atomizado de uña gato.

T2: 125 ug/mL de extracto acuoso atomizado de uña gato.

T3: 188 ug/mL de extracto acuoso atomizado de uña gato.

T4: 250 ug/mL de extracto acuoso atomizado de uña gato.

#### 3.3.6. Variable dependiente

Coefficiente de inhibición ( $IC_{50}$ ).

#### 3.3.7. Metodología

##### 3.3.7.1. Preparación de la solución stock del extracto acuoso atomizado de uña de gato

Se agregó 0.4 g de muestra en 10 mL de agua destilada resultado una solución de 40 mg/mL de concentración, luego se centrifugó a 10000 rpm por 5

minutos a 4 °C, posteriormente se realizó las diluciones respectivas para determinar la capacidad antioxidante.

### 3.3.7.2. Prueba del radical DPPH

Se utilizó el método descrito por BRAND- WILLIAMS *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 0.004 g del radical DPPH que fue disuelto en 10 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 la solución stock y se añadió 9 mL de etanol al 96%. Paralelamente, a partir de la solución stock del extracto acuoso atomizado de uña de gato se prepararon soluciones de trabajo a concentraciones de 63, 125, 188 y 250 ug/mL. De cada una de estas soluciones de trabajo se tomó 25 uL para hacerlos reaccionar con 975 uL de solución de DPPH (100 uM).

En el Cuadro 2, se muestra las proporciones de la preparación de las reacciones entre el extracto acuoso atomizado de uña de gato y DPPH (100 uM).

Cuadro 2. Preparación de las reacciones entre el extracto acuoso atomizado de uña de gato y DPPH (100uM)\*

Solución de Uña de gato (ug/mL)	Volumen de uña de gato (uL)	Volumen de DPPH* (uL)	Volumen Final (uL)
63	25	975	1000
125	25	975	1000
188	25	975	1000
250	25	975	1000

\*Solución de DPPH a una concentración de 100uM.

La reacción se generó en una microcubeta de poliestireno de (1 x 1 x 4.5 cm), luego se precedió a su lectura usando un espectrofotómetro de luz UV y visual. Las absorbancias se registraron a 515 nm cada 30 segundos por un tiempo de 10 minutos. La capacidad de inhibición del radical DPPH se determinó mediante la siguiente ecuación.

$$\% \text{Inhibición DPPH} = ((A_{\text{dpph}} - A_{\text{muestra}}) / A_{\text{dpph}}) \times 100$$

Dónde:

$A_{\text{dpph}}$  = Absorbancia del radical DPPH

$A_{\text{muestra}}$  = Absorbancia de la muestra en estudio

El porcentaje de inhibición del DPPH obtenido por cada una de las concentraciones fue usado para determinar el Coeficiente de Inhibición ( $IC_{50}$ ), el cual fue expresado en  $\mu\text{g/mL}$ , indicando la cantidad necesaria de extracto acuoso atomizado de uña de gato para inhibir el 50% del radical DPPH.

### 3.3.8. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de la máxima capacidad de inhibición por cada concentración al final de la reacción con DPPH, fueron analizados estadísticamente entre todos los niveles evaluados. Cada concentración es decir 63, 125, 188 y 250  $\mu\text{g/mL}$  constituyeron un grupo experimental con 3 repeticiones cada uno ( $n=3$ ). Se utilizó un diseño completamente al azar. Las diferencias entre tratamientos de la variable dependiente y las relaciones entre ellas, fueron sometidas al test de Tukey a 5%, cuyo modelo aditivo lineal es el siguiente:

$$Y_{ij} = u + T_i + E_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$ : Observaciones individuales.

$u$  : Efecto de la media.

$T_i$ : Concentración de extracto acuoso atomizado de uña de gato.

$E_{ij}$ : Error experimental.

Con los resultados de la máxima inhibición del radical DPPH se determinó el IC<sub>50</sub> para el extracto atomizado de uña de gato. El IC<sub>50</sub> se estableció mediante una regresión lineal, cuyo modelo matemático es:

$$Y = a \pm bx$$

Dónde:

Y= 50% inhibición.

a = valor obtenido por la ecuación (pendiente).

b = valor proveído por la ecuación.

### 3.4. Ensayo 2

El objetivo fue determinar los perfiles bioquímicos sanguíneos, constantes hematológicas y parámetros productivos en pollos de carne suplementados con diferentes niveles de extracto acuoso atomizado de uña de gato (*Uncaria tomentosa*).

#### 3.4.1. Animales experimentales

Se trabajó con 100 pollos bebes machos de la línea genética COBB 500, procedentes de la ciudad de Lima, los cuales fueron distribuidos en 4 tratamientos, con 5 repeticiones y cada repetición con 5 aves por unidad experimental.

Las fases de evaluación fueron:

Fase de inicio: 1.– 7 días de edad.

Fase crecimiento: 8 – 21 días de edad.

Fase acabado: 22 – 42 días de edad.

### 3.4.2. Instalaciones y equipos

Se utilizó un galpón para aves del CCIGZ cuyas características fueron: Largo 19.60 m, ancho 7.76 m y altura 4 m; piso de concreto con una pendiente de 3 %; zócalo de material noble, paredes de malla metálica, techo de calamina a dos aguas superpuestas con claraboya; instalaciones eléctricas; vigas y postes de madera. En el interior del galpón se colocaron 20 jaulas experimentales, confeccionadas de madera y malla metálica cuadrículada a nivel del piso, cuyas dimensiones fueron de 1.0 m de largo por 1.0 m de ancho y 0.6 m de altura, cada jaula alojo a 5 aves; en las jaulas se acondicionaron los comederos y bebederos independientes; se usó como cama la viruta, con el fin de facilitar la limpieza de las excretas y proteger a las aves del frío, y para la fuente de calor se usó 1 foco de 100 watts por jaula. El galpón fue cubierto con una manta negra de 30 m de largo y 3 m de ancho, con el fin de proteger a las aves del frío y rayos solares.

Se utilizaron comederos lineales y bebederos adaptados para controlar la cantidad de agua consumida por cada repetición; se utilizó una balanza digital para el control de peso del alimento a suministrar y una jarra de 1 L con la que se midió la cantidad de agua a suministrar para cada tratamiento.

### 3.4.3. Alimento y alimentación

La administración del alimento fue similar para todos los tratamientos, se utilizó un alimento comercial (Purina) cuya composición porcentual se muestra en el Anexo 2; el suministro de agua con diferentes niveles de extracto acuoso atomizado de uña de gato empezó desde el 1<sup>er</sup> día de edad de las aves hasta los 42 días; tanto la ración como el agua de bebida fueron suministrados a libre discreción.

### 3.4.4. Sanidad

El galpón y las jaulas experimentales se desinfectaron con detergente y lejía, luego se pasó lanza llamas y cal viva en las paredes y en el piso, también se desinfectaron los comederos y bebederos; se colocó un pediluvio con cal viva en la entrada del galpón como mecanismo preventivo contra el ingreso de enfermedades. En el recibimiento de los pollitos se les suministro agua con electrolitos durante 3 horas para realizar la rehidratación y luego se les dio su respectivo tratamiento de extracto acuoso atomizado de uña de gato; se vacunó al séptimo día de edad por vía ocular contra New castle, Bronquitis infecciosa y Gumboro (triple aviar).

### 3.4.5. Metodología

#### 3.4.5.1. Perfiles bioquímicos y constantes hematológicas

El tipo de muestra de sangre que se utilizó fueron de 2 formas; muestras de sangre entera y muestras de sangre para extraer suero sanguíneo; las muestras de sangre entera se utilizó para los exámenes de hematocrito y hemoglobina mientras que las muestras de suero sanguíneo fueron para los exámenes de transaminasas, albúmina y proteína sérica. La toma de muestras se realizó a los 21 días para luego repetirse a los 42 días de edad; se hicieron por las mañanas y en ayunas. La extracción de sangre fue de vena alar. Para obtener muestras de sangre entera se utilizó tubos vacutainer con capacidad para 3 mL con anticoagulante EDTA; en el caso de las muestras de suero sanguíneo después de la coagulación se centrifugó a 3000 rpm por 5 minutos para la separación del mismo y luego se conservó a 20 °C todas las muestras para ser procesadas en conjunto.

#### **Proteína sérica**

En tubos de ensayo respectivamente rotulados; B (blanco) y P (Muestras de suero sanguíneo); se colocó 50 uL de agua destilada en el tubo B y en los tubos P 50 uL de las muestras; para después añadir 3.5 mL de reactivo EDTA/Cu a todos los tubos, luego se procedió a mezclar con una varilla, incubamos los tubos a 37°C por 15 minutos (Baño María), luego se hizo la lectura



en un espectrofotómetro a 540 nm, llevando a cero al espectrofotómetro con el blanco de reactivo (WIENER LAB. 2000).

### **Albúmina**

En tubos de ensayo respectivamente rotulados; B (blanco) y P (muestras de suero sanguíneo); se colocó 10 uL de agua destilada en el tubo B y en los tubos P 10 uL de las muestras; para después añadir 3.5 mL de reactivo BCF a todos los tubos; luego se procedió a mezclar con una varilla, para pasar a incubarlos a 28 °C por 10 minutos. Por último se procedió a leer los resultados en un espectrofotómetro a 625 nm llevando a cero con el Blanco de reactivo. El color es estable 20 minutos por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de ese lapso (WIENER LAB. 2000).

### **Transaminasas 200**

- Transaminasa glutámico pirúvica o alanina aminotransferasa (ALT)

Se preparó tubos respectivamente rotulados, donde se podían identificar al tratamiento y repetición al que pertenecía determinado tubo y se adjuntó otro tubo rotulado con la letra "B" (blanco); a los tubos "problema" se agregó 0.5 mL de sustrato TGP y 100 uL de muestra; mientras que al tubo blanco se le agregó 0.5 mL de sustrato TGP y 100 uL de agua destilada; luego se incubó

los tubos mencionados a 37 C° por 30 minutos; pasado el tiempo de incubación se agregó 0.5 mL de reactivo color a todos los tubos; para luego incubarlos a 37 °C por 10 minutos; después de esto, se le añadió 5 mL de NaOH 0.4 N a todos los tubos y por último se mezcló por inversión para proceder a leer a 505 nm contra blanco reactivo (WIENER LAB. 2000).

- Transaminasa glutámico oxalacética o aspartato aminotransferasa (AST)

Se preparó tubos respectivamente rotulados, donde se podían identificar al tratamiento y repetición al que pertenecía determinado tubo y se adjuntó otro tubo rotulado con la letra "B" (blanco); a los tubos "problema" se agregó 0.5 mL de sustrato GOT y 100 uL de muestra; mientras que al tubo blanco se le agregó 0.5 mL de sustrato GOT y 100 uL de agua destilada; luego se incubó los tubos mencionados a 37 C° por 30 minutos; pasado el tiempo de incubación se agregó 0.5 mL de reactivo color a todos los tubos; para luego incubarlos a 37 °C por 10 minutos; después de esto, se le añadió 5 mL de NaOH 0.4 N a todos los tubos y por último mezclamos por inversión para proceder a leer a 505 nm contra blanco reactivo.

### **Hemoglobina**

Se preparó la muestra blanco, que contiene la solución drabkin (5 mL) y dicha muestra tiene la finalidad de llevar a cero el espectrofotómetro. Para

preparar las muestras problemas se usó 5 mL de solución drabkin con 20 uL de sangre fresca en EDTA; ambas muestras (blanco y problema) requieren una incubación a 37 °C por 1 hora, luego se procedió con la lectura en el espectrofotómetro a 540 nm (ELITech Clinical Systems).

### **Hematocrito**

Se llenó el capilar micro-hematocrito hasta llegar aproximadamente los  $\frac{3}{4}$  del mismo con la sangre extraída, se taponea el extremo posterior con plastilina; luego se le centrifuga a 3000 rpm por 10 minutos para luego proceder con la lectura en una tabla de micro escala (Técnica de micro-hematocrito).

#### 3.4.5.2. Parámetros productivos

Se evaluaron por fases de 1 a 7 días de edad, 8 a 21 días de edad y 22 a 42 días de edad.

Los parámetros zootécnicos evaluados fueron:

#### **Consumo de alimento diario (CAD, 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 diario de alimento por ave en cada fase.

### **Ganancia de peso diario (GPD, g/día)**

La ganancia de peso diario (GPD, g/día) se determinó por diferencia del peso de las aves al final de cada fase con el peso inicial de la fase y esto a su vez se dividió entre el número de días que duró determinada fase.

### **Conversión alimenticia (CA)**

La conversión alimenticia de cada fase evaluada se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$CA_n = \frac{AC_n}{GP_n}$$

Donde:

$CA_n$  = Conversión alimenticia de la fase "n".

$AC_n$  = Alimento consumido de la fase "n".

$GP_n$  = Ganancia de peso de la fase "n".

### **Consumo de agua diario (CAD, mL/día)**

El consumo diario de agua se determinó por diferencia entre la cantidad de agua consumida durante los días que duró cada fase 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 diario de agua por ave en cada fase.

#### 3.4.6. Variable independiente

Extracto acuoso atomizado de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) (EAAUG).

#### 3.4.7. Tratamientos

Consistió en la adición de diferentes niveles de EAAUG, en el agua de bebida de pollos de carne de la línea genética COBB 500.

T1: Agua sin inclusión de EAAUG.

T2: Agua con inclusión de 5 IC<sub>50</sub> de EAAUG.

T3: Agua con inclusión de 10 IC<sub>50</sub> de EAAUG.

T4: Agua con inclusión de 20 IC<sub>50</sub> de EAAUG.

## 3.4.8. Croquis de distribución de los tratamientos

$T_2R_4$	$T_0R_3$	$T_3R_4$	$T_1R_3$
$T_0R_5$	$T_1R_5$	$T_0R_2$	$T_2R_1$
$T_2R_5$	$T_3R_2$	$T_1R_2$	$T_3R_1$
$T_3R_3$	$T_2R_3$	$T_2R_2$	$T_0R_1$
$T_1R_4$	$T_0R_4$	$T_3R_5$	$T_1R_1$

**Tratamientos:  $T_1, T_2, T_3$  y  $T_4$**   
**Repeticiones:  $R_1, R_2, R_3, R_4$  y  $R_5$**

## 3.4.9. Análisis estadístico

Para las variables enzimática y sanguínea, los resultados fueron analizados mediante un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial 4 x 2 (Cuatro niveles de EAAUG y 2 tiempos), con 4 tratamientos y 5 repeticiones; la unidad experimental fue conformada por 5 aves. Los resultados fueron

analizados mediante el análisis de variancia. Para el cálculo de las diferencias significativas mínimas entre las medias del tratamiento se utilizó el test de Tukey a 5 %, cuyo modelo aditivo lineal es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + \beta_j + (T\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk} + K_{etj}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = i-ésimo tratamiento del j-ésimo tiempo del k-ésimo error.

$\mu$  = Media poblacional.

$T_i$  = Efecto del i-ésimo nivel de inclusión de EAAUG (i = 0 IC<sub>50</sub>, 5 IC<sub>50</sub>, 10 IC<sub>50</sub> y 20 IC<sub>50</sub>).

$B_j$  = Efecto de la j-ésima edad (i = 21, y 42).

$(T\beta)_{ij}$  = Efecto de la interacción del i-ésimo nivel y de la j-ésima edad.

$e_{ijk}$  = Error experimental.

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

$$Y_{ij} = u + T_i + e_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = j-ésima observación del i-ésimo tratamiento.

$u$  = Media poblacional.

$T_i$  = Efecto del i-ésimo nivel de inclusión de EAAUG ( $i = 0$   
IC<sub>50</sub>, 5 IC<sub>50</sub>, 10 IC<sub>50</sub> y 20 IC<sub>50</sub>).

$e_{ij}$  = Error experimental.

Para el cálculo de las diferencias significativas mínimas entre las medias del tratamiento se utilizó el test de Tukey 5%.

#### 3.4.10. Variables dependientes

- Indicadores bioquímicos sanguíneos
  - Proteína total sérica (g/dL)
  - Albúmina sérica (g/dL)
  - Transaminasa glutámico pirúvica, Actividad ALT (UI / L)
  - Transaminasa glutámico oxalacética, Actividad AST (UI / L)
  - Hemoglobina (g/dL)
  - Hematocrito (%)



- Parámetros productivos
  - Consumo de alimento (g)
  - Ganancia de peso (g)
  - Consumo de agua (mL)
  - Conversión alimenticia

#### IV. RESULTADOS

##### 4.1. Actividad antioxidante del extracto acuoso atomizado de uña de gato sobre el radical libre 1,1-diphenyl-2-picrilhydrazil (DPPH).

En el Cuadro 3, se muestra la capacidad de inhibición de las diferentes concentraciones de EAAUG frente al radical DPPH, observándose que la capacidad de inhibición está en relación a la concentración del EAAUG, siendo el T4 (250 µg/mL) el que posee mayor capacidad de inhibición del radical libre.

Cuadro 3. Efecto del extracto acuoso atomizado de uña de gato en la inhibición del DPPH<sup>1</sup>.

Tratamientos (concentración de EAAUG )	Absorbancia 515 nm	Inhibición %
T1: 63 µg/mL	0.809 ± 0.01	34.73 ± 0.66 <sup>d</sup>
T2: 125 µg/mL	0.496 ± 0.01	59.96 ± 0.95 <sup>c</sup>
T3: 188 µg/mL	0.317 ± 0.01	74.42 ± 0.70 <sup>b</sup>
T4: 250 µg/mL	0.147 ± 0.01	88.17 ± 0.77 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Valores representan promedio ± SEM y provienen de n=3. Lecturas de absorbancias obtenida en 10 minutos. Valores en una misma columna con diferente superíndice, indican diferencia estadística (Tukey 5%).

En el Grafico 1, se muestra la capacidad de inhibición de las diferentes concentraciones de EAAUG frente al radical DPPH, observándose que a mayor concentración de EAAUG mayor es la inhibición del radical DPPH.

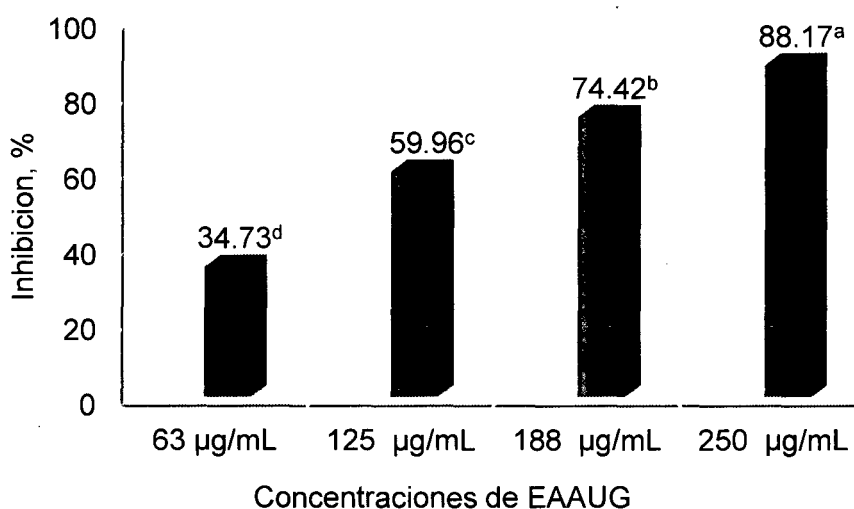


Grafico 1. Porcentaje de inhibición del radical libre DPPH con extracto acuoso atomizado de uña de gato.

En el Grafico 2, se observa que en los primeros 5 minutos se da la mayor capacidad de inhibición del radical libre DPPH, siendo el de 250 ug/mL el de mayor velocidad de secuestro.

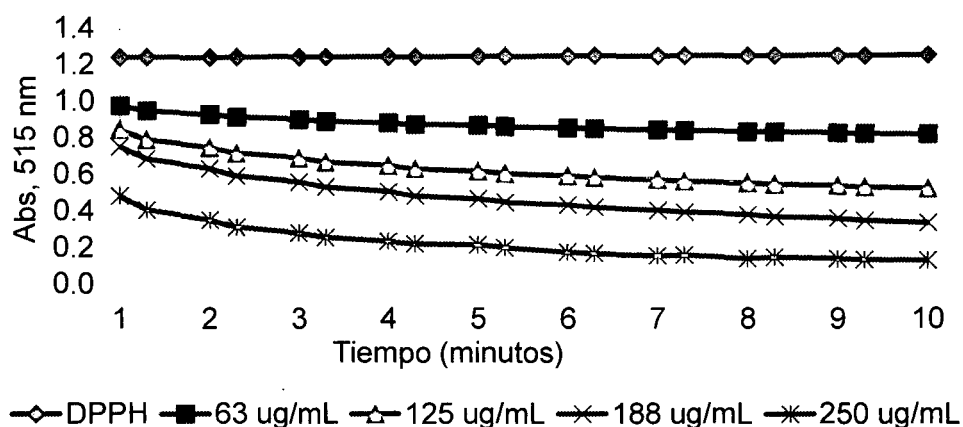


Grafico 2. Curvas de inhibición del DPPH por acción del extracto acuoso atomizado de uña de gato.

El Grafico 3, muestra el coeficiente de inhibición ( $IC_{50}$ ) de DPPH; en función a la ecuación lineal se determinó que la concentración de extracto acuoso atomizado de uña de gato requerida para inhibir el 50% de DPPH es de 105.03 ug/mL.

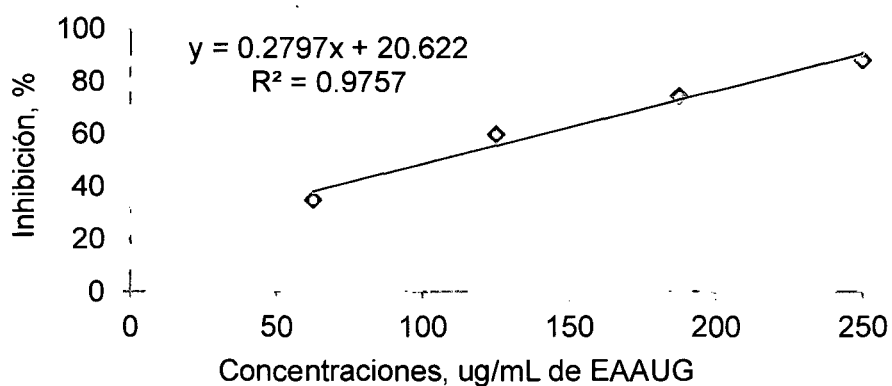


Grafico 3. Coeficiente de inhibición ( $IC_{50}$ ) del DPPH por el extracto acuoso atomizado de uña de gato.

4.2. Efecto de la suplementación del extracto acuoso atomizado de uña de gato sobre los perfiles bioquímicos sanguíneos y constantes hematológicas.

En el Cuadro 4, se observan los promedios  $\pm$  error estándar de la proteína total sérica (PT, g/L), albumina (ALB, g/dL), hemoglobina (HB, gr/dL), hematocrito (HC, %), alanino aminotrasferasa (ALT, UI/L) y aspartato aminotrasferasa (AST, UI/L); de pollos suplementados con diferentes niveles de EAAUG y evaluados a los 21 y 42 días de edad; notándose diferencia estadística ( $p < 0.05$ ) para ALB, HB Y HC.

En el Cuadro 5, se muestra el desdoblamiento de dos factores: Niveles de EAAUG y edad (días) para albumina (g/dL); notándose diferencia estadística ( $p < 0,05$ ) entre los dos factores estudiados (niveles de EAAUG y edad en días).

Cuadro 5. Desdoblamiento de dos factores: Niveles de EAAUG y edad (días).

Albumina (g/dL)				
Edad (días)	Niveles de EAAUG			
	T1 (0 IC <sub>50</sub> )	T2 (5 IC <sub>50</sub> )	T3 (10 IC <sub>50</sub> )	T4 (20 IC <sub>50</sub> )
21	1.09 a B	1.05 a B	1.02 a B	1.06 a B
42	1.83 b A	1.85 b A	1.88 b A	2.11 a A

<sup>a,b,AB</sup> Letras minúsculas diferentes en la misma fila y mayúsculas diferentes en la misma columna, indican diferencia estadística (Tukey 5%).

Cuadro 4. Perfiles bioquímicos sanguíneos y constantes hematológicas de pollos suplementados con diferentes niveles de EAAUG y evaluados a los 21 y 42 días de edad.

Factores	PT g/dL	ALB g/dL	HB g/dL	HC %	ALT UI/L	AST UI/L
EAAUG <sup>1</sup>	p= 0.52	p= 0.0001	p= 0.0001	p= 0.0001	p= 0.28	p= 0.08
Edad	p= 0.0001	p= 0.0001	p= 0.0001	p= 0.43	p= 0.0001	p= 0.0001
EAAUG X Edad <sup>2</sup>	p= 0.06	p= 0.0001	p= 0.95	p= 0.22	p= 0.52	p= 0.32
C.V. (%) <sup>3</sup>	5.25	6.72	9.85	4.20	16.64	3.98
<b>Niveles de EAAUG</b>						
T1 ( 0 IC <sub>50</sub> )	2.54 ± 0.05	1.46 ± 0.09 <sup>b</sup>	9.31 ± 0.63 <sup>b</sup>	30.55 ± 0.29 <sup>c</sup>	18.20 ± 3.36	187.94 ± 14.58
T2 ( 5 IC <sub>50</sub> )	2.57 ± 0.05	1.45 ± 0.09 <sup>b</sup>	10.49 ± 0.67 <sup>a</sup>	31.43 ± 0.33 <sup>bc</sup>	17.25 ± 3.36	182.25 ± 13.71
T3 (10 IC <sub>50</sub> )	2.55 ± 0.07	1.45 ± 0.10 <sup>b</sup>	11.00 ± 0.63 <sup>a</sup>	32.50 ± 0.34 <sup>ab</sup>	18.05 ± 3.41	183.61 ± 13.71
T4 ( 20 IC <sub>50</sub> )	2.60 ± 0.06	1.59 ± 0.12 <sup>a</sup>	10.74 ± 0.62 <sup>a</sup>	33.10 ± 0.24 <sup>a</sup>	19.14 ± 3.20	183.48 ± 17.70
<b>Edad en días</b>						
21	2.35 ± 0.02 <sup>b</sup>	1.06 ± 0.01 <sup>b</sup>	7.79 ± 0.17 <sup>b</sup>	32.01 ± 0.19	3.87 ± 0.39 <sup>b</sup>	124.02 ± 0.69 <sup>b</sup>
42	2.78 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.92 ± 0.03 <sup>a</sup>	12.98 ± 0.20 <sup>a</sup>	31.78 ± 0.32	32.45 ± 0.55 <sup>a</sup>	244.62 ± 1.54 <sup>a</sup>

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

<sup>1</sup>EAAUG: Extracto acuoso atomizado de uña de gato.

<sup>2</sup>EAAUG x Edad: Interacción EAAUG y Edad.

<sup>3</sup>CV: Coeficiente de variación.

4.3. Efecto de la suplementación del extracto acuoso atomizado de uña de gato sobre los parámetros productivos de pollos.

En el Cuadro 6, se muestra el consumo diario de agua (CDA, mL) por los pollos durante las tres fases de evaluación, notándose diferencia estadística ( $p < 0.05$ ) para el consumo de agua en la fase de inicio (1 -7 días de edad).

Cuadro 6. Promedios  $\pm$  error estándar del consumo diario de agua (mL/día) de pollos suplementados con diferentes niveles de EAAUG en función a las fases evaluadas.

Tratamientos	Fase inicio (1-7 días edad)	Fase crecimiento (8-21 días edad)	Fase acabado (22-42 días edad)
T1 (0 IC <sub>50</sub> )	57.2 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	173.1 $\pm$ 1.26	450.9 $\pm$ 5.76
T2 (5 IC <sub>50</sub> )	59.7 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	172.9 $\pm$ 2.26	445.5 $\pm$ 5.35
T3 (10 IC <sub>50</sub> )	57.0 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>	174.2 $\pm$ 3.02	464.6 $\pm$ 1.54
T4 (20 IC <sub>50</sub> )	54.7 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup>	170.7 $\pm$ 2.25	450.5 $\pm$ 6.69
C.V.	0.62	2.96	2.57
P	p= 0.0001	p= 0.750	p= 0.101

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

Cuadro 7. Promedios  $\pm$  error estándar del PI, PF, CAD, GPD en gramos/día y CA de pollos suplementados con diferentes niveles de EAAUG en función a las fases evaluadas.

En el Cuadro 7, donde se observa las variables de peso al inicio (PI, g), peso final (PF, g), consumo diario de alimento (CDA, g), ganancia diaria de peso (GDP, g) y conversión alimenticia (CA), de pollos suplementados con diferentes niveles de extracto acuoso atomizado de uña de gato en las diferentes fases.

T	PI	PF	CAD	GPD	CA
Fase inicio: 1 - 7 días de edad					
T1	52.66 $\pm$ 0.71	171.60 $\pm$ 1.86	19.66 $\pm$ 0.25 <sup>ab</sup>	17.02 $\pm$ 0.25	1.16 $\pm$ 0.02
T2	53.56 $\pm$ 1.09	172.52 $\pm$ 3.80	20.38 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	17.00 $\pm$ 0.69	1.20 $\pm$ 0.05
T3	53.44 $\pm$ 0.72	173.32 $\pm$ 0.80	19.84 $\pm$ 0.20 <sup>ab</sup>	17.14 $\pm$ 0.19	1.16 $\pm$ 0.02
T4	53.24 $\pm$ 1.13	165.92 $\pm$ 1.39	19.50 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>	16.12 $\pm$ 0.33	1.21 $\pm$ 0.03
C.V.	3.92	2.96	2.18	5.49	6.32
P	p= 0.91	p= 0.13	p= 0.03	p= 0.31	p= 0.49
Fase crecimiento: 8 - 21 días de edad					
T1	171.60 $\pm$ 1.86	1038.9 $\pm$ 9.01	72.72 $\pm$ 0.27	61.94 $\pm$ 0.69	1.17 $\pm$ 0.02
T2	172.52 $\pm$ 3.80	1020.6 $\pm$ 8.77	70.58 $\pm$ 0.70	60.58 $\pm$ 0.39	1.17 $\pm$ 0.02
T3	173.32 $\pm$ 0.80	1043.9 $\pm$ 12.71	71.90 $\pm$ 0.55	62.20 $\pm$ 0.86	1.16 $\pm$ 0.02
T4	165.92 $\pm$ 1.39	1036.4 $\pm$ 7.72	71.88 $\pm$ 0.75	62.14 $\pm$ 0.64	1.16 $\pm$ 0.01
C.V.	2.96	1.76	1.86	2.42	2.94
P	p= 0.13	p= 1.06	p= 0.13	p= 0.30	p= 0.81
Fase acabado: 22 - 42 días de edad					
T1	1038.9 $\pm$ 9.01	2780.6 $\pm$ 27.08	157.08 $\pm$ 0.51	82.94 $\pm$ 1.01	1.89 $\pm$ 0.03
T2	1020.6 $\pm$ 8.77	2760.2 $\pm$ 7.74	156.26 $\pm$ 0.60	82.84 $\pm$ 0.37	1.89 $\pm$ 0.01
T3	1043.9 $\pm$ 12.71	2785.6 $\pm$ 24.21	156.76 $\pm$ 0.96	82.94 $\pm$ 0.81	1.89 $\pm$ 0.02
T4	1036.4 $\pm$ 7.72	2766.8 $\pm$ 19.42	157.46 $\pm$ 0.63	82.38 $\pm$ 0.65	1.91 $\pm$ 0.01
C.V.	1.76	1.69	0.99	2.02	2.03
P	p= 1.06	p= 0.81	p= 0.67	p= 0.94	p= 0.74

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



## V. DISCUSIÓN

### 5.1. Actividad antioxidante del extracto acuoso atomizado de uña de gato sobre el radical libre 1,1-diphenyl-2-picrilhydrazil (DPPH).

Los resultados obtenidos de la capacidad antioxidante del extracto acuoso atomizado de uña de gato demostraron que es un antioxidante eficaz, que se sustenta en la capacidad inhibitoria o de secuestro del radical libre 1,1-diphenyl-2-picrilhydrazil (DPPH); esto se debe a que la uña de gato tiene en su composición cis-epicatequina, procianidinas, ácidos oleanólico y ursólico; que tienen una potente actividad como antioxidantes eliminando radicales libres (RIZZI Y COLS, 1993). Los tratamiento con 63  $\mu\text{g/mL}$  y 250  $\mu\text{g/mL}$  generaron una inhibición de 34.73 y 88.17% respectivamente, demostrando que a mayor concentración de extracto acuoso atomizado de uña de gato hay mayor inhibición del radical DPPH. El coeficiente de inhibición al 50% ( $\text{IC}_{50}$ ) de DPPH fue de 105.03  $\mu\text{g/mL}$  del extracto acuoso atomizado de uña de gato. 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-picrilhidrazilo (DPPH) reportando para la corteza de *Uncaria tomentosa*, liofilizada y micropulverizada inhibiciones de 88.5 y 87.5% respectivamente y resultados de IC<sub>50</sub> de 18 y 150 µg/mL, para ambas formas de procesamiento de la corteza de uña de gato respectivamente. Nuestros resultados muestran que el extracto atomizado de uña de gato también tiene una alta capacidad de inhibición o secuestro de radicales libres, ya que este tipo de proceso (atomizado) conserva la mayoría de compuestos volátiles, la calidad y las propiedades funcionales del producto haciéndolas más disponibles (SHARMA *et al.*, 2003).

Por lo tanto el extracto atomizado de uña de gato ha demostrado tener capacidad de inhibir radicales libres que son los principales indicadores de la pérdida de la capacidad funcional de la célula, que lo conduce al envejecimiento y a la muerte (RODRIGUEZ *et al.*, 2001).

5.2. Efecto de la suplementación del extracto acuoso atomizado de uña de gato sobre los perfiles bioquímicos sanguíneos y constantes hematológicas.

KEPLINGER (1989), demostró que los alcaloides oxindólicos pentacíclicos extraídos de la corteza de la *Uncaria tomentosa* tienen actividad citostática contraceptiva y antiinflamatoria; concluyendo que los alcaloides mencionados producen aumento de fagocitosis, determinados en ensayos *in vitro*

e *in vivo*; por otro lado (OBREGON, 1997) han encontrado constituyentes no alcaloidicos como heterósidos, compuestos fenólicos (flavonoides, las procianidinas y cinchonainas) y el ácido quinóvico, siendo este último uno de los principales responsables de la actividad antiinflamatoria.

Los alcaloides son metabolitos secundarios muchos de ellos extraídos de plantas medicinales, los alcaloides en la naturaleza se encuentran principalmente en las raíces, cortezas, hojas y semillas de las plantas, los cuales juegan un rol gravitante en la acción fitoterapéutica reconocida de muchas plantas medicinales; por otro lado los glicósidos y terpenos son compuestos químicos no alcalóidicos que también han demostrado tener capacidad fitoterapéutica (OBREGON, 1997).

El tiempo de consumo del extracto acuoso atomizado de uña de gato por los pollos fue de 42 días, se pudo observar que a medida que se incrementó los niveles de extracto acuoso atomizado de uña de gato también se incrementó los niveles de albumina, hemoglobina y hematocrito, encontrándose diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos para estas variables; esto probablemente se debe a que los alcaloides, glicósidos y terpenos presentes en la uña de gato tienen propiedades inmunoestimulantes fortaleciendo el sistema inmunológico ayudando a un uso más eficiente de la energía celular permitiendo un regeneramiento de las células, aún bajo condiciones no favorables (CABIESES,

1997). No se encontró diferencia estadística ( $p>0.05$ ) para las variables de proteína total, alanino aminotransferasa y aspartato aminotransferasa.

Los niveles de hemoglobina obtenidos en el presente estudio (Cuadro 4) de pollos bajo los efectos de los niveles de extracto acuoso atomizado de uña de gato, son estadísticamente diferentes ( $P<0.05$ ) siendo el T1 el que obtuvo menor valor comparado al T2, T3 y T4, a la vez siendo estos últimos iguales entre sí; evidenciando que la incorporación de extracto acuoso atomizado de uña de gato influye incrementando los niveles de hemoglobina en la sangre. Estos hallazgos contradicen a los publicados en la literatura por (SAAVEDRA, 2006), donde menciona que las aves que recibieron extracto acuoso de corteza de uña de gato en la etapa de acabado (21 a 35 días de edad) tuvieron una disminución ligera de hemoglobina en comparación con las aves que no la recibieron. Cabe mencionar que todos los resultados obtenidos en el presente estudio se encuentran dentro del parámetro normal, que es de 7 a 18.6 g/dL (UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA, 2011).

Con respecto a la edad de las aves, la hemoglobina se vio influenciada, siendo estos estadísticamente diferentes ( $p<0.05$ ); como se observa, la hemoglobina a los 21 días de vida fue de 7.79 g/dL y a los 42 días de vida se incrementó hasta 12.98 g/dL. Este aumento de hemoglobina está en relación con ciertos factores como: edad, peso corporal y ambiente (BAUER, 1989).

Los niveles de hematocrito obtenidos en el presente estudio (Cuadro 4) de pollos bajo los efectos de los niveles de extracto acuoso atomizado de uña de gato, son diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ ) siendo el T1 el que obtuvo menor valor comparado con el T4, notándose que a medida que se incrementó los niveles de extracto acuoso atomizado de uña de gato aumento 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 incrementado los niveles de hematocrito. Cabe mencionar que todos los resultados obtenidos en el presente estudio se encuentran dentro del parámetro normal, que es de 23 a 55%. (UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA, 2011).

Con respecto a la edad de las aves, los niveles de hematocrito resultaron ser estadísticamente iguales ( $P > 0.05$ ); se observa que el valor del hematocrito a los 21 días de edad es de 31.90% y a los 42 días de 30.67%; MATEO 2006, indica que los valores de hematocrito se ven influenciados por la edad, el sexo y la geografía. También se debe tener en cuenta que los valores varían de un laboratorio a otro, de ahí que en los resultados de las pruebas analíticas se pongan también los valores usados; no obstante, sirvan los datos expuestos como referencia.

Los niveles de proteína sérica obtenidos en el presente estudio (Cuadro 4) de pollos bajo los efectos de los niveles de extracto acuoso atomizado de uña de gato, son estadísticamente iguales ( $P > 0.05$ ) y se encuentran dentro del

parámetro normal, que es de 2.1 a 5.3 g/dL, como indica JÍNEZ *et al.*, (1998) Y REÁTEGUI (2012); para este parámetro no hubo influencia del extracto acuoso atomizado de uña de gato. Con respecto a la edad del ave, los niveles de proteína sérica obtenidas son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ); observándose que el valor de la proteína total sérica a los 21 días de edad es de 2.35 g/dL y a los 42 días de edad es de 2.78 g/dL. 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. Los intervalos de referencia relacionados con la edad son ideales para interpretar los datos de proteína pero raramente se dispone de ellos.

Los niveles de albumina sérica obtenidos en el presente estudio (Cuadro 4) de pollos bajo los efectos de los niveles de extracto acuoso atomizado de uña de gato, son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ) siendo el T4 el que obtuvo mayor valor comparado al T1, T2 y T3, a la vez siendo estos últimos estadísticamente iguales entre sí. EVANS Y DUNCAN (2005), menciona que la albumina se reduce ligeramente en lesiones tisulares agudas o inflamaciones, por lo que el T4 al tener una mayor concentración de extracto acuoso atomizado de uña de gato obtuvo un mayor valor comparado con los demás tratamientos; esto se debe a que la uña de gato tiene una gran actividad antiinflamatoria e antioxidante (PERALTA Y ZAMBRANO, 1992). Cabe mencionar que todos los resultados obtenidos en el presente estudio se encuentran dentro del parámetro normal, que es de 1.0 a 2.7 g/dL, como menciona JÍNEZ *et al.*, (1998) Y

REÁTEGUI (2012). Con respecto a la edad del ave, los niveles de albumina sérica obtenidas son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ); observándose que el valor de la albumina sérica a los 21 días de edad es de 1.06 g/dL y a los 42 días de edad es de 1.92 g/dL. WILLARD *et al.* (2001) menciona que los valores bajos de albumina son normales para los animales muy jóvenes, los valores aumentan gradualmente hasta la fase adulta; los más altos son los valores promedio normales para adultos. Tanto la albumina como la globulina tienden a declinar con el avance de la ancianidad.

En el Cuadro 5, se muestra el desdoblamiento de dos factores: Niveles de extracto acuoso atomizado de uña de gato y edad (días) para la albumina (g/dL); notándose diferencia estadística ( $p < 0.05$ ) entre los factores estudiados (niveles de EAAUG y edad en días). Se observa que a los 21 días de edad del ave no hay efecto del extracto acuoso atomizado de uña de gato sobre los niveles de albumina; sin embargo a los 42 días de edad del ave se observa que al suministrar el T4 (20  $IC_{50}$ ) se incrementa el nivel de albumina comparado con los demás tratamientos, esto se debe a que la uña de gato tiene una gran actividad antiinflamatoria e inmunoestimulante (PERALTA Y ZAMBRANO, 1992). Cabe mencionar que los valores obtenidos se encuentran dentro del parámetro normal, que es de 1.0 a 2.7 g/dL, como menciona JÍNEZ *et al.*, (1998) Y REÁTEGUI (2012).

Los niveles de alanino aminotrasferasa y aspartato aminotrasferasa obtenidos en el presente estudio (Cuadro 4) de pollos bajo los efectos de los niveles de extracto acuoso atomizado de uña de gato, son estadísticamente iguales ( $P>0,05$ ); los resultados muestran que no hubo efecto de la uña de gato sobre estos parámetros bioquímicos. Los resultados obtenidos están dentro de los parámetros normales en ambos casos, como indica ARRIETA *et al.* (2006) Y REATEGUI (2012), los parámetros de alanino aminotrasferasa y aspartato aminotrasferasa son de 3.38 a 80.4 UI/L y 89.6 a 243.21 UI/L respectivamente.

Por su parte ARRIETA, *et al.*, (2007), realizó un estudio sobre alteraciones histológicas hepáticas e incremento de proteínas séricas en pollos de engorde alimentados con dietas suplementadas con *Saccharomyces cerevisiae* (SC). Se utilizaron dos grupos de pollos que recibieron la dieta T1 (alimento comercial sin SC) y la dieta T2 (alimento comercial con 0.1% SC). A los 42 días los valores de AST para el T1 y T2 fueron de 243.21 y 227.18 UI/L, respectivamente; para el caso de la ALT fueron de 4.97 y 5.35 UI/L; concluyendo para ambos que no se detectó diferencia en los valores de AST y ALT.

Con respecto a la edad del ave, los niveles de alanina aminotrasferasa obtenidas son estadísticamente diferentes ( $P<0.05$ ); observándose que el valor a los 21 días de edad es de 3.87 UI/L y a los 42 días de edad es de 32.45 UI/L; pero ambos encontrándose dentro de los parámetros normales.



Con respecto a la edad del ave, los niveles de aspartato aminotransferasa obtenidas son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ); observándose que el valor a los 21 días de edad es de 124.02 UI/L y a los 42 días de edad es de 244.62 UI/L; pero ambos encontrándose dentro de los parámetros normales.

### 5.3. Efecto de la suplementación del extracto acuoso atomizado de uña de gato sobre los parámetros productivos de pollos.

El consumo de agua (Cuadro 6) de pollos suplementados con diferentes niveles de extracto acuoso atomizado de uña de gato, fue estadísticamente diferente ( $P < 0,05$ ) para la fase de inicio (1 - 7 días de edad) mostrándose que el T2 consumió mayor cantidad de agua, seguido por los tratamientos T1 y T3 que tuvieron similar consumo y el T4 fue el que consumió menor cantidad de agua; esto puede deberse al sabor amargo de la uña de gato lo cual fue detectado por los pollos del T4 haciendo que el consumo sea menor que los demás tratamientos. El consumo de agua para las fases de crecimiento (8 - 21 días de edad) y acabado (22 - 42 días de edad) no mostraron diferencia estadística ( $p > 0.05$ ).

En las tres fases de evaluación (Cuadros 7) para los parámetros productivos de pollos suplementados con extracto acuoso atomizado de uña de gato no se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) para las variables evaluadas, con excepción del consumo diario de alimento en la fase de inicio (1-7

días de edad) donde se observó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos.

En la fase de inicio (1 – 7 días de edad) para el consumo de alimento, se observó que los pollos que bebieron agua con 0, 5 y 10 IC<sub>50</sub> de extracto acuoso atomizado de uña de gato consumieron más alimento ( $p < 0.05$ ) comparado a los pollos que bebieron agua con 20 IC<sub>50</sub> de extracto acuoso atomizado de uña de gato; entretanto los otros tratamientos consumieron semejante cantidad de alimento. Se observó que el tratamiento con mayor inclusión de extracto acuoso atomizado de uña de gato en el agua de bebida tuvo un menor consumo de alimento, esto puede deberse a que la uña de gato al tener un sabor amargo fue detectado por los pollos haciendo que consuman menor cantidad de agua y por ende menor cantidad de alimento, pero esto no influyó en la ganancia de peso y en la conversión alimenticia en esta fase 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).

Por su parte COBB-VANTRESS (2012); indica que el rendimiento productivo recomendado para pollos machos de la línea Cobb 500 a los 42 días de edad es de 113g de CDA, 66g de GDP y 1.68 de CA; siendo estos valores corroborados con los obtenidos en el presente estudio.

Por su parte SAAVEDRA (2008), al evaluar el efecto de la adición del extracto acuoso de uña de gato en la etapa de acabado (21 – 35 días de edad) de pollos parrilleros, encontró diferencia significativa ( $p < 0.01$ ) entre el T1 (suministro de agua sin extracto acuoso de corteza de uña de gato) y T2 (suministro de agua con extracto acuoso de corteza de uña de gato) para las variables de consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia. El T2 tuvo mejor respuesta en las tres variables: consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia.

## VI. CONCLUSIONES

- El extracto acuoso atomizado de uña de gato demostró poseer actividad antioxidante al inhibir el radical libre 1,1-diphenyl-2-picrilhydrazil (DPPH) en 88.17 % con una concentración de 250 ug/mL.
- La actividad antioxidante del extracto acuso atomizado de uña de gato expresada como coeficiente de inhibición del 50% de radicales libres DPPH (IC<sub>50</sub>), fue de 105.03 ug/mL.
- Los niveles de extracto acuoso atomizado de uña de gato mostraron efectos positivos sobre los perfiles bioquímicos de los pollos machos para las variables de albumina, hemoglobina y hematocrito; mientras que las variables de proteína total, ALT Y AST no fueron influenciadas.
- Los diferentes niveles de extracto acuoso atomizado de uña de gato no tuvieron influencia sobre los parámetros productivos de los pollos machos en ninguna de las fases y periodos evaluados; con excepción de las variables consumo de alimento y consumo de agua para la fase de inicio (1-7 días de edad).

## VII. RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones con extracto acuoso atomizado de uña de gato incorporando en la ración alimenticia de animales domésticos.
- Implementar equipos y reactivos en el laboratorio de sanidad animal para futuros trabajos científicos sobre bioquímica sanguínea.

## VIII. ABSTRACT

### **ANTIOXIDANT CAPACITY ATOMIZED EXTRACT OF CAT'S CLAW (*Uncaria tomentosa*) AND EFFECT ON BLOOD BIOCHEMICAL PROFILES, AND HEMATOLOGIC PARAMETERS CONSTANT PRODUCTION IN BROILERS**

This study was conducted from December 2011 to April 2012 at the Center for Research on Amazonian Natural Products (CRANP), Poultry Experimental Unit of the Center for Training and Research Livestock Farm (CTRLF) and the Laboratory for Sanitary Animal of the Animal Science Faculty. These facilities are located at Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), Department of Huánuco, Province of Leoncio Prado, and District of Rupa Rupa. The geographical information is as follows: 09° 17' 58" South latitude, 76° 01' 52" West longitude, 660m above sea level, 24.85°C annual average temperature, 3200mm average rain precipitation, and 80% relative humidity. Ecologically this area is considered as a very humid pre-Montana sub-tropical (bmh - PMST) forest. The purpose of this study using an aqueous spray dried extract of uña de gato (EAAUG), *Uncaria tomentosa*, was twofold: (1) to determine the *in vitro* antioxidant capacity measured by the percentage of inhibition and 50% inhibition coefficient (IC<sub>50</sub>ug/mL) of the free

radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl [DPPH] and (2) to assess *in vivo*, the administration of 0, 5, 10 or 20  $IC_{50}$   $\mu$ g/mL of EAAUG in the drinking water of Cobb 500 broilers on blood chemistry (total protein, albumin, aspartate aminotransferase, and alanine aminotransferase), hematological constants (hematocrit and hemoglobin) and productive parameters (body weight gain, feed conversion, feed consumption, and water intake) during the rearing phases of starting, growing and finishing, respectively (42 days, 25 one-day chicks/treatment and 05 replicates were used). For the *in vitro* antioxidant capacity of EAAUG quenching of a solution of DPPH (100  $\mu$ M) with 63, 125, 188 y 250  $\mu$ g/mL of EAAUG was quantified. The absorbance at 515 nm was recorded every 30 seconds during 10 min using a UV/Vis spectrophotometer. Results of *in vitro* experiments showed that EAAUG at concentration of 63  $\mu$ g/mL and 250  $\mu$ g/mL inhibited DPPH on 34.73 and 88.17%, respectively. These results demonstrated that inhibition of DPPH was dose dependent to EAAUG concentration. The DPPH 50% inhibition coefficient ( $IC_{50}$ ) for EAAUG was determined as 105.03  $\mu$ g/mL. The *in vivo* results for blood chemistry showed that as the concentration of EAAUG increased, the levels of albumin, hemoglobin and hematocrit also increased, the difference was significant ( $P < 0.05$ ). However, EAAUG did not influence blood total protein, AST and ALT, respectively ( $P > 0.05$ ). Similarly, results for productive parameters, especially body weight, were not different ( $P > 0.05$ ) among experimental groups.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

- AMES, B., SHIGENAGA, M., HAGEN, T. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci.* 90:7915-7922.
- ANGULO, P., VARGAS, L., RODRIGUEZ, A., OSCANOVA, J. 2005. *Uncaria tomentosa* willd DC (Uña de gato) aumenta la producción de óxido nítrico en ratones con endotoxemia por lipopolisacáridos. *Rev. Cien. Vet. Lima, Perú.* 21 (2) 3-5.
- ARRIETA, D., PÉREZ M., GÓMEZ C., MOLERO G., NOVOA E., RINCÓN H. y ASCANIO E. 2006. Efecto Del Alimento Contaminado Con Aflatoxina B1 (0,07 Mg/Kg) Sobre La Morfología Hepática Y Actividad Enzimática Sérica (Ast Y Alt) En Pollos De Engorde. [En línea]:SABER(<http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/28388/2/art5.pdf>, paper, 12 de marzo del 2012).
- ARRIETA, D., PÉREZ, M., LUENGO, A., HERNÁNDEZ, J., LISTA, D., MOSQUERA J. 2007. Alteraciones histológicas hepáticas e



incremento de proteínas séricas en pollos de engorde alimentados con dietas suplementadas con *Saccharomyces cerevisiae*. [En línea]: SCIELO ([www.scielo.org/ve/pdf/ic/v48n4/art04.pdf](http://www.scielo.org/ve/pdf/ic/v48n4/art04.pdf), documento, 12 de marzo del 2012).

BALANEHRU, S., NAGARAJAN, B. 1991. Protective effect of oleanolic acid and ursolic acid against lipid peroxidation. *Biochem. Int.* 24 (5): 981-990.

BARBOSA-CÁNOVAS, G., VEGA-MERCADO, H. 2000. Deshidratación de alimentos. Editorial acribia. Zaragoza- España. Pág. 165.

BAUER, J.D. 1989. *Clinical Chemistry, theory, Analysis, and Correlation*. Ed. Mosby. Madrid, España .513- 517 pp. .

BENDICH, A. 1993. Physiological role of antioxidants in the immune system. Symposium: Antioxidants, immune response and animal function. *J. Dairy Sci.* 76: 2789-2794.

BOWES, V., JULIAN, R., STIRTZINGER, T. Comparison of Serum Biochemical Profiles of Male Broilers with Female Broilers and White Leghorn Chickens *Can J Vet Res* 2000; 53: 7-11.

BRAKO, L., ZARUCHI, J. 1993. Catálogo de las angiospermas y gimnospermas del Perú. Edit. Missouri Botanical Garden. Volumen 45. (1993).

- BRAND – WILLIAMS., BERSET, C.Y.; CUVELIER, M.1994. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. J. Agric. Food CHEM. 1234 – 1238 p.
- CABIESES, F. 1997. La uña de gato y su entorno. 2 Ed. Lima. Universidad San Martín de Porres. 231 p.
- CALLO, N., HENOSTROZA, R., LOCK DE UGAZ, O. 1997. Constituents of *Uncaria guianensis* and *Uncaria tomentosa*. Bol Soc Quím Perú; 63: 124.
- COSTA, F. 1989. Evaluación de la *Uncaria tomentosa* (uña de gato) en la prevención de úlceras gástricas de stress producidas experimentalmente en ratas. Tesis para la Facultad de Medicina. Lima. Universidad Peruana Cayetano Heredia.
- DUKES, H. Y SWENSON, M. 1981. Fisiología de los animales domésticos. 1ed. Ciudad de México D. F., México, FOCET Universal S.A. 1054 p.
- EVANS, E. Y DUNCAN, R. 2005. Proteínas, lípidos y carbohidratos. Patología clínica veterinaria. Barcelona: Multimédica ediciones veterinarias. 199-235 pp.

- GÁLVEZ, C., RAMÍREZ, G., OSORIO, J. 2009. El laboratorio clínico en hematología de aves exóticas. *Rev. Biosalud*. Vol. 8, 178 - 188 p.
- GONZALES, M, BETANCOURT, M, ORTIZ, R. 2000. Daño oxidativo y antioxidante. *Bioquímica*. 25 (1): 3-9 p.
- GUYTON, A.C., HALL, J.E. 1999. Manual de tratado de fisiología médica. pp. 640-649. Ed. McGraw- Hill/ Interamericana. Madrid, España.
- HALLIWELL, B .1994. Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutr. Rev.* 52: 253-265.
- HUERTA, M., ORTEGA, M., COBOS, M. 2004. Estrés oxidativo y el uso de antioxidantes en animales domésticos. INCI. [Online] (<[http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442005001200002&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442005001200002&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 0378-1844).
- JONES, P. 1999. Avian Clinical pathology. *Vet Clin North Am.* 2:663-685.
- KANEKO, J., HARVEY, J., BRUSS, M.1997. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 5th ed., San Diego, Academic Press, 932p.
- KEPLINGER, K. 1989. Oxindole Alkaloids having the Properties Stimulating the Immunologic System. *J. of pharmacology*. U.S. Patent. # 4. U.S.A.

- KLYMENKO, M. Y BAZICA, M. 1998. Informe sobre el resultado del uso del extracto liofilizado de *Uncaria tomentosa*. Centro de investigación en medicina de radiación de la academia de ciencias médicas de Ucrania. Boletín INMETRA. Lima, Perú. 18 p.
- LEMAIRE, I., ASSINEWWE, V., CANO, P., AWANG, D., ARNASON, J. 1999. Stimulation of interleukin-1 and -6 production in alveolar macrophages by the neotropical liana, *Uncaria tomentosa*. J. Ethnopharmacol. 64:109-115.
- LIMDI, J. Y HYDE, G. 2003. Evaluación de las Pruebas de Función Hepática Anormales. Rev. Postgraduate Medical Journal 79(932):307-312.
- LOPEZ, J.R. 2004. Capture, restraint and transport stress in Southern chamois (*Rupicapra pyrenaica*). Modulation with acepromazine and evaluation using physiological parameters. Tesis doctoral. Bellatera, España Universidad Autónoma de Barcelona.
- MONTANE, J. 2002. Valoración del estrés captura, transporte y manejo en el corzo (*Capreolus Capreolus*): Efecto de acepromacina y de la cautividad. Tesis doctoral. Bellatera, España. Universidad Autónoma de Barcelona.

- OBREGON, L. 1997. "Uña de gato", genero *Uncaria*. Estudios botánicos, químicos y farmacológicos de *Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis*. 3 ed. Lima, Perú, Instituto de Fitoterapia Americano. 169 p.
- PERALTA, M., ZAMBRANO, H. 1992. Efecto anti- inflamatorio del extracto glicósido de *Uncaria tomentosa* (Willd) DC. "Uña de gato" tesis. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- RADI, R. Y FREKMAN, B. 1996. Free Radical Biology. The Scientist.10 [18]:13. (<http://www.the-scientist.com>, research, sep. 2011).
- REÁTEGUI, R. 2012. Efecto de diferentes niveles de torta de sachá inchi (*Plukenetia volúbilis* L.) precocida sobre el hígado y el perfil bioquímico sanguíneo de pollos de carne. Tesis Ing. Zootecnista. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 85 p.
- RIZZI, R., BIANCHI, A., DE FEO, V., DE SIMONE, F. 1993. Mutagenic and antimutagenic activities of *Uncaria tomentosa* and its extracts. J. of Ethnopharmacol. 38:67-77.
- RODRÍGUEZ, J., MENÉNDEZ, J., TRUJILLO, Y. 2001. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto".Rev. Cubana med Milit. 30 (1):36-44.

- RUIZ, U. 1995. Usos medicinales de la planta peruana "Uña de gato" Revista de Ciencias Veterinarias Vol II, N°. 2, 19-21.
- RUIZ G. 1998. Fundamentos de Hematología. 2da Edición. Editorial Médica Panamericana. México.
- SAAVEDRA, 2008. Uso de uña de gato (*Uncaria sp*) en la etapa de acabado de pollos parrilleros. Tesis Ing. Zootecnista. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 38 p.
- SANDOVAL, M., THOMPSON, J., ZHANG, J., 1998. Antiinflammatory actions of Cat's claw: the role of NF-Kb. Aliment pharmacol Ther. 12:1279-1289.
- SANDOVAL, M., CHARBONNET, R., OKUHAMA, N. 2000. Cat's claw inhibits TNF  $\infty$  production and scavenges free radicals: role in cytoprotection. Free rad. Biol. Med. 29:71-78.
- SHARMA, S., MULVANEY, S., RIZVI, S. 2003. INGENIERIA DE ALIMENTOS Operaciones Unitarias y Prácticas de laboratorio. Editorial Limusa, S.A. México D.F. Pág. 205.

- SHENG, Y., PERO, R., AMIRI, A., BRYNGELSSON, C. 1998. Induction of apoptosis and inhibition of proliferation on human tumor cells treated with extract of *Uncaria tomentosa*. *Anticancer Res*, 18: 3363-3368.
- SHENG, Y., BRYNGELSSON, C., PERO, RW. 2000. Enhanced DNA repair, immune function and reduced toxicity of C-MED 100TM, a novel aqueous extract from *Uncaria tomentosa*. *J Ethnopharmacol* 2000; 69: 115-126.
- SMITH, B.P. 1990. Large Animal Internal Medicine. Tomo I, pp. 406-408. Ed. Mosby Company. Missouri, USA.
- SODIKOFF, C.H. 1996. Pruebas diagnósticas y de laboratorio en las enfermedades de pequeños animales. 2ª Ed., pp. 3-21. Editorial Mosby. Madrid, España.
- SPRAKER, T., 1993. Stress and capture myopathy in artiodactyls. In: M.E. Fowler (ed.) Zoo and wild animal medicine. Current therapy 3. Saunders Publ., Philadelphia, PA, USA, 481-488 pp.
- UNIVERSIDAD NACIONAL AGARIA DE LA SELVA. 2009. Datos meteorológicos. Estación meteorológica José Abelardo Quiñones. Datos no publicados.

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA. 2012. Valores hematológicos normales. [En línea]: CEA.UNIZAR.ES ([http://cea.unizar.es/Disenos experimentales/Sangre/ VALORES%20HEMATOLOGICOS.pdf](http://cea.unizar.es/Disenos_experimentales/Sangre/VALORES%20HEMATOLOGICOS.pdf). Documento. 15 de abril del 2012).

WAGNER, H., KREUTZCAMP, B., JURIC, K. 1985. The Alkaloids of *Uncaria tomentosa* and their Phagocytosis Increasing Effect. *Plant Med.* Vo. 51.

WILLARD, M.D., TVEDTEN, H., TURNWALD, G.H. 2001. Diagnostico clinicopatológico práctico en los pequeños animales. 3ra edición, pp. 252- 255, Ed. Intermedica. Buenos Aires, argentina.

ZAPATA, W., FAJARDO, H. 1997. Manual de química sanguínea veterinaria. [En línea](<http://www.monografias.com/trabajos/quimsangvet/quimsangvet.shtm#top>).



## ANEXOS

Cuadro 8. Cuadro de absorbancias (515 nm) del extracto acuoso atomizado de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) al reaccionar con el radical DPPH (100  $\mu$ M).

Tiempo (Minutos)	Absorbancias (515 nm)											
	R1 ( $\mu$ g/mL)				R2 ( $\mu$ g/mL)				R3 ( $\mu$ g/mL)			
	250	187.5	125	62.5	250	187.5	125	62.5	250	187.5	125	62.5
0	0.804	0.993	1.052	1.085	0.972	1.040	1.022	1.100	0.967	1.001	1.038	1.085
1	0.403	0.681	0.787	0.943	0.572	0.670	0.766	0.951	0.554	0.673	0.765	0.935
2	0.309	0.588	0.711	0.908	0.459	0.571	0.689	0.913	0.438	0.577	0.689	0.894
3	0.254	0.527	0.663	0.885	0.383	0.506	0.638	0.890	0.364	0.513	0.636	0.869
4	0.219	0.480	0.628	0.869	0.330	0.458	0.600	0.873	0.312	0.466	0.600	0.851
5	0.197	0.444	0.600	0.856	0.291	0.420	0.571	0.859	0.276	0.429	0.572	0.836
6	0.164	0.415	0.577	0.844	0.264	0.388	0.546	0.848	0.247	0.400	0.548	0.824
7	0.156	0.390	0.558	0.835	0.243	0.358	0.526	0.839	0.197	0.371	0.526	0.814
8	0.144	0.365	0.542	0.826	0.191	0.339	0.508	0.830	0.177	0.348	0.508	0.805
9	0.131	0.345	0.527	0.818	0.168	0.313	0.492	0.823	0.156	0.326	0.491	0.797
10	0.128	0.331	0.520	0.814	0.159	0.301	0.485	0.820	0.153	0.319	0.484	0.793

Cuadro 9. Promedios  $\pm$  error estándar del PI, PF, CAD, GPD en gramos/día y CA de pollos suplementados con diferentes niveles de EAAUG en función a los periodos evaluados.

T	PI	PF	CAD	GPD	CA
Periodo 1: 1 - 7 días de edad					
T1	52.66 $\pm$ 0.71	171.60 $\pm$ 1.86	19.66 $\pm$ 0.25 <sup>ab</sup>	17.02 $\pm$ 0.25	1.16 $\pm$ 0.02
T2	53.56 $\pm$ 1.09	172.52 $\pm$ 3.80	20.38 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	17.00 $\pm$ 0.69	1.20 $\pm$ 0.05
T3	53.44 $\pm$ 0.72	173.32 $\pm$ 0.80	19.84 $\pm$ 0.20 <sup>ab</sup>	17.14 $\pm$ 0.19	1.16 $\pm$ 0.02
T4	53.24 $\pm$ 1.13	165.92 $\pm$ 1.39	19.50 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>	16.12 $\pm$ 0.33	1.21 $\pm$ 0.03
C.V.	3.92	2.96	2.18	5.49	6.32
P	p= 0.91	p= 0.13	p= 0.03	p= 0.31	p= 0.49
Periodo 2: 1 - 21 días de edad					
T1	52.66 $\pm$ 0.71	1038.9 $\pm$ 9.01	55.02 $\pm$ 0.22	46.98 $\pm$ 0.43	1.17 $\pm$ 0.01
T2	53.56 $\pm$ 1.09	1020.6 $\pm$ 8.77	53.84 $\pm$ 0.47	46.06 $\pm$ 0.45	1.17 $\pm$ 0.02
T3	53.44 $\pm$ 0.72	1043.9 $\pm$ 12.71	54.54 $\pm$ 0.37	47.16 $\pm$ 0.64	1.16 $\pm$ 0.02
T4	53.24 $\pm$ 1.13	1036.4 $\pm$ 7.72	54.38 $\pm$ 0.48	46.82 $\pm$ 0.34	1.16 $\pm$ 0.01
C.V.	3.92	1.76	1.63	2.28	2.91
P	p= 0.91	p= 1.06	p= 0.25	p= 0.41	p= 0.85
Periodo 3: 1 - 42 días de edad					
T1	52.66 $\pm$ 0.71	2780.6 $\pm$ 27.08	106.04 $\pm$ 0.33	64.94 $\pm$ 0.65	1.63 $\pm$ 0.02
T2	53.56 $\pm$ 1.09	2760.2 $\pm$ 7.74	105.06 $\pm$ 0.29	64.46 $\pm$ 0.20	1.63 $\pm$ 0.01
T3	53.44 $\pm$ 0.72	2785.6 $\pm$ 24.21	105.64 $\pm$ 0.42	65.04 $\pm$ 0.58	1.62 $\pm$ 0.01
T4	53.24 $\pm$ 1.13	2766.8 $\pm$ 19.42	105.92 $\pm$ 0.46	64.62 $\pm$ 0.46	1.64 $\pm$ 0.01
C.V.	3.92	1.69	0.81	1.73	1.75
P	p= 0.91	p= 0.81	p= 0.31	p= 0.83	p= 0.85

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

Cuadro 10. Composición nutricional del alimento balanceado para pollos PURINA.

Valores nutricionales <sup>1</sup>	INICIARINA HI-1 (1-7) DÍAS	INICIARINA HI-2 (8-21) DÍAS	ENGORDINA HI-1 (22-42) DÍAS
PROTEINA (%)	22	21	19
GRASA (%)	3	3	3
FIBRA (%)	5	5	5
HUMEDAD (%)	14	14	14
CANIZA (%)	8	8	10

<sup>1</sup>Fuente Purina 2012

Cuadro 11. Análisis de varianza para el extracto acuoso atomizado de uña de gato

(*Uncaria tomentosa*).

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F - Valor	Pr > F
Tratamientos	3	4696.40	1565.5	860.32	< .0001
Error	8	14.56	1.820		
Total	11	4711.00			

Cuadro 12. Análisis de varianza de la hemoglobina.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F - Valor	Pr > F
Tratamientos	7	574.17	82.02	78.34	< .0001
Error	72	75.39	1.047		
Total	79	649.56			

Fuente de variación	Grados de libertad	Tipo III SS	Cuadrados medios	F - Valor	Pr > F
N_UGA	3	33.27	11.09	10.59	< .0001
Tiempo	1	540.52	540.52	516.22	< .0001
Tiempo*N_UGA	3	0.38	0.13	0.120	0.9470

Cuadro 13. Análisis de varianza de la hematocrito.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F - Valor	Pr > F
Tratamientos	7	86.18	12.31	6.86	<.0001
Error	72	129.13	1.794		
Total	79	215.31			

Fuente de variación	Grados de libertad	Tipo III SS	Cuadrados medios	F - Valor	Pr > F
N_UGA	3	76.91	25.64	14.29	<.0001
Tiempo	1	1.14	1.14	0.64	0.4279
Tiempo*N_UGA	3	8.13	2.71	1.510	0.2192

Cuadro 14. Análisis de varianza de la proteína total sérica.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F - Valor	Pr > F
Tratamientos	7	3.80	0.54	29.97	<.0001
Error	72	1.30	0.018		
Total	79	5.11			

Fuente de variación	Grados de libertad	Tipo III SS	Cuadrados medios	F - Valor	Pr > F
N_UGA	3	0.04	0.01	0.76	0.5222
Tiempo	1	3.62	3.62	199.77	<.0001
Tiempo*N_UGA	3	0.14	0.05	2.58	0.0600

Cuadro 15. Análisis de varianza de la albumina sérica.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F - Valor	Pr > F
Tratamientos	7	15.36	2.19	220.06	<.0001
Error	72	0.72	0.01		
Total	79	16.08			

Fuente de variación	Grados de libertad	Tipo III SS	Cuadrados medios	F - Valor	Pr > F
N_UGA	3	0.27	0.09	8.97	<.0001
Tiempo	1	14.82	14.82	1485.6	<.0001
Tiempo*N_UGA	3	0.28	0.09	9.31	<.0001

Cuadro 16. Análisis de varianza del aspartato amino transferasa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F - Valor	Pr > F
Tratamientos	7	291468.95	41638.42	775.04	<.0001
Error	72	3868.13	53.72		
Total	79	295337.08			

Fuente de variación	Grados de libertad	Tipo III SS	Cuadrados medios	F - Valor	Pr > F
N_UGA	3	372.05	124.02	2.31	0.0837
Tiempo	1	290906.98	290906.98	5414.84	<.0001
Tiempo*N_UGA	3	189.92	63.31	1.18	0.3240

Cuadro 17. Análisis de la varianza del alanino amino transferasa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F - Valor	Pr > F
Tratamientos	7	16386.28	2340.90	256.4	<.0001
Error	72	657.36	9.13		
Total	79	17043.64			

Fuente de variación	Grados de libertad	Tipo III SS	Cuadrados medios	F - Valor	Pr > F
N_UGA	3	36.03	12.01	1.32	0.276
Tiempo	1	16329.47	16329.47	1788.55	<.0001
Tiempo*N_UGA	3	20.77	6.92	0.76	0.5211