



**UNIVERSIDAD AUTONOMA  
DE AGUASCALIENTES**

**CENTRO DE CIENCIAS AGROPECIARIAS**

**DEPARTAMENTO DE CLINICA VETERINARIA**

*TESIS*

**“Uso del pollo de engorda como modelo para evaluar el potencial  
nutricional, nutraceutico y toxicológico de la hoja de *Moringa oleifera*”**

*QUE PRESENTA*

**M.V.Z. MARTHA KARINA FUENTES ESPARZA**

*COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE*

**MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS**

COMITÉ TUTORAL

**DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN (TUTOR)  
DR. ARTURO GERARDO VALDIVIA FLORES  
DR. RAUL ORTIZ MARTINEZ  
DR. HORACIO SALVADOR GUZMÁN MALDONADO**

**Jesús María, Ags., Junio 2016.**

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

VOTOS



TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS



M. en C. GABRIEL ERNESTO PALLÁS GUZMAN  
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS  
P R E S E N T E

Por medio del presente como integrante del Comité Tutoral de la estudiante MARTHA KARINA FUENTES ESPARZA, quien realizó la tesis titulada:

**Uso del pollo de engorda como modelo para evaluar el potencial nutricional, nutracéutico y toxicológico de la hoja de *Moringa oleifera*.**

y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el VOTO APROBATORIO, para que ella pueda proceder a imprimirla, y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

*"Se Lumen Proferre"*

Aguascalientes, Ags., a 17 de mayo de 2016.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Teófilo Quezada Tristán'.

Dr. Teófilo Quezada Tristán  
Director de Tesis

c.c.p.- Interesado  
c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado  
c.c.p.- Jefatura del Depto. de Clínica Veterinaria  
c.c.p.- Consejero Académico  
c.c.p.- Minuta Secretario Técnico

**SAGARPA**  
SECRETARÍA DE AGRICULTURA,  
GANADERÍA, DESARROLLO RURAL,  
PESCA Y ALIMENTACIÓN



**30 inifap**  
ANIVERSARIO

Líder en ciencia y tecnología para el campo mexicano

JAG.00.01.00.00.01.502/

0000332

**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**

**M. en C. GABRIEL ERNESTO PALLÁS GUZMAN**  
**DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS**  
**P R E S E N T E**

Por medio del presente como integrante del Comité Tutorial de la estudiante **MARTHA KARINA FUENTES ESPARZA**, quien realizó la tesis titulada:

**Uso del pollo de engorda como modelo para evaluar el potencial nutricional, nutraceutico y toxicológico de la hoja de *Moringa oleifera*.**

y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla, y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**

Celaya, Gto., a 24 de Mayo de 2016.

Dr. Salvador Horacio Guzmán Maldonado  
Tutor



c.c.p.- Interesado  
c.c.p.- Archivo

**Campo Experimental Bajío**

Km. 6.5 Carretera Celaya-San Miguel de Allende. Mpio. Celaya. Guanajuato  
C.P. 38110. AP. 112. Tel. (461) 611 5262 Fax: (461) 611 5323 ext. 235  
www.inifap.gob.mx



**MC GABRIEL ERNESTO PALLÁS GUZMÁN  
DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
P R E S E N T E**

Por medio del presente, como integrante del Comité Tutorial designado de la egresada de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, **MVZ MARTHA KARINA FUENTES ESPARZA**, quien realizó la tesis titulada USO DEL POLLO DE ENGORDA COMO MODELO PARA EVALUAR EL POTENCIAL NUTRICIONAL, NUTRACÉUTICO Y TOXICOLÓGICO DE LA HOJA DE *MORINGA OLEIFERA*, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, estoy de acuerdo en emitir el presente **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla y continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y le envío un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 12 de mayo de 2016

**DR. ARTURO GERARDO VALDIVIA FLORES**  
Integrante del Comité Tutorial de tesis

- c.c.p.- Interesada
- c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado
- c.c.p.- Jefatura del Departamento de Clínica Veterinaria
- c.c.p.- Consejero Académico
- c.c.p.- Secretario Técnico



M. en C. GABRIEL ERNESTO PALLÁS GUZMAN  
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS  
P R E S E N T E

Por medio del presente como integrante del Comité Tutoral de la estudiante MARTHA KARINA FUENTES ESPARZA, quien realizó la tesis titulada:

**Uso del pollo de engorda como modelo para evaluar el potencial nutricional, nutracéutico y toxicológico de la hoja de *Moringa oleifera*.**

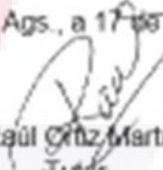
y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el VOTO APROBATORIO, para que ella pueda proceder a imprimirla, y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

*"Se Lumen Proferre"*

Aguascalientes, Ags., a 17 de mayo de 2016.

  
Dr. Raúl Ortiz Martínez  
Tutor

- c.c.p.- Interesado
- c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado
- c.c.p.- Jefatura del Depto. de Clínica Veterinaria
- c.c.p.- Consejero Académico
- c.c.p.- Minuta Secretario Técnico



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

OFICIO NO. CCA-D-111500-135-16

**DRA. GUADALUPE RUÍZ CUÉLLAR**  
**DIRECTORA GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**  
**PRESENTE.**

Por medio del presente me permito comunicarle a usted que la tesis titulada "USO DEL POLLO DE ENGORDA COMO MODELO PARA EVALUAR EL POTENCIAL NUTRICIONAL, NUTRACÉUTICO Y TOXICOLÓGICO DE LA HOJA DE MORINGA OLEIFERA", de la alumna MARTHA KARINA FUENTES ESPARZA, egresada de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, respeta las normas y lineamientos establecidos institucionalmente para su elaboración y su autor cuenta con el voto aprobatorio de su tutor y comité tutorial.

Sin más por el momento, agradezco de antemano su atención a la presente y aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

Jesús María, Aguascalientes., 07 de Junio del 2016.

"Se Lumen Proferre"

**M. en C. GABRIEL ERNESTO PALLÁS GUZMÁN**  
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

c.c.p. Departamento del Control Escolar  
c.c.p. Sección de Certificados y Títulos  
c.c.p. Secretario Técnico  
c.c.p. Estudiante  
c.c.p. Archivo

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, que me otorgó el apoyo mediante la beca n° 591300 para poder llevar a cabo mis estudios a nivel posgrado. Asimismo, a mi comité tutorial que día a día me pulió para poder formarme como investigadora y que, semestre tras semestre firmaron para que yo hiciera palpable este proyecto.

Fue un trabajo arduo, en el que impliqué varias ciencias a la vez, de las cuales, ya conocía pero no tenía control o dominio, más sin embargo gracias a los técnicos por prestarse a instruirme, capacitarme y apoyarme en los laboratorios de investigación.

Finalmente, le doy mis más infinitas gracias a todas y cada una de las personas que me motivaban a culminar lo que un día comencé, gracias familia, por las horas, días y en ocasiones semanas de ausencia.

Mis hijos son muchos y la responsabilidad más, pero gracias a mis familiares y esposo que, me brindaron su apoyo de cuidarlos incondicionalmente sin sueldo ni horario.



## DEDICATORIA

Se la dedico a la persona que cuidó cada uno de sus pasos por esta vida, a mi padre, porque sabía que yo iba a seguir sus huellas... y así, yo también cuidaré mi andar, porque sé que mis hijos siguen las mías.

Se la dedico a la mujer que me da luz, cuando me encuentro en tinieblas, a la que me da fe cuando pierdo la esperanza, a la persona que me recuerda quién soy y de quién vengo cuando me encuentro perdida, a la mujer que da todo sin esperar nada, a mi madre.

Y, se la dedico a mi fiel compañero de batallas, el que está en la dicha y en la tristeza, en la riqueza y en la pobreza, en la salud y en la enfermedad, a mi esposo.

## INDICE GENERAL

Contenido	Página
PORTADA	
VOTOS APROBATORIOS	I
AGRADECIMIENTOS	VII
DEDICATORIAS	VIII
INDICE GENERAL	1
INDICE DE CUADROS	5
INDICE DE FIGURAS	6
INDICE DE GRÁFICAS	7
ABREVIATURAS Y SIGLAS UTILIZADAS	8
RESUMEN	12
ABSTRACT	13
INTRODUCCION	14
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
<b>I. ANTECEDENTES</b>	<b>18</b>
1.1 Generalidades	18
1.2 Botánica	19
1.2.1 Las hojas	20
1.3 Estudios realizados en pollos y gallinas con moringa para evaluar aspectos nutrimentales.	25
1.4 Minerales (Ca y Fe) y vitamina C	31
1.4.1 Estudios realizados con moringa como compuesto nutracéutico	35
1.5 Capacidad antioxidante	36
1.5.1 Fenólicos Simples	38
1.6 Factores antinutricionales	39
1.7 Evaluación de efectos tóxicos generales en aves	40
1.7.1 Características generales macro y microscópicas del hígado en el pollo	44
1.7.2 Características generales macro y microscópicas de los riñones en el pollo	46
1.7.3 Estudios realizados con moringa para evaluar aspectos tóxicos	48
<b>II. OBJETIVOS</b>	<b>51</b>
2.1 Objetivo general	51
2.1.1 Objetivos específicos	51
<b>III. HIPOTESIS</b>	<b>52</b>
<b>IV. MATERIALES Y METODOS</b>	<b>53</b>
4.1 Ubicación geográfica del estudio	53

4.2 Materiales	53
4.2.1 Hojas de moringa	53
4.2.2 Material biológico	53
4.3 Métodos	54
4.3.1 Análisis proximal	54
4.3.1.1 Determinación de Humedad	54
4.3.1.2 Determinación de Cenizas totales	54
4.3.1.3 Determinación de Fibra cruda	55
4.3.1.4. Determinación de Proteína cruda	56
4.3.1.5 Determinación de Grasa cruda	57
4.3.1.6 Determinación de Carbohidratos (ELN)	57
4.3.2 Minerales y vitamina C	58
4.3.2.1 Determinación de minerales hierro y calcio	58
4.3.2.2 Determinación de vitamina C	58
4.3.3 Compuestos antinutricionales	59
4.3.4 Análisis nutracéuticos	60
4.3.4.1 Determinación de fenoles totales	60
4.3.4.2 Determinación de taninos condensados	61
4.3.4.3 Determinación de compuestos fenólicos simples por HPLC (cromatografía liquido de alta presión )	61
4.3.4.4 Capacidad antioxidante <i>in vitro</i> por el método TEAC y ORAC	62
4.3.5 Evaluación Toxicológica en pollos	64
4.3.5.1 Preparación de la dieta de HHMO al 10%	64
4.3.5.2 Manejo de la alimentación de los pollos	64
4.3.5.4 Manejo zootécnico	65
4.3.5.4.1 Limpieza y desinfección de la caseta	65
4.3.5.4.2 Limpieza y desinfección del equipo	65
4.3.5.4.3 Acondicionamiento de la caseta para la recepción del pollito (1 día de edad)	66
4.3.5.4.4 Vacunación	66
4.3.5.4.5 Toma de muestra sanguínea	66
4.3.5.4.5.1 Método por medio del ala	66
4.3.5.4.5.2 Método de punción cardiaca	67
4.3.5.4.5.3 Manipulación de la muestra de sangre	67
4.3.5.5 Cuantificación de Proteínas Totales (PT), Albúmina (ALB), Alanina Amino Transferasa (ALT),	68

Aspartato Amino Transferasa (AST), Gamma Glutamil Transpeptidasa (GGT) y Fosfatasa Alcalina (ALP) en suero sanguíneo	
4.3.5.5.1 Proteínas Totales (PT)	68
4.3.5.5.2 Albúmina (ALB)	68
4.3.5.5.3 Determinación cuantitativa de ALT	69
4.3.5.5.4 Determinación cuantitativa de AST	69
4.3.5.5.5 Determinación cuantitativa de GGT	70
4.3.5.5.6 Determinación cuantitativa de ALP	70
4.3.6 Parámetros productivos	71
4.3.6.1 peso promedio	71
4.3.6.2 Índice de conversión alimenticia	71
4.3.6.3 Ganancia diaria de Peso	71
4.3.6.4 Índice de productividad	71
4.3.7 Estudios Histopatológicos	72
4.3.8 Diseño de la investigación y análisis estadístico	73
4.3.8.1 Diseño de la Investigación	73
4.3.8.2 Análisis estadístico	74
<b>V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	75
5.1 Análisis químico proximal	75
5.2 Determinación de minerales (Hierro y Calcio) y vitamina C	76
5.3 Análisis nutracéuticos	78
5.3.1 Contenido de fenoles totales	78
5.3.2 Contenido de taninos condensados	79
5.3.3 Capacidad antioxidante	79
5.3.4 Contenido de fenólicos simples	80
5.4 Cuantificación de Proteínas Totales (PT), Albúmina (ALB), Alanina Amino Transferasa (ALT), Aspartato Amino Transferasa (AST), Gamma Glutamil Transpeptidasa (GGT) y Fosfatasa Alcalina (ALP) en suero sanguíneo	82
5.4.1 Determinación de PT y ALB	82
5.4.2 Determinación de AST, ALT y ALP	84
5.4.3 Determinación de GGT	87
5.5 Evaluación de los parámetros productivos	88
5.5.1 Peso corporal promedio	88
5.5.2 Ganancia diaria de peso	90
5.5.3 Índice de conversión alimenticia	92
5.5.4 Índice de productividad	93
5.6 Histopatología de hígado y riñón de pollos de engorda con	95

HHMO al 10%	
5.6.1 Hígado	95
5.6.2 Riñón	96
<b>VI CONCLUSIONES</b>	97
<b>VII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	98



**ÍNDICE DE CUADROS**

<b>Cuadro</b>	<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
1	Composición química y Energía bruta (EB en base a materia seca); de diferentes partes de la <i>Moringa oleífera</i>	24
2	Composición química (porcentaje de peso en materia seca) de la composición de la <i>Moringa oleífera</i>	25
3	Características nutricionales del alimento comercial	64
4	Diseño de distribución de Tratamientos en el experimento	74
5	Análisis proximal (% MS) de hoja de moringa	76
6	Contenido de hierro y calcio (mg/100 g, MS)	77
7	Contenido de ácido ascórbico y dehidroascórbico	78
8	Contenido de fenoles totales, taninos condensados y capacidad antioxidante	80
9	Contenido de ácido gálico, rutina, ácido clorogénico y ácido cumárico (mg/100g, MS).	81

**ÍNDICE DE FIGURAS**

<b>Figura</b>	<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
1	Componentes del árbol de moringa	18
2	Identificación. A, hojas pinnadas; B,C,D, frutos y semillas	20
3	Soluciones utilizadas en el procesador automático de tejidos	72
4	Soluciones utilizadas en la tinción de cortes para histología	73
5	Hígado de pollo HHM (T2-1) con aumento 10X y tinción HE, día 42. (a) parénquima hepático, (b) sinusoides hepáticos, (c) vena centrolobulillar.	95
6	Hígado de pollo control (T1-1) con aumento 40X y tinción HE, día 42. (a) histo-arquitectura del parénquima hepático, (b) células basófilas, (c) espacio de Möll, (d) sinusoides hepáticos, (e) conductos biliares, (f) hepatocitos.	95
7	Riñón de pollo HHMO (T2-2) con aumento 40X y tinción HE, día 42. (a) glomérulo renal, (b) espacio urinario, (c) barrera de filtración, (d) mácula densa, (e) túbulo proximal	96
8	Riñón de pollo control (T1-1) con aumento 40X y tinción HE, día 42. (a) glomérulo renal, (b) túbulo proximal, (c) cápsula de Bowman, (d) capa visceral del glomérulo.	96

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica	Contenido	Página
1	Evolución del peso corporal de la engorda de pollos Senegal Indúes allimentados con dietas que contenían 0 % (M0), 8 % (M8), 16 % (M16) y 24 % (M24) de harina de hoja de <i>Moringa oleífera</i> respectivamente, durante 12 semanas.	26
2	Citotoxicidad del extracto de <i>Moringa oleífera</i> mediante la medición de Lactato deshidrogenasa en células mononucleares de sangre periférica de humanos	49
3	Proteínas totales	83
4	Albúmina	84
5	Aspartato amino transferasa	84
6	Alanino aminotransferasa	85
7	Fosfatasa alcalina	86
8	Gamma glutamil transferasa	87
9	Peso promedio	88
10	Ganancia diaria de peso	90
11	Índice de conversión alimenticia	92
12	Índice de productividad	94



**ABREVIATURAS Y SIGLAS UTILIZADAS**

<b>SIGLA O ABREVIATURA</b>	<b>NOMBRE</b>
%	Por ciento
±	Mas Menos
°C	Grados centígrados
µL	Microlitros
µM	Micrómetro
µmol	Micromol
AAPH	2,2'-azobis (2-amidinopropano)-HCl
Abs	Absorbancia
ABSb	Absorbancia del Blanco
ABSm	Absorbancia de la muestra
ABTS	Radical (3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico)
ADF	Fibra Detergente Acida
ADH	Hormona antidiurética
ADL	Lignina Detergente Acida
ADN	Acido desoxirribonucleico
ALB	Albúmina
ALP	Fosfatasa alcalina
ALT	Alanina Aminotransefarsa
AN	Absorbancia Neta
AOAC	Asociación de las Comunidades Analíticas
AODS	Sistemas de defensa antioxidante
AST	Aspartato Aminotransefarsa
Bs	Clima Semidesértico
Ca	Calcio
CA	Consumo Alimenticio
cm	Centímetros
Col.	Colaboradores
dL	Decilitros
DL <sub>50</sub>	Dosis Letal aguda mediana tóxica aguda por ingestión
EAG	Equivalentes de Ácido Gálico
EB	Energia Bruta
EC	Equivalente de Catequina
EDTA	Ácido metilendiaminotetraacético

SIGLA O ABREVIATURA	NOMBRE
EM	Energía Metabolizable
EM	Energía Metabólica
eq	Equivalente
ET	Equivalentes de Trolox
Fe	Hierro
g	Gramo
GDP	Ganancias Diarias del Peso
GGT	Gamma Glutamil Transpeptidasa
GOT	Transaminasa Glutamato Oxaloacética
GPT	Transaminasa Glutámico Pirúvica
Gto.	Estado de Guanajuato
h	Hora
HBD	Hidroxibutirato Deshidrogenasa
HCL	Acido Clorhídrico
HE	Hematoxilina y Eosina
HHMO	Harina de Hoja de Moringa <i>oleifera</i>
HHMS	Harina de Hoja de Moringa <i>stenopetala</i>
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Eficacia
ICA	Índice de Conversión Alimenticia
IP	Índice de Productividad
INIFAP	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
Kcal	Kilocalorías
Kcal / Kg	Kilocalorías sobre kilogramo
Kg	Kilogramo
Kj	Kilojoul
LDH	Lactato deshidrogenasa / Lipoproteína de alta densidad
LDL	Lipoproteína de Baja Densidad (colesterol malo)
L	Litros
M	Molar
m <sup>2</sup>	Metros cuadrados
mg	Miligramos
mg / Kg	Miligramos sobre Kilogramo
min	Minutos
mL	Mililitros

SIGLA O ABREVIATURA	NOMBRE
μL	Microlitro
mm	Milímetros
mM	Milimolares
MDH	Malato Deshidrogenasa
MO	Moringa <i>oleifera</i>
MS	Materia Seca
msnm	Metros sobre el nivel del mar
N	Normalidad
NAD	Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido
NADH	Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido en forma oxidada
ND	No Determinado
NDF	Fibra Detergente Neutral
nm	Nanómetros
NRC	Requerimientos de Nutrientes en la Avicultura
OH	Grupo Oxhidrilo o Alcohol
ORAC	Capacidad de absorción de radicales de oxígeno
OS	Estrés oxidativo
P	Fosforo
PC	Proteína Cruda
pH	Potencial de Hidrogeno
PP	Peso promedio
ppm	Partes por millón
REL	Retículo endoplásmico liso
ROS	Especies reactivas de oxígeno
rpm	Revoluciones por minuto
Seg	Segundos
SMN	Servicio Meteorológico Nacional
SNC	Sistema Nervioso Central
TEAC	"Trolox Equivalent Antioxidant Capacity"
Trolox	Antioxidante sintético de referencia (6-hidroxi-2,5,7,8,-tetrametilcroman-2-ácido caboxílico)
UI	Unidades Internacionales
USA	Estados Unidos de Norte América
UV	Radiación Ultravioleta
vis	Visible

<b>SIGLA O ABREVIATURA</b>	<b>NOMBRE</b>
VLDL	Lipoproteína de muy Baja Densidad (Colesterol muy malo)
v/v	Volumen / volumen
Zn	Cinc o Zinc
α	Alfa



**RESUMEN**

Las hojas de la Moringa *oleífera* contienen hasta 23.0 % de proteína. La OMS ha estudiado su uso como suplemento proteico, en los países más pobres del mundo. El objetivo fue evaluar la composición química y antioxidante de ésta misma así como, también los parámetros productivos y tóxicos en el pollo de engorda. Se determinó Análisis Químico Proximal, Capacidad Antioxidante (por el método de TEAC y ORAC), Ca, Fe, Vitamina C, Taninos Condensados y Fenoles Totales de la hoja. Se seleccionaron 180 pollos Ross-308, mixtos, de un día de edad, con peso promedio de  $39 \pm 1.5$  g. Bajo un estudio al azar, se clasificó en dos tratamientos (T1: solo alimento convencional y T2 suplementado al 10.0% con harina de hoja, con tres repeticiones de 30 aves c/u). El alimento y el agua fueron proporcionados *ad libitum*. Semanalmente se obtuvo el Peso Promedio (PP), Consumo de Alimento (CA), Ganancia Diaria de Peso (GDP) e Índice de Conversión (ICA), Índice de Productividad (IP), suero sanguíneo, tejido hepático y renal, para la determinación de las actividades enzimáticas de la Alanina Amino Transferasa (ALT), Aspartato Amino Transferasa (AST), Fosfatasa Alcalina (ALP), Proteínas Totales (PT), Albúmina (ALB) y estudio histopatológico, respectivamente. El análisis estadístico se realizó con el paquete "Statistical Analysis System" bajo la prueba de Fisher. La hoja seca mostró resultados de 33.4% de proteína cruda, alta capacidad antioxidante, rica en Ca, Fe y vitamina C, con poca concentración de Taninos; en suero sanguíneo hubo elevación en T2 de la ALB y ALP; éste mismo grupo obtuvo un menor PP y GDP, respecto a T1. El T2, no disminuyó los requerimientos nutritivos de la dieta; Sin embargo, las lesiones histológicas observadas no sugieren un daño hepático y renal en los animales que la consumieron.

**ABSTRAC**

The leaves *Moringa oleifera* contain up to 23.0 % protein. The WHO has studied its use as a protein supplement in the world's poorest countries. The objective was to evaluate the chemical composition y antioxidant this same y also the production y toxic parameters in broilers. Proximal Chemical Analysis, Antioxidant Capacity (by ORAC y TEAC methods), Ca, Fe, Vitamin C, Condensed Tannins y Phenols Total leaf was determined. 180 chickens Ross-308, both sexes, one day old, were selected, with an average weight of  $39 \pm 1.5$  g. Under a randomized, qualified in two treatments (T1: only conventional food y T2: supplemented to 10.0% with leaf meal, with three replications of 30 birds each one). The food y water were provided *ad libitum*. Weekly average weight (PP), feed intake (CA), daily weight gain (GDP) y conversion index (ICA), Productivity Index (IP), blood serum, liver y kidney tissue sample, for the determination was obtained enzyme activities of Alanine Aminotransferase of (ALT), Aspartate Aminotransferase (AST), Alkaline Phosphatase (ALP), Total Protein (TP), Albumin (ALB) y histopathologic study, respectively. The statistical analysis was performed with the "Statistycal Analysis System" package, under Fisher Test. The dry leaf results showed 33.4 % crude protein, high antioxidant capacity, rich Ca, Fe y vitamin C, low concentration of tannins; in blood serum T2 were elevated in ALP y ALB; this same group had a lower PP y GDP, compared to T1. The group T2, did not diminish the nutritional requirements of diet; however, the histological lesions observed, not suggest a liver y kidney damage in animals that consumed.

## INTRODUCCIÓN

El árbol de la Moringa *oleífera* Lamarck también conocida como *Moringa Pterygosperma Gaertner* (Ramachandran y col., 1980), es una de las 14 especies de la familia Moringaceae, es nativa de la India y se encuentra distribuida en África, Arabia, Sureste de Arabia, Sur de América, en las islas del pacífico y del Caribe. La moringa, por sus variadas propiedades nutricionales, antioxidantes y medicinales que se le atribuyen ha sido introducida a muchas de las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Los primeros estudios realizados sobre el árbol de la moringa señalan que fue introducida de la India a África como un complemento de la salud humana. Estos estudios refieren que todas las partes de la planta de moringa han sido consumidas por el humano desde hace cientos de años. Las hojas son consumidas frescas o secas y pueden ser almacenadas por muchos meses conservando sus propiedades nutricionales.

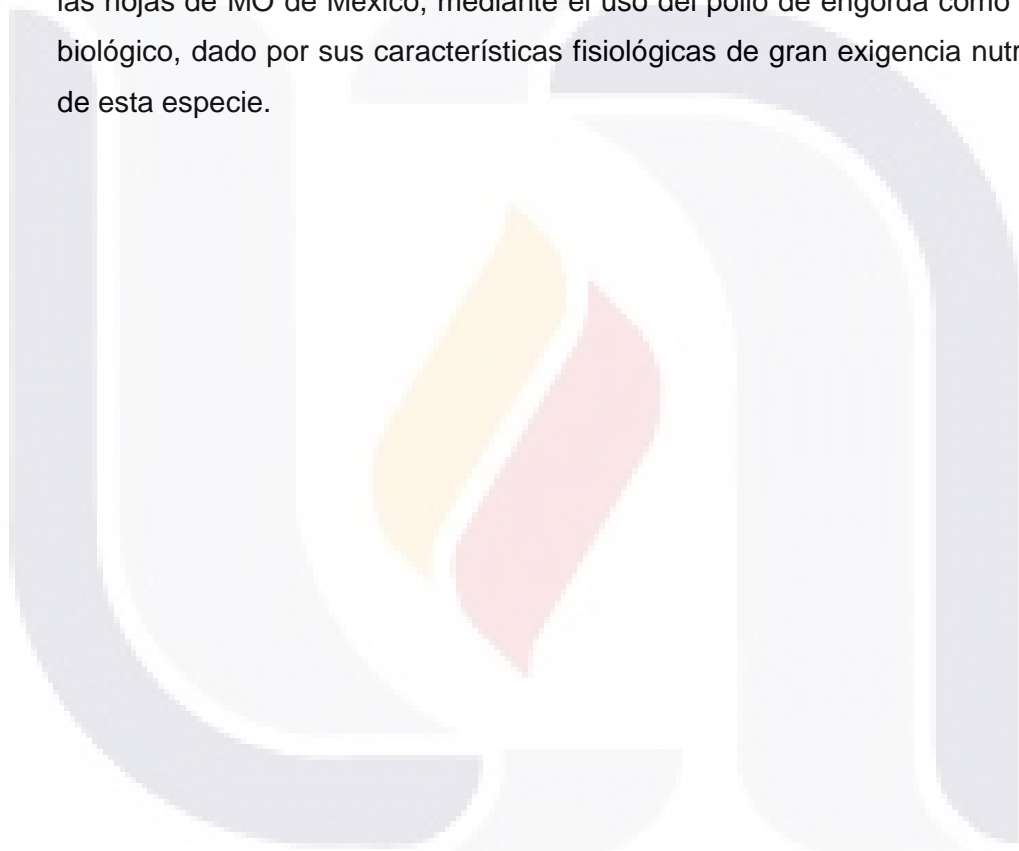
Sus hojas y tallos presentan un 23 y 29 % de proteína cruda respectivamente, digestibilidad de proteína del 79 %, 15 % de grasa, por lo se les considera uno de los forrajes más completos, además son ricas en vitaminas A, C y E, carotenoides, tocoferoles, minerales y con una palatabilidad excelente.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), ha estado estudiando el uso de la MO durante muchas décadas como un promotor de suplemento proteico, de bajo costo en los países más pobres de todo el mundo. Esta organización ha estado promoviendo el uso de la planta para ayudar a aquellos países que sufren de desnutrición, lo cual es una de las principales causas de muerte en el mundo. Las Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) reporta que una de cada doce personas en el mundo está desnutrida, incluidos 160 millones de niños menores de cinco años.

Por otra parte, estudios epidemiológicos han señalado que la MO se ha utilizado como alimento para peces, bovinos, porcinos y aves, ya que su composición nutricional es similar a la de la soya.

Existen varios estudios de la MO caracterizando su contenido nutrimental, como proteína, carbohidratos, cenizas, extracto etéreo, en comparación con otra especie, así como también la han evaluado en gallinas ponedoras, para evaluar

la calidad y cantidad de huevo, sin embargo, estos estudios se han realizado en algunos Países de Asia más no hay tanto conocimiento de las características que pueda tener la MO cosechada en México, de igual manera, se desconocen o no hay evidencia ó reporte de algún posible efecto adverso o tóxico al consumo de la HHMO, no obstante en el mercado de la sociedad se está ofertando la MO también para Infusión. A pesar de que varios estudios se han realizado sobre las especies de moringa en la India, hay pocos estudios experimentales sobre el valor nutrimental de la planta que crece en México. Por lo anterior, el presente estudio pretende evaluar el potencial nutrimental, nutracéutico y toxicológico de las hojas de MO de México, mediante el uso del pollo de engorda como modelo biológico, dado por sus características fisiológicas de gran exigencia nutrimental de esta especie.





## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

México cuenta al año 2013 con una población de 118'397,000 personas, lo que supone un incremento de 1'342,000 habitantes respecto al año 2012, con una densidad de población de 60 habitantes por Km<sup>2</sup>. La población infantil (0 a 14 años) en el año 2013 fue de 32.5 millones, que representan el 29 % de la población total, por lo que resulta crucial implementar una política pública que permita su sobrevivencia, sobre todo, para aquellos que enfrentan pobreza, desnutrición y un medio ambiente poco adecuado para su salud (INEGI, 2013).

Las encuestas nacionales realizadas en el país muestran el alarmante incremento de enfermedades como la obesidad y otras enfermedades asociadas a una mala alimentación, en la que está inmersa la población en México. La desnutrición, afecta de un modo más significativo a la región del Sur de México, mientras que los problemas de obesidad están más incrementados en la región Norte del país (ENSE, 2008). En el medio rural, esta situación reviste especial gravedad, pues la obesidad en adultos que fueron desnutridos en la infancia presenta un mayor daño metabólico y aumenta considerablemente el riesgo de diabetes, enfermedades cardiovasculares, ciertos tipos de tumores malignos, infartos, altos niveles de colesterol o insuficiencia renal y otras enfermedades crónicas no transmisibles. El tema de la desnutrición en México va íntimamente ligado al de la obesidad. Ambos desajustes del organismo humano apuntan a los mismos orígenes: la incorrecta ingesta de nutrientes y el rebote hacia varias enfermedades crónicas y hasta mortales.

Por lo anterior, se pone de manifiesto la necesidad de aumentar los esfuerzos en promover una dieta saludable y equilibrada en todos los grupos de edad, para lo cual se deben de buscar nuevas alternativas de alimentos no convencionales que sean altamente nutritivos, de fácil acceso y a un costo bajo.

Una propuesta que se ha venido trabajando a nivel mundial sobre todo en países con un grado de desnutrición mayor al que México presenta actualmente como la India y África, entre otros, son las partes comestibles de la MO ya que se recomienda para la alimentación de los niños por contener un alto nivel de proteínas, vitaminas y minerales, por su poder nutracéutico por que ayuda a evitar problemas metabólicos y enfermedades crónico degenerativas, así como para usos medicinales.

Sin embargo, en México existen pocos estudios del uso de esta planta por lo que es necesarios realizarlos, utilizando pollos de engorda como modelos experimentales que, permitan de alguna manera, extrapolar los resultados para beneficio de los humanos.

Actualmente la encontramos abundantemente en los pueblos de toda la costa del Pacífico, desde el sur de Sonora hasta Chiapas, incluyendo el sur de la península de Baja California (al sur de La Paz y de Todos Santos). Los ejemplares de moringa son especialmente abundantes y frondosos en las llanuras calientes del sur del istmo de Tehuantepec. La planta también se cultiva en los poblados de las depresiones tropicales secas del país, como la del Balsas y la depresión central de Chiapas. La planta se encuentra en los pueblos de la zona del Infiernillo y en las cercanías de Apatzingán, Mezcala, Iguala y Tequesquitengo. Así como también cabe mencionar que existe evidencia científica de que no hay efectos adversos sobre la salud ni alteraciones porcentuales en la mortalidad de pollos de engorda (Ayssiwede, 2011).

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1 Generalidades

La moringa, es una especie forestal perenne que crece en forma silvestre en zonas áridas y semiáridas, en lugares a menos de 500 msnm, es oriunda de la India y Paquistán, se encuentra distribuida en el sur del Himalaya y de Centroamérica, África, Asia y las Islas del Pacífico (Santillán, 2013). Es un árbol multifuncional que ha sido cultivado en regiones tropicales en todo el mundo debido a las siguientes características: alto valor nutricional para los seres humanos (Jongrungruangchok S, 2010; Yang y col., 2006) y la ganadería (Melesse y col., 2011; DI, 2006; Sánchez-Machado, 2006; Sarwatt, 2002); por su alto contenido en aceite (42.0 %) de la semilla que es comestible (Melesse, 2009) y por sus usos medicinales que se le atribuyen (Devaraj y col., 2007). Así como también para los sistemas de cultivo, ya que fijan el nitrógeno a través de las vainas y las hojas que lo producen (Odee, 1998) (Figura 1).



**Figura 1.** Componentes del árbol de *Moringa oleifera*.  
 Fuente: <http://agriculturasiempre.blogspot.com.br/>

Es probable que la planta haya llegado a territorio mexicano por primera vez a mediados del siglo XVI gracias a marineros filipinos durante los viajes de la Nao de China, que cubría la ruta entre Manila y Acapulco. Si llegó de esta manera, seguramente era utilizada como alimento por los miembros de la tripulación. Este hábito de comer la planta se ha perdido a lo largo de los siglos, pues como se mencionó anteriormente, las plantas en cultivo informal en México tienen casi exclusivamente fines ornamentales.

La moringa, es un árbol que se ha reportado de su existencia en México, en la costa del Pacífico y en la depresión del Balsas. Históricamente se piensa que pudo haber sido traída a México a través del Galeón de Manila (o también Galeón de Manila-Acapulco o Galeón de Acapulco), también llamado Nao de China, era el nombre con el que se conocían las naves españolas que cruzaban el océano Pacífico una o dos veces por año entre Manila (Filipinas) y los puertos de Nueva España (hoy México), principalmente Acapulco y Las Peñas (hoy Puerto Vallarta), o que en el siglo XX misioneros que viajaron de África a Latinoamérica la trajeron a nuestro continente (Santillán, 2013). El árbol de la moringa tiene la capacidad de crecer en suelos areno-limosos, es resistente en zonas áridas y costeras, es resistente a sequías y tolera heladas ligeras. En el idioma inglés es conocida como Ben Oil Tree, Ben Nut, Ben Tree, Behn Tree, entre otros y en idioma español se le conoce como árbol del Ben, árbol de los espárragos, árbol de las perlas, paraíso de España, Perlas de la India, como Perlas del Oriente (Lim, 2012) y más comúnmente como moringa (Olson y Fahey, 2011).

## 1.2 Botánica

Taxonómicamente la moringa pertenece a la familia de las *moringáceas*, orden de las *capparidales*, clase *magnoleopsida* (Lim, 2012), es única en su género, *Moringa*, y cuenta con 14 especies diferentes (Morton, 1991). Este mismo autor describe que la moringa es un árbol con un sistema radicular muy poderoso, ramificado y que llega a crecer de 8 a 10 metros de altura, que presenta troncos leñosos de 8 a 12 pulgadas de grosor, con una corteza rugosa de color grisáceo y su madera es blanca de textura suave. Tiene una vaina larga y delgada de

entre 20 a 40 centímetros que posee semillas de donde se extrae el aceite al cual se le han atribuido muchas aplicaciones (Lim, 2012).

Las hojas, flores, vainas inmaduras (vainas verdes) y las raíces son comestibles. Debido al sabor de su raíz, se le conoce como el árbol de rábano picante. Cuando la vaina madura, se vuelve de un color marrón y generalmente contiene de 10-12 semillas (Anwar y Bhangar, 2003), las flores tienen pétalos de diferentes tonalidades de amarillos con vainas de color rojas o rosadas (Manzoor y col., 2007) (Figura 2).

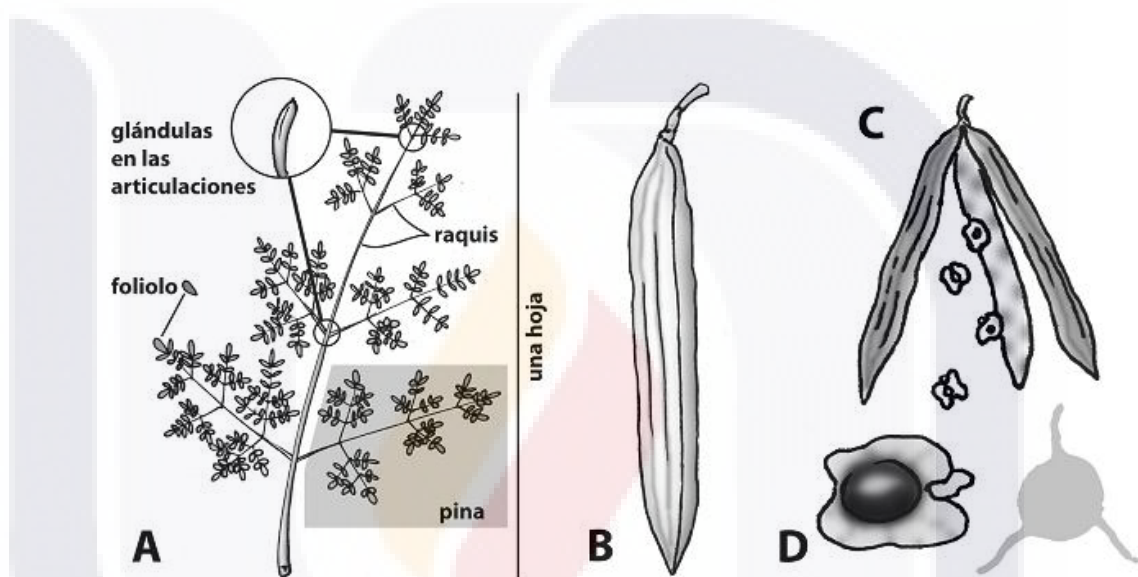


Figura 2. Identificación. A, hojas pinnadas. B, C, D, frutos y semillas. (Olson y Fahey, 2011)

### 1.2.1 Las hojas

El uso de las hojas, se ha considerado por algunos autores, como una alternativa de fuente de alimento, debido a que el árbol está lleno de hojas durante la estación seca, cuando otros alimentos suelen ser escasos. (Ramachandran y col., 1980; Melesse y col., 2011).

Estudios realizados en las hojas frescas de MO se determinó el porcentaje de **materia seca** en un 25 % (Mohammed y col., 2012; Abou-Elezz, 2011).

Mientras que de humedad se ha reportado 5.9 % (MS) en los estudios de (Atawodi y col., 2008; Kakengi y col., 2007; Makkar y Becker, 1997; Yameogo y col., 2011).

Así mismo, en el reporte de Fuglie, (1999a, b) asegura que la HHMO es recomendada para la alimentación de los niños por contener 42 % de proteína. Otros autores (Atawodi y col., 2008; Kakengi y col., 2007; Makkar y Becker, 1997; Yameogo y col., 2011), han reportado que, las hojas de moringa contienen de 20 a 29 % de proteína (MS). La hoja de moringa por lo tanto también podría ser utilizada como un suplemento de proteínas para las aves de corral (Fuglie, 1999a, b). ya que se ha reportado  $22.42 \pm 1.4$  % de proteína (MS) (Sanchez-Machado y col., 2010). Después, se realizó un estudio de la composición nutricional de las hojas de MO, donde se reporta un rango de 28.6 a 29.0 % de proteína cruda (MS) según la época del año lluviosa o seca y a una altitud de 1700 y 1100 (msnm) (Melesse y col., 2012); mientras que en otro estudio se obtuvo 22.73 % de proteína cruda (MS) (Mohammed y col., 2012) sin embargo, como datos más recientes se reportan 26.4 % de proteína (MS) por Abbas, (2013), mientras que, en el estudio realizado por Guzmán-Maldonado y col., (2015) reporta un porcentaje de PC (MS) en las hojas de árboles de 25, 100, 250 cm de altura ( $21.1 \pm 1.22$ ,  $24.7 \pm 1.35$  y  $22.3 \pm 0.94$ , respectivamente), y de una mezcla que preparan en “la huerta” (en Celaya; Gto) y una muestra comercial proveniente de Oaxaca ( $21.0 \pm 0.24$  y  $29.3 \pm 0.13$ , respectivamente).

Por otra parte se reporta según la época del año, lluviosa o seca a una altitud de 1700 y 1100 (msnm), un dato de 26.3 a 28.0 % de proteína cruda (MS) en moringa *stenopetala* (Melesse y col., 2012). Un año después, analizaron la composición química proximal de la harina de hoja de *Moringa stenopetala* (HHMS), en donde obtuvieron un porcentaje de proteína cruda de 30.7 % (MS) (Melesse y col., 2013).

Respecto a las concentraciones de extracto etéreo se han reportado varios trabajos por Atawodi y col., (2008; Kakengi y col., (2007); Makkar y Becker, (1997); Yameogo y col., (2011), en el que reportan 17.1 % de grasa, mientras que Sanchez-Machado y col., (2010) reportaron un porcentaje de  $4.96 \pm 0.1$  % (MS). Años más tarde, Melesse y col., (2012) realizó una investigación según la temporada del año, ya fuese lluviosa o seca y con dos tipos de altitudes, a 1700 y 1100 (msnm), en el que determina con un rango de porcentaje de grasa de 6.3 a 6.8 % (MS). De esta misma manera, Nkukwana y col., (2014<sup>a</sup>); Nkukwana y col., (2014b); analizaron la composición química proximal de la HHMO en donde reportan un porcentaje de extracto etéreo de 5.66 % (MS), mientras que, en el estudio realizado por Guzmán-Maldonado y col., (2015) reporta un porcentaje de

extracto etéreo (MS) en las hojas de árboles de 25, 100, 250 cm de altura ( $5.5 \pm 0.36$ ,  $5.6 \pm 0.97$  y  $7.4 \pm 0.14$ , respectivamente), y de una mezcla que preparan en “la huerta” (en Celaya; Gto) y una muestra comercial proveniente de Oaxaca ( $3.2 \pm 0.29$  y  $3.5 \pm 0.31$ , respectivamente).

Por otra parte, se realizó un estudio de la composición nutricional de las hojas de moringa *stenopetala* por Melesse y col., (2012) en el que se reporta extracto etéreo en un rango de 3.3 a 6.4 % (MS) según la temporada lluviosa o seca del año, así como la altitud media o baja (1700 o 1100 (msnm) respectivamente). Al año siguiente, dentro de los nutrientes reportados de la moringa *Stnopetala* por Melesse y col., (2013) se encuentra un porcentaje de extracto etéreo de 6.43 % (MS).

Dentro de las características energéticas de la moringa está el evaluar la cantidad, porcentaje o concentración de los carbohidratos o también conocidos como extracto libre de nitrógeno (ELN), en el que coincidentalmente en los estudios por diversos autores (Atawodi y col., 2008; Kakengi y col., 2007; Makkar y Becker, 1997; Yameogo y col., 2011), se reporta un porcentaje de este compuesto de 38.6 % (MS). Así mismo, en otro estudio se reporta 27.05 % (MS) de carbohidratos no estructurales (Sanchez-Machado y col., 2010). Mientras que por otro lado se reporta un rango de 41.3 a 43.2 % de carbohidratos o extracto libre de nitrógeno (MS) según la temporada lluviosa o seca del año, así como la altitud media o baja (1700 y 1100 msnm) (Melesse y col., 2012), mientras que, en el estudio realizado por Guzmán-Maldonado y col., (2015) reporta un porcentaje de ELN (MS) en las hojas de árboles de 25, 100, 250 cm de altura ( $35.3 \pm 0.71$ ,  $29.3 \pm 0.8$  y  $26.9 \pm 0.42$ , respectivamente), y de una mezcla que preparan en “la huerta” (en Celaya; Gto) y una muestra comercial proveniente de Oaxaca ( $40.2 \pm 0.63$  y  $27.7 \pm 0.86$ , respectivamente).

Por otra parte, se realizó un estudio de la composición nutricional de las hojas de Moringa *stenopetala* por Melesse y col., (2012) donde reporta un rango de 43.6 a 45.3 % de carbohidratos (MS) según la temporada lluviosa o seca del año, así como la altitud media o baja.

La fibra alimentaria, tradicionalmente considerada como un carbohidrato complejo, se ha dividido en dos grupos principales según sus características químicas y sus efectos en el organismo humano, en insoluble y soluble (Prosky y

col., 1988); la **fibra insoluble**, está integrada por sustancias (celulosa, hemicelulosa, lignina y almidón resistente) que retienen poca agua y se hinchan poco. Este tipo de fibra predomina en alimentos como el salvado de trigo, granos enteros, algunas verduras y en general en todos los cereales. Los componentes de este tipo de fibra son poco fermentables y resisten la acción de los microorganismos del intestino. Su principal efecto en el organismo es el de limpiar, como un cepillo natural, las paredes del intestino desprendiendo los desechos adheridos a ésta; además de aumentar el volumen de las heces y disminuir su consistencia y su tiempo de tránsito a través del tubo digestivo. Como consecuencia, este tipo de fibra, al ingerirse diariamente, facilita las deposiciones y previene el estreñimiento; mientras que la **fibra soluble** está formada por componentes (inulina, pectinas, gomas y fructooligosacáridos) que captan mucha agua y son capaces de formar geles viscosos. Es muy fermentable por los microorganismos intestinales, por lo que produce gran cantidad de gas en el intestino. Al ser muy fermentable favorece la creación de flora bacteriana que compone 1/3 del volumen fecal, por lo que este tipo de fibra también aumenta el volumen de las heces y disminuye su consistencia. Este tipo de fibra predomina en las legumbres, en los cereales (avena y cebada) y en algunas frutas. La fibra soluble, además de captar agua, es capaz de disminuir y ralentizar la absorción de grasas y azúcares de los alimentos (índice glucémico), lo que contribuye a regular los niveles de colesterol y de glucosa en sangre (Brown y col., 1999). En otro estudio se reporta  $30.97 \pm 1.0$  % de fibra dietaria en las hojas de MO (Sanchez-Machado y col., 2010). Mientras que en otro ensayo llevado a cabo por Melesse y col., (2012) reporta un rango de 8 a 10.4 % de fibra cruda (MS) según la temporada lluviosa o seca del año, así como la altitud media o baja. Al año siguiente, en el estudio de Abbas, (2013) reporta 24.3 % de fibra en (MS), en donde el 9.2 % es fibra detergente ácida (ADF) y 15.1 % corresponde a fibra detergente neutra (NDF). Posteriormente en los estudios realizados por los siguientes autores Nkukwana y col., (2014<sup>a</sup>); Nkukwana y col., (2014<sup>c</sup>) obtuvieron 15.72 % de fibra cruda (MS), mientras que, en el estudio realizado por Guzmán-Maldonado y col., (2015) reporta un porcentaje de fibra (MS) en las hojas de árboles de 25, 100, 250 cm de altura ( $25.8 \pm 0.13$ ,  $27.5 \pm 0.8$  y  $30.6 \pm 0.71$ , respectivamente), y de una mezcla que preparan en “la huerta” (en Celaya; Gto) y una muestra comercial proveniente de Oaxaca ( $23.9 \pm 0.35$  y  $29.4 \pm 0.51$ , respectivamente).



Por otra parte, se realizó un estudio de la composición nutricional de las hojas de *Moringa stenopetala* por donde se reporta un rango de 9.8 a 10.7 % de fibra cruda (MS) según la temporada lluviosa o seca del año, así como la altitud media o baja (Melesse y col., 2012, Melesse y col., 2013).

Respecto a las cenizas, como residuo inorgánico presente en la HHMO, Oduro y col., (2008) reportan en su estudio que por cada 100.0 g de hoja, 12.0 a 24.0 g corresponden a cenizas (de 12 a 24 % respectivamente). Mientras que en el trabajo de Sanchez-Machado y col., (2010) reporta  $14.60 \pm 0.9$  %, así como también en el trabajo realizado por Melesse y col., (2012) donde expone un rango de 13.1 a 13.3 % de cenizas (MS) según la temporada lluviosa o seca del año, así como la altitud media o baja, sin embargo en el estudio de Abbas, (2013), reporta 8.87 % de cenizas (MS), y algunos otros autores, al año siguiente Nkukwana y col., (2014a) y Nkukwana y col., (2014c) determinaron 10.81 % de cenizas (MS), mientras que, en el estudio realizado por Guzmán-Maldonado y col., (2015) reporta un porcentaje de cenizas en las hojas de árboles de 25, 100, 250 cm de altura ( $12.3 \pm 0.49$ ,  $12.9 \pm 0.29$  y  $13.8 \pm 0.07$ , respectivamente), y de una mezcla que preparan en “la huerta” (en Celaya; Gto) y una muestra comercial proveniente de Oaxaca ( $11.7 \pm 0.34$  y  $8.5 \pm 0.05$ , respectivamente).

Por otra parte, se realizó un estudio de la composición nutricional de las hojas de *Moringa stenopetala* por Melesse y col., (2012) donde reporta un rango de 11.3 a 15.1 % de cenizas (MS) según la temporada lluviosa o seca del año, así como la altitud media o baja, mientras que Melesse y col., (2013) obtuvieron 11 % de cenizas (MS).

Estudios realizados por Abbas, (2013) reportaron los valores de la composición química y energía bruta de diferentes partes de la MO (Cuadro 1).

**Cuadro 1. Composición química y Energía bruta (Materia Seca) de diferentes partes de la *Moringa oleifera* (Abbas, 2013).**

Partes comestibles	g / Kg de materia seca						
	Proteína cruda	Grasa	Cenizas	NDF	ADF	ADL	EB (MJ / Kg)
Hojas	264	ND	88.7	151	92	11	19.35
Ramitas	72	ND	93.0	564	515	83	18.52
Tallos	62	Nd	69.0	684	609	110	18.95
Corteza	99	22	22.7	842	805	452	21.62
Semillas	367	417	31.8	48	39	14	26.68

Harina	614	-	56.5	82	67	25	19.39
Extracto de semilla	353	538	23.0	61	50	18	31.21
Extracto de harina	703	-	45.0	145	120	44	20.30

ND no determinado; NDF Fibra detergente neutra; ADF Fibra detergente ácida, ADL Lignina detergente ácida, EB Energía bruta.

Mientras que el estudio realizados por Sanchez-Machado y col., (2010) publicaron en sus resultados la calidad nutrimental de las hojas, flores y vainas verdes de la moringa, recolectada en Sonora, México en noviembre del 2006, donde evaluaron la proteína, fibra dietética total, cenizas, lípidos totales, carbohidratos no estructurales, la determinación de la composición de aminoácidos y ácidos grasos (Cuadro 2).

**Cuadro 2. Composición química (% en Materia Seca) de la Moringa oleifera (Sanchez-Machado y col., 2010).**

	Proteína	Cenizas	Lípidos	Fibra dietética	Carbohidratos no estructurales
Hojas	22.42 ± 1.4	14.60 ± 0.9	4.96 ± 0.1	30.97 ± 1.0	27.05
Vainas verdes	19.34 ± 0.2	7.62 ± 0.3	1.28 ± 0.1	46.78 ± 2.2	24.98
Flores	18.92 ± 1.3	9.68 ± 0.7	2.91 ± 0.3	32.45 ± 0.5	36.04

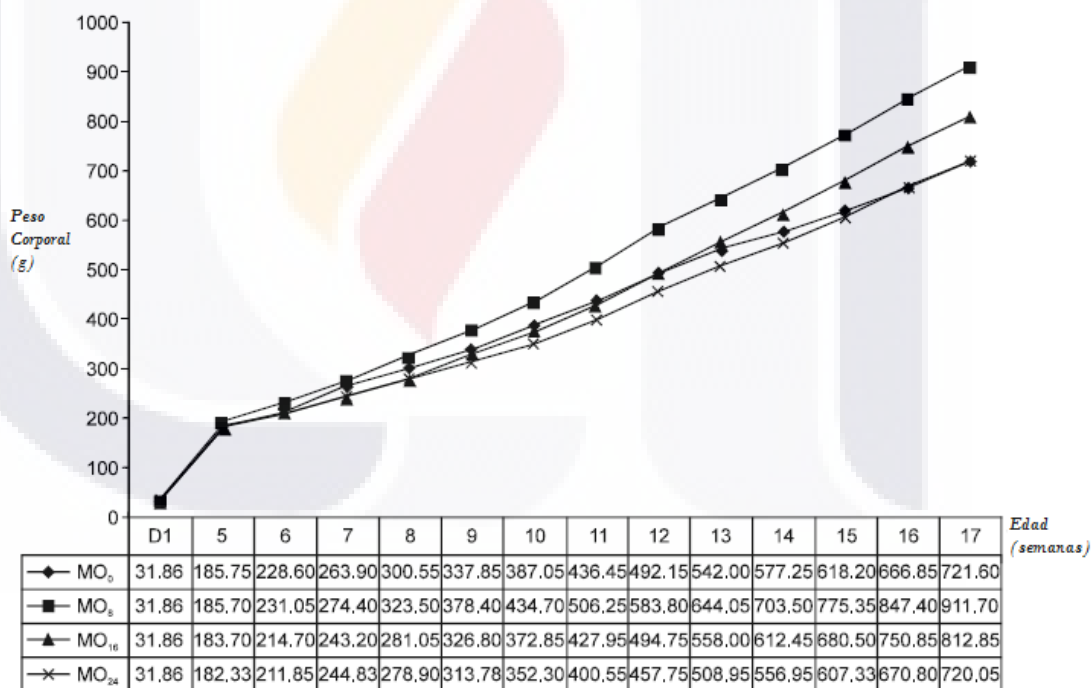
Valor medio ± desviación estándar (n=3, por duplicado).  
Calculado por diferencia.

### 1.3 Estudios realizados en pollos y gallinas con moringa para evaluar aspectos nutricionales.

En un estudio realizado por Nkukwana y col., (2014a), en pollitos mixtos de línea Cobb-500 alimentados durante 35 días, demostraron que con la suplementación de HHMO al 3.0, 9.0 y 15.0 % en las etapas de iniciación, desarrollo y finalización respectivamente, obtuvieron un peso final promedio de 2236.0 g / pollo. Mientras que pollos alimentados con la adición de salinomicina y zinc bacitracina en la dieta (668.0 y 500.0 g / Kg respectivamente) fueron en los que se observó un peso final de 2119.0 g / pollo. Sin embargo, este mismo estudio realizado por Nkukwana y col., (2014a) reporta que la suplementación de HHMO al 0.0 %, les resultó un peso final promedio de 2177.0 (g / pollo), consiguientemente la suplementación al 1.0, 3.0 y 5.0 % en las etapas de

iniciación, desarrollo y finalización respectivamente, obtuvieron un peso final promedio de 2147.0 (g / pollo) y finalmente Nkukwana y col., (2014a) obtuvo de resultado al suplementar 5.0, 15.0 y 25.0 % de HHMO en la dieta, en las etapas de iniciación, desarrollo y finalización respectivamente, obtuvieron un peso final promedio de 2174.0 (g / pollo).

Con el mismo objeto, Ayssiwede, (2011), realizó un estudio utilizando la suplementación de HHMO en pollos y pollas (Senegal-Indúes) de cinco semanas de edad, donde el experimento duró 12 semanas; se dividió los grupos en cuatro tratamientos, que fueron: M0, M8, M16 y M24, donde se les administró HHMO al 0.0, 8.0, 16.0 y 24.0 %, respectivamente, dos veces al día; a las 17 semanas de edad, se reportó un peso promedio final de 721.6 ± 162.47 g, 911.7 ± 285.90 g, 812.85 ± 189.32 g, 720.05 ± 206.61 g, para los tratamientos M0, M8, M16 y M24 respectivamente (Gráfica 1).



**Gráfica 1.** Evolución del peso corporal de la engorda de pollos Senegal Indúes alimentados con dietas que contenían 0% (M0), 8% (M8), 16% (M16) y 24% (M24) de harina de hoja de Moringa oleífera (HHMO) respectivamente, durante 12 semanas.

En un estudio realizado por Mohammed y col., (2012) en gallinas ponedoras Rhod Island de 27 semanas alimentados durante 12 semanas, demostraron que con la suplementación de hojas frescas de moringa y con la restricción del 20.0 % del alimento comercial, obtuvieron el peso final promedio de 2054.0 g / gallina, mientras que las gallinas que fueron alimentadas con alimento comercial se observó el un peso final promedio de 2367.0 g. Así mismo, en este mismo estudio (Mohammed y col., 2012) obtuvieron como resultado a la suplementación de hojas frescas de moringa y alimento comercial, un peso final promedio de 2350.9 g / gallina.

Por otra parte, en un estudio realizado por Melesse y col., (2013), en pollitos mixtos de línea Potchfstroom de doble propósito, alimentados durante 35 días, demostraron que con la suplementación de HHMS al 11.0 %, obtuvieron un peso final promedio de 1110.0 g / pollo. Mientras que pollos alimentados sin la adición de moringa fueron en los que se observaron el menor peso final (880.0 g / pollo). Así mismo, en este mismo estudio realizado por Melesse y col., (2013) observaron que con la suplementación de HHMS al 5.0 % en las etapas de iniciación, desarrollo y finalización respectivamente, obtuvieron un peso final promedio de 1016.0 (g / pollo), sin embargo, con la suplementación de ésta HHMS al 8.0 % en las etapas de iniciación, desarrollo y finalización respectivamente, obtuvieron un peso final promedio de 1055.0 (g / pollo) y finalmente con la suplementación de HHMS de hoja de moringa al 14.0 % en las etapas de iniciación, desarrollo y finalización respectivamente, obtuvieron un peso final promedio de 953.0 (g / pollo).

En un estudio realizado por Nkukwana y col., (2014a), en pollitos de engorda de un día de edad, línea Cobb-500, mixtos, durante 35 días, donde se evaluó el consumo diario de alimento. Observaron que el consumo promedio diario para el tratamiento control negativo (0.0 % suplementación de hoja de moringa) fue de 88.82 g / día en promedio, el tratamiento control positivo (suplementados con 668.0 g de Salinomicina y 500.0 g Bacitracina / Kg de alimento) fue de 92.28 g / día en promedio. Mientras que los tratamientos que recibieron suplementaciones con HHMO en la etapa de iniciación (1.0, 3.0 y 5.0 %), en la etapa de desarrollo (3.0, 9.0 y 15.0 %) y en la etapa de finalización (5.0, 15.0 y 25.0 %) fueron de 90.28, 91.97, 89.91 g / día respectivamente.

Con el mismo interés, se realizó un estudio utilizando la suplementación de HHMO en pollos y pollas (Senegal-Indúes) de cinco semanas de edad, donde el experimento duró 12 semanas; se dividió los grupos en cuatro tratamientos, que fueron: M0, M8, M16 y M24, donde se les administró HHMO al 0.0, 8.0, 16.0 y 24.0 %, respectivamente, dos veces al día; en que se reportó un consumo diario promedio en las semanas 6 a la 9, de  $29.97 \pm 3.08$  g,  $27.58 \pm 1.66$  g,  $25.51 \pm 1.02$  y  $26.68 \pm 4.18$  g respectivamente para cada tratamiento (Ayssiwede, 2011).

Por otra parte, Mohammed y col., (2012), realizaron un experimento durante 12 semanas con gallinas ponedoras Rhod Island de 27 semanas, en donde obtuvieron un consumo diario promedio de alimento comercial de 127.5 (g / gallina / día) que corresponde al grupo control, mientras que el 97.2 (g / gallina / día) corresponde al grupo que fue alimentado con alimento comercial 20.0 % menos cantidad que el control y hojas frescas de MO a libre acceso. Así mismo, el grupo de aves que fueron suplementadas con hojas fresca de moringa a libre acceso y alimento comercial, también a libre acceso, obtuvieron un consumo diario promedio de alimento comercial de 121.3 (g / día / pollo). Éste mismo autor observó un consumo diario de alimento mayor de hoja fresca de moringa (g (MS) / gallina / día) de 3.4 g en el grupo de gallinas restringidas 20.0 % menos de alimento comercial respecto al control y suplementadas a libre acceso con hojas frescas de moringa, mientras que el menor consumo diario promedio de hojas frescas fue el control con 0.0 g y sucesivamente se obtuvo 3.1 g de consumo diario promedio de hojas frescas de moringa del grupo que fue alimentado con alimento comercial y hojas frescas a libre acceso sin ninguna restricción.

Asimismo, Ayssiwede, (2011), realizó un estudio utilizando la suplementación de HHMO en pollos y pollas de cinco (Senegal-Indúes) semanas de edad, donde el experimento duró 12 semanas; se dividieron los grupos en cuatro tratamientos, que fueron: M0, M8, M16 y M24, donde se les administró HHMO al 0.0, 8.0, 16.0 y 24.0 %, respectivamente, dos veces al día; y se reportó un consumo diario promedio en la semana 17 de  $39.10 \pm 4.24$  g,  $39.76 \pm 3.61$  g,  $36.28 \pm 2.97$  y  $34.24 \pm 4.76$  g respectivamente para cada tratamiento.

En un ensayo con pollitos mixtos de un día de edad de la línea Potchfstroom de doble propósito (carne y huevo) en Sudafrica por Melesse y col., (2013), obtuvieron un consumo diario promedio de alimento de 61.7 g en los pollitos

suplementados al 14.0 % de HHMS, mientras que el grupo control (0.0 % de moringa) demostró 47.1 g.

En el estudio de Melesse y col., (2013) demuestra que con la suplementación de HHMS al 5.0 %, obtuvieron un consumo diario promedio de alimento de 54.4 g.

Asimismo, Melesse y col., (2013) reporta que con la suplementación de HHMS al 8.0 %, obtuvieron un consumo diario promedio de alimento de 55.3 g. sin embargo, también se menciona en su trabajo que con la suplementación de HHMS al 11.0 %, obtuvieron un consumo diario promedio de alimento de 59.5 g.

En un estudio realizado por Nkukwana y col., (2014a), en pollitos mixtos de línea Cobb-500 alimentados durante 35 días, demostraron que con la suplementación de HHMO al 3.0, 9.0 y 15.0 % en las etapas de iniciación, desarrollo y finalización respectivamente, obtuvieron una ganancia diaria de peso con 63.9 g/día/pollo. Mientras que pollos alimentados con la adición de salinomicina y zinc bacitracina en la dieta (668.0 y 500.0 g / Kg respectivamente) fueron en los que se observó una ganancia diaria de peso promedio de 60.6 g / día / pollo. Sin embargo, reportó que con la suplementación de HHMO al 0.0 % obtuvieron una ganancia diaria de peso de 62.2 (g / día / pollo).

Mientras tanto, en el reporte anterior de Nkukwana y col., (2014a) comenta que con la suplementación de HHMO al 1.0, 3.0 y 5.0 % en las etapas de iniciación, desarrollo y finalización respectivamente, obtuvieron una ganancia diaria de peso de 61.3 (g / día / pollo).

Así mismo Nkukwana y col., (2014a) reporta que la suplementación de HHMO al 5.0, 15.0 y 25.0 % en las etapas de iniciación, desarrollo y finalización respectivamente, obtuvieron una ganancia diaria de peso de 62.1 (g / día / pollo)

Por otra parte, Ayssiwede, (2011), realizó un estudio utilizando la suplementación de HHMO en pollos y pollas de cinco (Senegal-Indúes) semanas de edad, donde el experimento duró 12 semanas; se dividieron los grupos en cuatro tratamientos, que fueron: M0, M8, M16 y M24, donde se les administró HHMO al 0.0, 8.0, 16.0 y 24.0 %, respectivamente, dos veces al día; en el que se reportó una ganancia diaria de peso promedio en la semanas 6 a la 9, de  $5.43 \pm 2.06$  g,  $6.88 \pm 3.20$  g,  $5.11 \pm 2.92$  y  $4.70 \pm 1.93$  g respectivamente para cada tratamiento. Asimismo, a la semana 17 se obtuvo de este mismo parámetro 6.49

$\pm 1.76$  g,  $8.77 \pm 2.80$  g,  $7.61 \pm 2.04$  y  $6.5 \pm 2.6$  g también respectivamente para cada tratamiento.

En el estudio de Melesse y col., (2013) realizaron un ensayo con pollitos mixtos de un día de edad de la línea Potchfstrom de doble propósito (carne y huevo) en Sudafrica, donde obtuvieron la ganancia diaria de peso promedio de 11.2 (g / día / pollo) en los pollitos suplementados con el 11.0 % de HHMS, mientras que la ganancia diaria de peso del grupo control (0.0 % de moringa) fue de 8.71 g.

Así mismo, Melesse y col., (2013) demuestra que con la suplementación de HHMS al 5.0 %, obtuvieron una ganancia diaria de peso promedio de 10.2 g. Sin embargo, Melesse y col., (2013) reportan con la suplementación al 8.0 %, una ganancia diaria de peso promedio de 10.6 g. Y no obstante, con la suplementación de HHMS al 14.0 % Melesse y col., (2013) obtuvieron una ganancia diaria de peso promedio de 9.53 g.

En un estudio realizado por Nkukwana y col., (2014a), en pollitos mixtos de línea Cobb-500 alimentados durante 35 días, demostraron que con la suplementación de HHMO al 0.0 %, se obtuvo un índice de conversión alimenticia promedio con 1.43 (g alimento : g carne). Mientras que pollos alimentados con la adición de salinomicina y zinc bacitracina en la dieta (668.0 y 500.0 g / Kg respectivamente) fueron en los que se observó el índice de conversión de 1.53 (g alimento : g carne)., mientras que en el estudio de (Ayssiwede, 2011) en pollos de 6 a 9 semanas de edad, reporta un índice de conversión de  $7.29 \pm 2.91$  en el grupo control (0.0 % de HHM en la dieta).

En el reporte de Nkukwana y col., (2014a) demuestra que con la suplementación de HHMO al 1.0, 3.0 y 5.0 % en las etapas de iniciación, desarrollo y finalización respectivamente, obtuvieron un índice de conversión promedio de 1.47 (g alimento : g carne), y al 3.0, 9.0 y 15.0 % en las etapas de iniciación, desarrollo y finalización respectivamente, obtuvieron un índice de conversión promedio de 1.44 (g alimento : g carne); mientras que en el estudio de Ayssiwede, (2011) en pollos de 6 a 9 semanas de edad, reporta un índice de conversión de  $5.83 \pm 3.49$  en el grupo M8 (8.0 % de HHM en la dieta).

Asimismo, en el mismo orden, los autores anteriores (Nkukwana y col., 2014a) obtienen como resultado que con la suplementación de HHMO al 5.0, 15.0 y

25.0 % en las etapas de iniciación, desarrollo y finalización respectivamente, obtuvieron un índice de conversión promedio de 1.45 (g alimento : g carne); mientras que en el estudio de Ayssiwede, (2011) en pollos de 6 a 9 semanas de edad, reporta un índice de conversión de  $7.72 \pm 3.50$  y  $7.62 \pm 4.21$  en el grupo M16 y M24 (16.0 % y 24.0 % de HHM en la dieta).

Siguiendo reportes del mismo parámetro productivo (ICA), Mohammed y col., (2012) realizaron un experimento durante 12 semanas con gallinas ponedoras Rhod Island de 27 semanas, el mejor y/o más bajo índice de conversión alimenticia promedio fue de 2.5 (g alimento : g huevo) que corresponde al grupo alimentado con restricción del 20.0 % de su alimento comercial y hojas frescas de moringa a libre acceso, mientras que el más alto y/o peor fue de 3.2 (g alimento : g huevo) que corresponde al grupo control. Éste mismo autor reporta que con la suplementación de hojas fresca de moringa a libre acceso y, alimento comercial también a libre acceso, obtuvieron el índice de conversión alimenticia de 2.8 (g alimento : g huevo) (Mohammed y col., 2012).

Mientras que en el estudio de Melesse y col., (2013) realizaron un ensayo con pollitos mixtos de un día de edad de la línea Potchfstroom de doble propósito (carne y huevo) en Sudafrica, donde obtuvieron el mejor índice de conversión alimenticio promedio con 5.0 (g alimento : g carne) en los pollitos suplementados con el 8.0 % de HHMS, mientras que el peor y/o más alto fue con el grupo suplementado al 14.0 % con un índice de conversión de 5.86 (g alimento : g carne).

También se ha reportado que con la suplementación de HHMS al 0.0 %, un índice de conversión alimenticia de 5.20 (g alimento: g carne), asimismo, con la suplementación de HHMS al 5.0 %, un índice de conversión alimenticia de 5.05 (g alimento: g carne), y finalmente con la suplementación de HHMS al 11.0 %, obtuvieron un índice de conversión alimenticia de 5.21 (g alimento : g carne) (Melesse y col., 2013).

#### 1.4 Minerales (Ca y Fe) y vitamina C

Se dice que las hojas de la moringa contienen altos niveles de **calcio**. Si bien es cierto, una parte importante de este calcio está como cristales de oxalato de calcio en las células de la planta (Nambiar y Seshadri, 2001), una forma que el



cuerpo no puede asimilar y que es excretada directamente. Radek y Savage, (2008) cuantificaron que el porcentaje de calcio en la moringa en forma de oxalato, y que no puede ser absorbido, es de casi el 38.0 %. Esta cantidad podría parecer muy alta, pero también mostraron que la moringa tiene niveles sumamente altos de calcio (>20 mg / g de hoja seca), por lo que aun con la tercera parte en una forma no asimilable, la moringa ofrece cantidades notables de calcio en la dieta. Sin embargo, en el estudio que realizó Oduro y col., (2008) reporta una concentración de este macromineral de 1060 mg por cada 100 g de hoja (MS). Años posteriores, Melesse y col., (2012) se realizó un estudio de la composición de macrominerales de las hojas de MO donde se reporta una concentración de calcio de 24.8 y 26.7 g / Kg (MS) en época del año lluviosa y seca, respectivamente, a una altitud de 1700 (msnm); mientras que a una altitud de 1100 (msnm) se reportaron una concentración de calcio de 25.7 y 26.7 g / Kg (MS) en época lluviosa y seca, respectivamente. Otros estudios realizados por diversos autores, (Nkukwana y col., 2014a y Nkukwana y col., 2014c) analizaron el contenido de calcio de la HHMO donde reportan 28.1 mg / Kg (MS), asimismo, en el estudio de Oduro y col., (2008) determina una concentración de calcio de 2009.79 mg por cada 100 g de hoja de moringa (MS), y en el estudio realizado por Moyo Busani, (2011) se reporta de calcio 3.65 g por cada 100 g de hoja (3.65 %) (MS). Por otro lado, Melesse y col., (2013) analizaron la composición química de la HHMS en el que obtuvieron de calcio 22.1 mg / Kg (MS), mientras que, en el estudio realizado por Guzmán-Maldonado y col., (2015) reporta un contenido de calcio (mg / 100 g, MS) en las hojas de árboles de 25, 100, 250 cm de altura ( $2791 \pm 23$ ,  $4630 \pm 63$  y  $3446 \pm 72$ , respectivamente), y de una mezcla que preparan en "la huerta" (en Celaya; Gto) y una muestra comercial proveniente de Oaxaca ( $2289 \pm 53$  y  $1384 \pm 27$ , respectivamente).

De igual manera, se realizó un estudio de la composición de macrominerales de las hojas de Moringa *stenopetala* también por Melesse y col., (2012) ahí reporta una concentración de calcio de 14.9 y 14.7 g / Kg (MS) de calcio en moringa crecidas a una altitud de 1700.0 (msnm) en la época del año lluviosa y seca, respectivamente; mientras que a una altitud de 1100.0 (msnm) en época lluviosa y seca se reportaron concentraciones de este mismo macromineral de 24.0 y 25.5 g / Kg (MS) respectivamente.

Por otra parte, respecto al contenido de hierro (Fe) en la moringa, Oduro y col., (2008) reporta en su estudio 28.29 mg por cada 100 g de hoja (MS). Diversos autores, (Nkukwana y col., 2014a; Nkukwana y col., 2014c) analizaron también la concentración de hierro (Fe) en la HHMO, en el que obtuvieron 192.0 mg / Kg (MS), mientras que en el estudio de Moyo Busani, (2011) se reporta una concentración de hierro de  $490 \pm 49.64$  mg / Kg (MS). Melesse y col., (2012) realizó en su estudio la determinación de minerales trasa, en donde reporta valores de hierro (Fe) en las hojas de MO de 578.0 y 603.0 mg / Kg (MS) a una altitud de 1700 (msnm) en la época del año lluviosa y seca, respectivamente; mientras que a una altitud de 1100 (msnm) en época lluviosa y seca se reportaron concentraciones de este mismo mineral trasa de 564.0 y 558.0 mg / Kg (MS), respectivamente. Mientras que Ramachandran y col., (1980) y Fuglie, (1999a, b) aseguran que la HHMO contiene el 71.0 % de hierro. Como dato más reciente, en el estudio realizado por Guzmán-Maldonado y col., (2015) reporta un contenido de hierro (mg / 100 g, MS) en las hojas de árboles de 25, 100, 250 cm de altura ( $17.6 \pm 1.57$ ,  $32.1 \pm 1.3$  y  $21.5 \pm 0.95$ , respectivamente), y de una mezcla que preparan en "la huerta" (en Celaya; Gto) y una muestra comercial proveniente de Oaxaca ( $15.2 \pm 1.27$  y  $12.46 \pm 0.06$ , respectivamente). También, Melesse y col., (2012) en su estudio determinó minerales trasa, en los que reporta valores de hierro (Fe) en las hojas de Moringa *stenopetala* de 700.0 y 680.0 mg / Kg (MS) a una altitud de 1700.0 (msnm) en la época del año lluviosa y seca, respectivamente; mientras que a una altitud de 1100.0 (msnm) en época lluviosa y seca se reportaron 581.0 y 703.0 mg / Kg (MS) de este mismo mineral trasa, respectivamente.

La vitamina C, enantiómero L del ácido ascórbico o antiescorbútica, es un nutriente esencial, en particular para los mamíferos. La presencia de esta vitamina es requerida para un cierto número de reacciones metabólicas en todos los animales y plantas; es creada internamente por casi todos los organismos, siendo los humanos una notable excepción. Ésta puede absorberse como ácido ascórbico y como ácido dehidroascórbico a nivel de mucosa bucal, estómago y yeyuno (intestino delgado), posteriormente es transportada vía vena porta hacia el hígado para luego ser conducida a los tejidos que la requieran. Se excreta por vía renal (en la orina), bajo la forma de ácido oxálico principalmente, por heces se elimina solo la vitamina no absorbida. La vitamina C sirve para: Evitar el envejecimiento prematuro (proteger el tejido conectivo, la "piel" de los vasos

sanguíneos), facilitar la absorción de otras vitaminas y minerales, como antioxidante, evita las enfermedades degenerativas tales como arteriosclerosis, cáncer, enfermedad de Alzheimer (Padayatty y col., 2003). No obstante, los estudios realizados por Ramachandran y col., (1980) y Fuglie, (1999a, b) reportan el 22.0 % de vitamina C en la hoja de moringa. por otra parte, en el estudio realizado por Guzmán-Maldonado y col., (2015) reporta un contenido de ácido ascórbico (mg / 100 g, MS) en las hojas de árboles de 25, 100, 250 cm de altura ( $24.7 \pm 0.07$ ,  $19.9 \pm 0.02$  y  $11.9 \pm 0.91$ , respectivamente), y de una mezcla que preparan en "la huerta" (en Celaya; Gto) y una muestra comercial proveniente de Oaxaca ( $18.9 \pm 0.32$  y  $11.1 \pm 0.02$ , respectivamente), y de la misma manera reporta el contenido también de ácido dehidroascórbico en las hojas de árboles de 25, 100, 250 cm de altura ( $39.8 \pm 0.05$ ,  $35.1 \pm 1.2$  y  $32.5 \pm 1.4$ , respectivamente), en el que promedia el ácido ascórbico con el dehidroascórbico, porque menciona que, este último presenta actividad biológica y puede ser convertido fácilmente en ácido L-ascórbico por los humanos. Las hojas de árboles de 25, 100, 250 cm de altura, reportan 64.5, 55 y 44.4, mg / 100 g, respectivamente, de vitamina C.

En un estudio realizado en gallinas de postura (de 18 semanas de edad), donde en uno de los cuatro grupo se le suplementó con ácido ascórbico (250.0 mg / kg de alimento), obtuvieron un mejor rendimiento e índice de conversión en la producción de huevo respecto al grupo control y al suplementado con vitamina E (Kucuk y col., 2003). Utilizando los mismo elementos nutracéticos (vitamina C y E) se evaluaron en el pollo de engorda, de los 0 a 56 días de edad, con suplementación de 200 ppm de vitamina C + 74,000 UI de vitamina E/tonelada. Los tratamientos fueron similares en cuanto a peso corporal, consumo de alimento, conversión alimenticia y mortalidad, más sin embargo, en todos los antígenos usados (virus vivo modificado, glóbulos rojos de borrego y virus muerto de new castle) para evaluar la respuesta inmune primaria y secundaria, indican que las adiciones extras de las vitaminas C y E en dietas para pollo de engorda mejoran la respuesta inmunológica (González Vega y col., 1995).

#### **1.4.1 Estudios realizados con moringa como compuesto nutracéutico**

En general, la moringa es muy importante por su valor medicinal, cuenta con una impresionante variedad de usos nutraceuticos. Varias partes de esta planta tales como las hojas, raíces, semillas, cortezas, frutos, flores y vainas se usan como agentes antiparasitarios (Ola-Fadunsin y Ademola, 2013), antivirales (Burger y col. 1997; Lipipun y col., 2003), agentes antimicrobianos contra hongos y bacterias gram negativas y gram positivas (Nepolean y col., 2009; Nwosu y Okafor, 1995); como agentes antioxidantes (Iqbal y Bhangar, 2006; Nair y Sankaras, 1962; Sasikala y col., 2010; Sharma y col., 2009b, a; Singh y col., 2009; Yang y col., 2006), como suplemento de vitamina A (Nambiar y Seshadri, 2001), como anticancerígenos (Bharali R, 2003; Guevara y col., 1999; Sathya y col., 2010; Sreelatha y col., 2011); la raíz, como depresor en el sistema nervioso central (SNC) (Ganguly y Guha, 2008; Pal y col., 1996; Ray y col., 2003); como agentes desinflamatorios (Caceres y col., 1992; Ndiaye y col., 2001), antiartríticos, anti-anafilactica (Mahajan y Mehta, 2007), inmunoestimulador (Gupta y col., 2010; Sudha y col., 2010), como agentes hipotensivos en el sistema cardiovascular (Faizi y col., 1994, 1995), como agentes reductivos de colesterol de baja densidad (LDL y VLDL) (Ghasi y col., 2000; Mehta y col., 2003), como cardioprotectores (Manzoor y col., 2007), regeneradores de úlceras y heridas (Pal y col., 1996; Rathi y col., 2006; Ruckmani y col., 1998), como antidiabéticos (Jaiswal y col., 2009; Ndong y col., 2007), como agentes antiurolitiacis (Fahad y col., 2010; Karadi y col., 2006), como agentes antihepatotóxicos (Fakurazi y col., 2008; Pari y Kumar, 2002; Ruckmani y col., 1998), ya que en esta cualidad nutracéutica en específico, los estudios que pusieron a prueba a la moringa, fueron en ratas con daño hepático ocasionado por el paracetamol, isoniazida, rifampicina y pirazinamida, esto fue puesto de manifiesto por su efecto sobre los niveles de alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), fofatasa alcalina (ALP) y bilirrubina en el suero sanguíneo; esta observación fue complementada por el examen histopatológico de hígado. De igual manera, dos años después de estos estudios, se realizó un experimento en un grupo de ratas albinas Wisatar con fibrosis hepática inducida (Hamza, 2010). Utilizaron el extracto de semilla de *Moringa oleífera*, y la silimarina, para contrarrestar las lesiones en hígado, a una dosis de 1.0 g / Kg y 200.0 mg / Kg, respectivamente. Bioquímicamente los

niveles de ALT, AST y proteínas totales de los grupos tratados con silimarina y moringa disminuyeron, aproximándose a los parámetros de estas enzimas del grupo control, de igual manera en resultados histológicos se concluyó que había menor deposición de colágeno tipo I y III, y menos actividad de la mieloperoxidasa hepática, concluyendo así que estos dos agentes (la silimarina y el extracto de semilla de moringa) son regeneradores hepáticos (Hamza, 2010).

### **1.5 Capacidad antioxidante**

Los sistemas de defensa antioxidantes (AODS), tienen la total capacidad de inactivar las especies reactivas de oxígeno (ROS) (Halliwell y Gutteridge, 2015) que son moléculas altamente reactivas producto del metabolismo de la cadena de respiración mitocondrial (Finkel y Holbrook, 2000); dentro del término ROS se incluyen el radical superóxido ( $O_2^-$ ), radical hidroxilo ( $\cdot OH$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), y radicales Hidroperoxilicos (Oberley, 2002). Un desbalance entre la generación y neutralización de las ROS son debido a la alteración en la homeostasis del redox dentro de la misma célula por estrés oxidativo (OS) (Oberley, 2002). Este desbalance pudiera ser debido a una sobreproducción de ROS o una deficiencia de antioxidantes en el sistema. El OS es altamente dañino a la célula, causando daño en la membrana celular por peroxidación de lípidos y daño oxidativo al ADN, y esto conduce a muchas enfermedades crónico-degenerativas como la aterosclerosis, diabetes mellitus, disfunciones inmunes, mal de Parkinson, inclusive cáncer (Halliwell y Gutteridge, 2015). Algunas de las enzimas propias del cuerpo son capaces de eliminar las ROS como son superoxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa, glutatón-s-transferasa, monamina oxidasa, y xantina oxidasa, etc; así como también hay moléculas antioxidantes como la glutatión, vitamina C, vitamina E, etc. éstas están disponibles para el arresto de las ROS (Sies y col., 2005). Sin embargo la exposición prolongada a los xenobioticos sobre los AODS, ocasionan daño oxidativo irreversible (Tseng y col., 1997). Dentro de los compuestos antioxidante naturales polifenólicos están los flavonoides, flavonoles y terpenoides; éstos en virtud de ser ricos en electrones, éstas moléculas pueden donarlos a las ROS y así poder neutralizarlas (Gil y col., 1999; Halliwell y Gutteridge, 2015). En unos de los estudios realizados por Guzmán-Maldonado y col., (2015) evalúa la "capacidad antioxidante" de las hojas de árboles de 25, 100,

250 cm de altura del Estado de Gto. por dos métodos diferentes, por TEAC ( $\mu\text{mol ET / g}$ ) reporta  $417.9 \pm 35.3$ ,  $431.0 \pm 42.8$  y  $776.1 \pm 46.7$  respectivamente y, de una mezcla que preparan en “la huerta” (en Celaya; Gto) y una muestra comercial proveniente de Oaxaca ( $514.7 \pm 23.1$  y  $543.9 \pm 20.8$ , respectivamente) y por el método ORAC ( $\mu\text{mol ET / g}$ ) expone  $462.31 \pm 25.9$ ,  $415.93 \pm 18.9$  y  $648.82 \pm 41.8$ , respectivamente), y de una mezcla que preparan en “la huerta” (en Celaya; Gto) y una muestra comercial proveniente de Oaxaca ( $500.02 \pm 23.3$  y  $393.1 \pm 28.3$ , respectivamente).

Los flavonoides como antioxidantes, han demostrado ser capaces de interferir bioquímicamente en las vías donde se generan las especies reactivas de oxígeno, en la eliminación de radicales libres, como quelantes de metales de transición y la inactivación de la reacción de Fenton (es la que se produce al catalizar el peróxido de hidrógeno como metales de transición, generalmente hierro, dando como resultado la generación de radicales altamente reactivos del hidroxilo (OH); éste radical es altamente oxidante, por lo cual se ha estudiado su participación en mecanismos biológicos de degradación no enzimáticos en conjunto con compuestos de origen orgánico como el catecol (Heim y col., 2002).

El proceso de la oxidación no sólo causa la corrosión del hierro sino que procesos parecidos que también afectan los alimentos. Los agentes de conservación se agregan a éstos precisamente para que las grasas poliinsaturadas, como son los aceites vegetales, oxiden (arrancien) más lentamente. Estudios recientes han explorado extractos de la moringa como una alternativa natural a los conservadores artificiales. Anwar y col., (2007) prepararon varios extractos de las hojas de moringa, agregaron los extractos a aceite de girasol y lo almacenaron por 2 meses. Pasado este tiempo, compararon los niveles de peróxidos, dienos y trienos conjugados y los valores de p-anisidina, todos los cambios moleculares producidos al arranciarse los aceites. Increíblemente, en los aceites sin el extracto de moringa estos indicadores estaban presentes al doble en comparación con los aceites con moringa. Otros estudios comprobaron el efecto antioxidante de las hojas deshidratadas no molidas (Richter y col., 2003) y que el poder antioxidante de las hojas es mayor que el de los frutos verdes o las semillas (Singh y col., 2009). Suphachai, (2014), reporta el valor antioxidante de dos extractos de hojas de moringa, (el primer extracto lo realizó mediante la aplicación de 350 mL de

metanol a 15 g de hojas secas y este extracto fue filtrado con papel Whatman no. 1, por otra parte, en el segundo extracto, le añadió 350 mL de diclorometano y se filtró de igual manera, estos extractos fueron vaporados y liofilizados), a ambos extractos le determinó fenoles y flavonoides, donde obtuvo como resultado  $216.45 \pm 4.64$  mg EAG/g y  $100.12 \pm 3.70$  mg EAG/g de los extractos uno y dos correspondientemente para fenoles y,  $65.38 \pm 2.37$  mg EC/g y  $40.14 \pm 3.31$  mg EC/g de los extractos uno y dos correspondientemente para flavonoides. En uno de los estudios realizados por Guzmán-Maldonado y col., (2015) reporta un contenido de Fenoles totales (g EAG / 100 g) en las hojas de árboles de 25, 100, 250 cm de altura ( $2.9 \pm 0.12$ ,  $3.9 \pm 0.19$  y  $4.7 \pm 0.39$ , respectivamente), y de una mezcla que preparan en “la huerta” (en Celaya; Gto) y una muestra comercial proveniente de Oaxaca ( $3.5 \pm 0.21$  y  $3.3 \pm 0.32$ , respectivamente).

### 1.5.1 Fenólicos Simples

Son los compuestos fitoquímicos más simples y consisten en un anillo fenólico sustituido (Schindler y col., 2002). Los lugares y el número del grupo hidroxilo (OH) en el anillo parece que están relacionados con la toxicidad frente a los microorganismos, de forma que un aumento en la hidroxilación está ligado a una mayor toxicidad. El mecanismo parece estar relacionado con la inhibición enzimática por los compuestos oxidados, posiblemente mediante reacciones de grupos sulfhidrilo o por interacciones no específicas con proteínas (Cichewicz y Thorpe, 1996). Sin embargo, los compuestos de carácter fenólico y cumárico, son conocidos como inhibidores de crecimiento, aunque su acción depende fundamentalmente de su concentración (Vieitez y Ballester; 1972).

Diversos autores han reportado que, las hojas de moringa contienen antioxidantes naturales y pigmento flavonoide como kaempferol, ramnetina, isoquercitrina, y kaempferitrina (Nair y Sankaras, 1962). Estos compuestos son eficaces captadores de radicales libres (Salah y col., 1995) y también eficaces quelantes de metales (Muthukumar y col., 2014; Shahidi y col.).

Respecto a los flavonoides en las hojas de moringa (en materia húmeda) se han reportado: quercetina 89.8 mg/100 g, kaempferol 36.3 mg/100 g, isorhamnetina 2.9 mg/100 g, dando un contenido total de flavonoides de 129 mg/100 g de materia húmeda y/o un 25.5 % de materia seca (Yang y col., 2008).

## 1.6 Factores antinutricionales

Por definición, los factores antinutritivos (FAN) son sustancias naturales generadas por las plantas, como un mecanismo de defensa ante el ataque de mohos, bacterias, insectos y pájaros, o en algunos casos, productos del metabolismo de las plantas sometidas a condiciones de estrés. Su presencia condiciona la utilización de materias primas de origen vegetal para la alimentación animal ya que ejercen efectos contrarios a su óptima nutrición, reduciendo el consumo e impidiendo la digestión, la absorción y la utilización de nutrientes por el animal, los principales factores antinutricionales son: proteínas (Inhibidores de proteasa, hemaglutininas), glucósidos (Agentes causantes del bocio, cianógenos, saponinas, estrógenos), Fenoles (gospol y tanino), entre otros (Antiminerales, antivitaminas, antienzimas, alérgenos de los alimentos, carcinógenos microbianos/vegetales, aminoácidos tóxicos) (FAO, 2014).

En exclusivo, los taninos condensados, también llamados proantocianidinas son polímeros de un flavonoide llamado antocianidina y son muy complejos ( $C_{14}H_{14}O_{14}$ ). Los taninos tiene un ligero olor característico, sabor amargo y astringente y, su color va desde el amarillo al marrón oscuro (Lincoln y Zeiger, 2006). En las plantas cumplen funciones de defensa ante el herbivorismo. Los taninos en general son toxinas que reducen significativamente el crecimiento y la supervivencia de muchos herbívoros cuando se adicionan a su dieta. Además, tienen potencial de producir rechazo al alimento ("antifeedants" o "feeding repellents") en una gran diversidad de animales. Los mamíferos como la vaca, el ciervo y el simio característicamente evitan a las plantas o partes de las plantas con alto contenido de taninos. Las frutas no maduras, por ejemplo, con frecuencia tienen altos contenidos de taninos, que pueden estar concentrados en las capas celulares más externas de la fruta. Pero también, por ejemplo, los taninos del vino tinto poseen propiedades de bloquear la formación de endotelina-1, una molécula señal ("signaling molecule") que produce la constricción de los vasos sanguíneos, lo que probablemente disminuiría el riesgo de enfermedades cardíacas (Corder y col., 2001).

En 1997, Makkar y Becker demostraron que respecto al contenido de factores antinutricionales (taninos, inhibidores de tripsina y amilasa, lecitinas y glucósidos cianogénicos, glucosinolatos y saponinas) de la moringa, son indetectables o insignificantes en las hojas, tallos y ramas de este árbol. Sin embargo, Ogbe y



Affiku, 2011), reportaron en su estudio la presencia de taninos, fitatos, inhibidores de tripsina, saponinas, oxalatos y cianuro, en las hojas de moringa en un  $21.19 \pm 0.25$  % ( $2.57 \pm 0.13$  %,  $3.0 \pm 0.04$  %,  $1.6 \pm 0.05$  %,  $0.4 \pm 0.01$  % y  $0.1 \pm 0.01$  %, respectivamente).

Sin embargo, Foidl y col., (2001) reportan que, las hojas de moringa cuentan con poca cantidad de taninos (12.0 g / Kg, MS), fitatos (21.0 g / Kg) y tiene ausentes los compuestos como la tripsina, inhibidores de amilasa, lectinas, glucósidos cianogénicos y glucosinolatos, sin embargo contiene cantidades biológicamente importantes de saponinas y alcaloides (80.0 g / Kg).

Por otra parte, en el estudio realizado por Guzmán-Maldonado y col., (2015) reporta un contenido de Taninos Condensados (mg EC / 100 g) en las hojas de árboles de 25, 100, 250 cm de altura ( $21.9 \pm 0.84$ ,  $26.9 \pm 0.79$  y  $31.7 \pm 1.04$ , respectivamente), y de una mezcla que preparan en "la huerta" (en Celaya; Gto) y una muestra comercial proveniente de Oaxaca ( $21.8 \pm 1.94$  y  $6.8 \pm 0.17$ , respectivamente).

En el contexto de los factores antinutritivos, cabe recordar el tema del oxalato de calcio. Aunque los oxalatos están en cantidades abundantes en todos los tejidos de la moringa Radek y Savage (2008) mostraron que las hojas de la planta contienen únicamente los oxalatos no solubles que se excretan en las heces, por lo que la moringa no parece ser una planta que contribuya a la formación de cálculos renales, aun si se consume en altas cantidades. En resumen, además de contar con altos niveles de aminoácidos esenciales, vitaminas y antioxidantes, los estudios indican que el consumo de la moringa no presenta riesgo, pues contiene niveles poco detectable de factores antinutritivos (Olson y Fahey, 2011), es decir la moringa es un alimento libre de tóxicos y sin efectos secundarios conocidos (Fahey, 2005).

### **1.7 Evaluación de efectos tóxicos generales en aves**

En aves los efectos toxicológicos se caracterizan por decremento del consumo de alimento y en la ganancia de peso, elevación de la actividad enzimática en suero, incremento de peso del hígado y riñón, necrosis hepática y raquitismo (Weibking y col., 1993).

Es trascendental tomar en cuenta la valoración de los parámetros bioquímicos, ya que son importantes para el diagnóstico de toxicológicos debido a las variaciones significativas que se producen en las concentraciones de las proteínas totales, albúmina y las actividades específicas de enzimas relacionadas con el funcionamiento de varios órganos, como son hígado y riñones, y entre ellas se encuentran la alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) y gama glutamil transpeptidasa (GGT). Gran parte de las proteínas que se encuentran en plasma son sintetizadas en el hígado y su concentración en plasma puede verse alterada debido a cambios de agua plasmática y en la concentración de una o varias proteínas séricas producidos por diferentes procesos patológicos (Tietz, 1995). En aves, las intoxicaciones producen una disminución en los niveles de proteínas totales de hígado y riñones, ocasionada por la degranulación del retículo endoplásmico rugoso a causa de la disgregación de los polirribosomas que trae como consecuencia una alteración en la síntesis de proteínas y por tanto un mal funcionamiento de los órganos (Denli y col., 2009; Ergun y col., 2006). Las concentraciones de proteínas plasmáticas (Kubena y col., 1997) y hepáticas, (Valdivia y col., 2001), han sido reportadas por estos autores, en niveles muy bajos en pollos, como una de las primeras evidencias diagnósticas del daño originado por la exposición a tóxicos que dañan al hígado (Landeros y col., 2008).

Otro de los puntos importantes en el análisis toxicológico que se realiza a pollos de engorda es el contenido de proteína en sangre. La determinación de proteínas totales se realiza para evaluar la posible presencia de enfermedades nutricionales, signo de mal nutrición, enfermedades del riñón o del hígado, o bien que el cuerpo no absorba bien suficientes proteínas. Las proteínas totales del suero se pueden separar en dos grandes grupos la albúmina y las globulinas. La albúmina es la proteína de más concentración en la sangre. La albúmina transporta muchas moléculas pequeñas (bilirrubina, progesterona y medicamentos), y tiene también la función de mantener la presión sanguínea ya que favorece la presión osmótica coloidal para mantener líquidos en el torrente sanguíneo y que no pasen a los tejidos, manteniendo un equilibrio (Arrieta-Mendoza y col., 2007). Respecto a las concentraciones en suero sanguínea de Proteínas Totales Arrieta y col., (2006) en su investigación, maneja valores de  $3.350 \pm 0.52$  g / 100 mL. Los valores de referencia para la albúmina en aves van de un rango de 3.10 – 5.05 g / dL (Meluzzi y col., 1992).

Se ha observado una correlación en las variaciones de los niveles séricos de las enzimas hepáticas, donde principalmente se produce un incremento en los niveles de enzimas séricas ocasionados por disfunción hepática como consecuencia de ruptura de hepatocitos, resultado de necrosis o alteraciones en la permeabilidad de la membrana celular (Borsa y col., 2006).

La enzima ALT presenta una alta actividad en el citoplasma hepatocelular de varios organismos animales, principalmente en los hepatocitos periportales mientras que su actividad es menor en los hepatocitos centrilobulares. Por otra parte, la enzima AST se encuentra en el citosol y mitocondrias de células hepáticas, musculares y de células sanguíneas rojas. De acuerdo a la localización de estas dos enzimas, se prefiere utilizar más como referencia la actividad de ALT, por su alta concentración en hígado. Tanto la enzima ALT como AST se encuentran en concentraciones elevadas en hígado y en riñones, que se ven afectadas por procesos patológicos asociados con necrosis, a partir de que se origina la liberación de dichas enzimas a la circulación sanguínea produciéndose un incremento de la actividad de éstas en plasma, por lo que las variaciones en la actividad enzimática específica de ALT y AST se consideran como indicadores de daño hepático (Borsa y col., 2006).

Estudio realizado en ratas por Pari y Kumar, (2002), reportan el efecto benéfico del extracto de *Moringa oleífera* expresado en la disminución de las actividades enzimáticas de la ALT, AST, ALP y concentración de la bilirrubina en el suero. Estas observaciones fueron complementadas por el examen histopatológico de hígado en las ratas Sprague-Dawley tratadas con MO y acetaminofén en comparación con los tratados con acetaminofeno solo. La actividad sérica de AST en aves también es considerada un indicador sensible de daño o disfunción hepatocelular (Kubena y col., 1998), debido a que la necrosis u otra alteración que aumente la permeabilidad celular, podría causar liberación e incremento inmediato de esta enzima en el suero (Shukla y Pachauri 1995). Algunos autores reportan que en casos de daño hepático crónico pueden producirse daños o ruptura hepatocelulares sutiles, pudiendo resultar en valores normales en la actividad sérica de AST y en algunos casos disminución de los mismos (Fudge 2000). En estos casos es común encontrar en aves hallazgos de fibrosis hepática con valores normales de AST, disminución de albúmina y otras proteínas (Lumeij, 1997).

Los parámetros considerados dentro de lo ideal de la ALT en pollos de engorda por Mitruka y col., (1977) son de 9.50 – 37.2 (UI/L). Sin embargo, Kucuk y col., (2003), reportan 14.0 – 17.0 (UI/L) y Melesse y col., (2013) reporta a la ALT en 19.6 (UI/L). Todo por encima de este rango representa un daño hepático y renal (Tietz, 1999; Ramaiah, 2007; Landeros y col., 2008). Respecto a la Fosfatasa Alcalina en el estudio de Melesse y col., (2013), reporta un parámetro control de  $600 \pm 28$  (UI/L).

La GGT, es una enzima de membrana asociada a una proteína, y tiene una alta correlación con la intensidad del metabolismo de los aminoácidos. La formación de la 5-amino-2-nitrobenzoato de metilo sirve como una medida de la actividad de GGT. La GGT es una enzima localizada más específicamente en las células epiteliales de los ductos biliares y en algunos hepatocitos periportales y aunque es menos sensible que otros indicadores bioquímicos, se considera como un marcador específico de colestasis e hiperplasia biliar, situaciones donde su actividad se ve incrementada (Gella y col., 1985; Beleta y Gella, 1990; Ramaiah, 2007; D'Angelo y col. 2007). El incremento de la actividad enzimática de la GGT se produce a causa de procesos patológicos sobre algunos órganos, como hígado y riñones (Ramaiah, 2007), es por eso que la evaluación de la actividad de GGT a nivel de plasma también es posible (Kim y col., 2003). Las principales causas a nivel hepático que originan el incremento de la actividad de GGT incluyen inflamación, colestasis biliar e hiperplasia de los conductos biliares (Fernández y col., 1994). Estudios en ratas, han indicado que el riñón juega un papel muy importante en la eliminación de xenobióticos por filtración vía glomerular, debido a que presentan una elevada actividad enzimática de la GGT (Wlodek y col., 2002). Asimismo, MacDaniel y col., (1964) manejan un valor en su grupo control de la GGT en  $239 \pm 74$  (UI/L).

Histopatológicamente, la fibrosis hepática es una respuesta dinámica de curación de heridas de daño hepatocelular que representa uno de los mayores problemas de morbilidad y mortalidad. Es caracterizado por la excesiva deposición de proteínas de colágeno tipo I y III, en la matriz extracelular predominantemente. Este exceso de deposición de matriz extracelular rompe la arquitectura normal del hígado y el funcionamiento normal, resultando una fisiopatología en el órgano (Tsukada y col., 2006; Torok, 2008). Las células hepáticas estrelladas son consideradas punto clave en la progresión de fibrosis hepática (Gutierrez-Ruiz y Gomez-Quiroz, 2007).

### 1.7.1 Características generales macro y microscópicas del hígado en el pollo

El hígado es la glándula más grande y representa del 2–5% del peso corporal. La proporción del hígado y el peso corporal casi siempre es constante. Es una glándula tubular compuesta con diversas funciones metabólicas. La organización funcional del hígado está formada por dos estructuras: el lóbulo y el acino (Klaassen, 2008). El hígado se divide en lóbulos hexagonales orientados alrededor de venas centrales y cada una de las esquinas del hexágono se encuentra una triada, tracto portal ó área portal. Entre la vena central y el tracto portal se localizan los cordones de células del parénquima hepático o hepatocitos. El lóbulo se divide en tres zonas: centrilobulillar, media y periportal (Klaassen, 2008).

El acino hepático es una unidad sin periferia ni morfología definida, pero se puede distinguir debido a que su eje es el tracto portal y la periferia está formada por una línea imaginaria que conecta a las vénulas hepáticas terminales. Los hepatocitos (que son el 75% del peso del hígado, en donde el 75% cuentan con un núcleo y el 25% cuentan con dos núcleos, también son células prolongadas, hasta 150 días de vida (Gartner y Hiatt 2002), localizados dentro del acino se encuentran distribuidos en tres zonas diferentes según el nivel de oxigenación y la función metabólica que desempeñan en función del flujo sanguíneo que reciben del tracto portal hacia las vénulas terminales: la zona I, que es altamente oxigenada debido a su cercanía con el tracto portal (9 – 13% O<sub>2</sub>), es rica en mitocondrias (hasta 2000), y hay la presencia de gotitas de lípidos, que es glucógeno; la zona II, que posee una oxigenación intermedia y la zona III, es de menor oxigenación (4 – 5% O<sub>2</sub>) ya que se encuentra muy cerca de las vénulas terminales o centrales, ésta zona, en presencia de fármacos o toxinas, aumentan el número de mitocondrias (>2000) y de retículos endoplásmicos lisos (Klaassen, 2008).

Por otra parte, entre los hepatocitos están los canículos biliares que se anastomosan unos con otros y forman túneles laberínticos y que se llevan a la periferia del lobulillo hepático clásico como *colangiolos*, éstos son túbulos cortos compuestos por hepatocitos, que son células cuboides bajas y células ovales. La bilis de los colangiolos entra en los conductos de “Hering”, que son ramas delgadas de los “conductos biliares interlobulillares” que se irradian paralelos a

las arteriolas, estos conductos biliares inerlobulillares al unirse forman el “conducto hepático, derecho e izquierdo” Gartner y Hiatt (2002).

La degeneración grasa en hígado por intoxicación de sustancias tóxicas ha sido reportada por varios autores (Ergun y col., 2006; Arrieta y col., 2006). El hecho al que se le atribuye a que varias toxinas provoquen este daño en el hígado de aves, se debe a que éste es el principal órgano en donde se lleva a cabo la síntesis de ácidos grasos (Merkley y col., 1987).

Sin importar su complejidad, las numerosas y variadas funciones del hígado se efectúan por dos tipos celulares, el *hepatocito* y la *célula de von Kupffer*. El hepatocito retiene un alto potencial mitótico, a la vez que efectúa funciones muy diversas exclusivas como la síntesis (azúcares, proteínas plasmáticas, factores de coagulación, lípidos, urea, cuerpos cetónicos), secreción (sales biliares), excreción (pigmentos biliares), almacenamiento (lípidos, vitaminas, glucógeno, biotransformación (tóxicos, fármacos, drogas, hormonas) y metabolismo (lípidos, proteínas, carbohidratos). El hepatocito forma el parénquima del órgano, son polihédricos. Su núcleo vesicular tiene un núcleo prominente. El núcleo es central y está rodeado por un citoplasma acidofílico que también tiene material basófilo. Pueden observarse células binucleadas. El aspecto histológico del hepatocito depende del estado fisiológico del organismo al tomar la muestra. En animales en ayunas, los hepatocitos se observan pequeños, turbios e indistintamente delineados. Después del alimento los hepatocitos se agrandan y se delínean en forma distinta y se llenan con numerosas inclusiones glucogénicas y lipídicas, que le confieren un aspecto espumoso o de panal de abejas. Las características ultraestructurales del hepatocito confirman su multiplicidad funcional. Hay muchas mitocondrias distribuidas en la célula. El retículo endoplásmico liso se extiende en todo el citoplasma y se continúa con los perfiles del Retículo endoplásmico rugoso, también se hallan Lisosomas, Peroxisomas, Gotas lipídicas y glucógeno. Las microvellosidades se proyectan en las indentaciones; las indentaciones se ramifican entre células adyacentes como un sistema de canalículos biliares visibles con microscopía de luz. Las células de von Kupffer, elemento del sistema de macrófagos, reviste las sinusoides hepáticas y están íntimamente relacionada con el hepatocito. Auxiliar en la actividad fagocitaria del hígado. La hematopoyesis es una función del hígado durante el desarrollo embrionario (Banks, 1986).

La infiltración de ácidos grasos en tejido hepático se observa como vacuolas citoplasmáticas de diferentes tamaños, dependiendo del tiempo de exposición al xenobiótico, clasificándose como degeneración grasa microvacuolar en exposiciones agudas y macrovacuolar en exposiciones crónicas (Robbins y col., 2002). La presencia de células inflamatorias (linfocitos, mononucleares y polimorfonucleares) en áreas de tejido hepático dañado, específicamente en zonas perivasculares, es debido al consumo de toxinas, es una respuesta inflamatoria que puede estar involucrada en un proceso regenerativo de células parenquimatosas (Klaassen, 2008). Las Oxidasas microsómicas de función mixta en los hepatocitos, inactivan fármacos como los barbitúricos, antibióticos y toxinas, en la cisterna del R.E.L. por metilación, conjugación u oxidación. En ocasiones la detoxificación ocurre en peroxisomas en lugar del R.E.L. (Gartner y Hiatt 2002).

En la regeneración hepática, están involucrados los siguientes factores, factor de transformación del crecimiento  $\alpha$ , factor de transformación del crecimiento  $\beta$ , factor de crecimiento epidérmico, Interleucinas 6 y factor de crecimiento del hepatocito; que son liberados por las células estrelladas (células Ito), en el espacio de Disse, también depende de la actividad mitótica de las células ovas de los colangiolo y de los conductos de Hering cuando la agresión hepatotóxica es considerable (Gartner y Hiatt; 2002).

### **1.7.2 Características generales macro y microscópicas de los riñones en el pollo**

El sistema renal de los pollos está conformado por un par de riñones, similares en conformación y tamaño, así como los uréteres que transportan a la orina hacia el urodeo de la cloaca. Los riñones están situados en ambos lados de la columna vertebral, en las depresiones óseas de los huesos de la pelvis. Representan del 2 al 2.6% del peso corporal de las aves dependiendo de la especie y son relativamente más largos que los riñones de los mamíferos. Tienen una longitud aproximada de siete cm y una anchura transversa de dos cm formando un rectángulo alargado (Getty, 1998). La pelvis renal y la vejiga están ausentes en las aves (Sturkie, 1986). La arteria y vena renal conforman el tallo renal, que nace en el hilio renal y se continúa hacia el interior de riñón, que son los senos renales que están ocupados por tejido conectivo laxo, rico en lípidos, que rodea las estructuras allí presentes (Geneser, 2000).

La nefrona ha sido descrito por Braun (1982), que los riñones de las aves contienen dos áreas: una cortical y otra medular, pero la línea de demarcación entre ellas es indistinguible. El área cortical se sitúa en la superficie del riñón y contiene nefronas simples del tipo de los reptiles, sin asa de Henle y que sus túbulos distales forman ángulos rectos en su desembocadura a los tubos colectores. Las nefronas están dispuestas en forma radial en relación con la vena eferente central para formar unidades cilíndricas o lóbulos. En lo más profundo de la corteza, se encuentran nefronas con asa de Henle del tipo mamífero, que surgen de las arteriolas eferentes del glomérulo y los tubos colectores que drenan de ambos tipos de nefrona se encontraron en forma paralela limitados por una vaina de tejido conectivo dentro de una unidad encintada denominada como medular. Cada cono termina como una rama del uréter (Getty, 1998). Sturkie (1986) menciona que el número de conos medulares por riñón es similar en una sola especie pero varía considerablemente entre las especies. El arreglo de los túbulos en el cono permite la operación de un sistema de contracorriente multiplicado. La nefrona de tipo medular tiene un túbulo contorneado proximal es similar al de la nefrona cortical. El segmento intermedio forma un asa de Henle que profundiza en la médula y que se reduce de calibre; el asa de Henle es semejante al asa corta de los mamíferos en las que el calibre se alarga antes del arqueamiento. Las principales asas pasan por el borde del lóbulo, esto es en una posición interlobular, pero no está claro de cómo esto ocurre en la gallina. El túbulo contorneado distal forma unas asas compactas cerca de la vena central.

Los túbulo colectores no son parte de la nefrona, tienen orígenes embriológicos diferentes, los túbulos contorneados distales se unen para formar un "túbulo colector corto" que conduce al túbulo colector, que tiene tres regiones, región 1, túbulos colectores corticales (son de dos tipos, son de células principales y células intercaladas), región 2, túbulos colectores medulares, son de mayor calibre, porque son la unión de varios túbulos corticales y muestran células principales e intercaladas, y la 3er región, túbulos colectores papilares o de "Bellini", la cual son la unión de varios túbulos medulares, están recubiertas de células cilíndricas altas y están en el área cribosa de la papila renal, aquí los túbulos son impermeables al agua, excepto en la presencia de ADH (Gartner y Hiatt; 2002).



Histopatológicamente, se ha indicado que la degeneración epitelial y la falta del borde en cepillo en los túbulos contorneados proximales son signos de necrosis tubular aguda ocasionados por toxinas. Las toxinas producen cambios en la estructura renal, tales como el incremento en el espacio de la cápsula de Bowman y en la morfometría glomerular (Majid y col., 2007), ocasionando una falla en el funcionamiento renal, dependiendo de la dosis y duración de la exposición al xenobiótico (Klaassen, 2008).

### 1.7.3 Estudios realizados con moringa para evaluar aspectos tóxicos

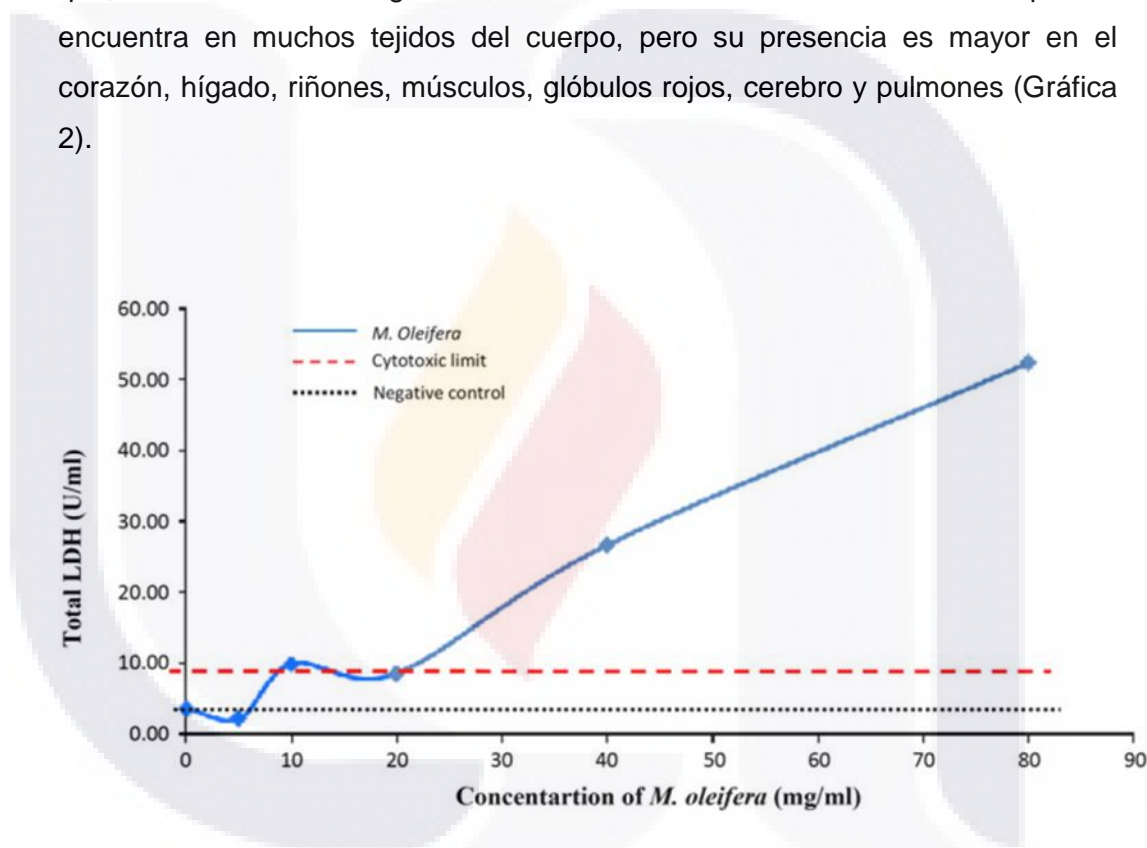
Melesse y col., (2013) realizaron un ensayo con pollitos mixtos de un día de edad de la línea Potchfstroom de doble propósito (carne y huevo) en Sudafrica; utilizaron HHMS en las siguientes proporciones según los grupos: tratamiento 1 (0.0 g / Kg), tratamiento 2 (50.0 g / Kg), tratamiento 3 (80.0 g / Kg), tratamiento 4 (110.0 g / Kg) y tratamiento 5 (140.0 g / Kg), donde determinaron ALT (UI / L) y obtuvieron, en todos los tratamientos, 30.8 (t1), 21.3 (t2), 19.6 (t3), 23.4 (t4) y 44.8 (t5). Asimismo AST (UI / L), 221.0 (t1), 223.0 (t2), 207.0 (t3), 211.0 (t4), 211.0 (t5); al igual que evaluaron ALP (UI / L) en todos los tratamientos, 582.0 (t1), 635.0 (t2), 580.0 (t3), 609.0 (t4) y 588.0 (t5) y por último determinaron las concentraciones de proteínas totales (g / dL), 2.59 (t1), 3.11 (t2), 3.3 (t3), 3.19 (t4) y 3.21 (t5).

En otro ensayo, llevado a cabo por Asare y col., (2012) probó el extracto de hoja de moringa en ratas a dosis de 3000.0 y 1000.0 mg / Kg de peso, por vía oral, en donde evaluó enzimas hepáticas como la AST, ALT, ALP y GGT, y no encontraron diferencia estadística con el grupo control. Por lo cual, no hubo manifestación de un posible daño en la función hepática ni renal.

Por otra parte, en el estudio realizado por Ayssiwede, (2011), en donde utilizaron HHMO al 8, 16 y 24%, respectivamente en pollos de Senegal-Indúes, los resultados que respectan a la evaluación de los órganos *in situ – post mortem*, concluyeron que la inclusión de HHMO no presenta efectos adversos en el peso de los órganos (hígado, corazón, pulmones y bazo) comparados con el grupo control. Sin embargo, se vio aumentada la coloración amarilla de la piel y grasa de los pollos respectivamente y de forma gradual en cada tratamiento correspondiente.

Un estudio realizado por Awodele y col., (2012) sobre la toxicidad aguda en ratones albinos machos Wistar que se les administró por vía oral, estimaron que la DL<sub>50</sub> de las hojas de moringa fue de 1.585 g / Kg. Y por otra parte, Morton (1991) descubre que las raíces de la moringa contienen la *spirochin alcaloide*, que es un potente y mortal agente paralizador del sistema nervioso.

Por otra parte, Asare y col., (2012), encontraron que la adición de extracto de moringa en células sanguíneas de humanos *in vitro*, incrementa la liberación del lactato deshidrogenasa en las células mononucleares de sangre periférica ya que, la lactato deshidrogenasa, o LDH es una enzima catalizadora que se encuentra en muchos tejidos del cuerpo, pero su presencia es mayor en el corazón, hígado, riñones, músculos, glóbulos rojos, cerebro y pulmones (Gráfica 2).



**Gráfica 2.** Citotoxicidad del extracto de *Moringa oleifera* mediante la medición de lactato deshidrogenasa (LDH) en células mononucleares de sangre periférica de humanos.

Corresponde a la categoría de las oxidorreductasas, dado que cataliza una reacción redox, en la que el piruvato es reducido a lactato gracias a la oxidación de NADH a NAD<sup>+</sup>. Dado que la enzima también puede catalizar la oxidación del hidroxibutirato, ocasionalmente es conocida como Hidroxibutirato Deshidrogenasa (HBD). Participa en el metabolismo energético anaerobio, reduciendo el piruvato (procedente de la glucólisis) para regenerar el NAD<sup>+</sup>, que

en presencia de glucosa es el sustrato limitante de la vía glucolítica. Los vertebrados, en algunos tejidos o tipos celulares, obtienen la mayor parte de su energía del metabolismo anaerobio (toda en el caso de eritrocitos dado que carecen de mitocondrias) (Ferri, 2014).



## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo general

Utilizar el pollo como un modelo animal para evaluar el potencial nutrimental y nutraceutico de la harina de la hoja de la Moringa *oleífera* (HHMO) y la presencia de factores antinutricionales y tóxicos.

#### 2.1.1 Objetivos específicos.

1. Determinar el análisis proximal.
2. Determinar el contenido de fenoles totales, compuestos fenólicos simples y capacidad antioxidante.
3. Determinar los factores antinutricionales de la HHMO (taninos condensados).
4. Evaluar los parámetros productivos de los pollos de engorda alimentados con la HHMO, mediante la determinación del peso promedio final, conversión alimenticia, ganancia diaria de peso e índice de productividad
5. Evaluar el posible efecto tóxico de la HHMO, mediante la determinación de las actividades enzimáticas de la ALT, AST, GGT, ALP, PT y ALB en el suero sanguíneo; asimismo para este objetivo, evaluar las características microscópicas mediante estudios histopatológicos de tejidos hepáticos y renales.

### 3. HIPOTESIS

Las características nutrimentales y nutraceuticas de la hoja de moringa mejoran los parámetros productivos y no tiene un efecto tóxico en los pollos de engorda.



## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Ubicación geográfica del estudio.

El presente estudio se llevó a cabo en la Unidad de aves, que se encuentra dentro de las instalaciones del Área Pecuaria de Posta Zootécnica de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, ubicada en el municipio de Jesús María, Aguascalientes. Las coordenadas son 21°57'40" latitud norte y 102°20'36" longitud oeste, el clima prevaleciente en la región es estepario o semidesértico (Bs) (García, 1998). La determinación de la calidad nutrimental y nutracéutica de la HHMO se llevó a cabo en el laboratorio de Alimentos Funcionales del Campo Experimental del Bajío del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en Celaya, Gto.

### 4.2 Materiales

#### 4.2.1 Hoja de Moringa *oleifera*

Preparación de la HHMO. Las hojas frescas se cosecharon de árboles (de dos años de edad, la última cosecha fue cuatro meses antes) que se cultivan en una granja, en Gasca, Guanajuato. Las hojas fueron tomadas según el método descrito por Morton (1991), se diseminaron y se secaron bajo sombra durante un período de 24 horas; Posteriormente, se secaron en una estufa de aire forzado a 60 °C durante dos días. Las hojas secas se molieron con un molino de martillo (2.0-3.0 mm de tamizaje) para confeccionar la HHMO, ésta se incorporó a la dieta experimental.

#### 4.2.2 Material Biológico

Se utilizaron 180 pollos de engorda, mixtos, de un día de edad, línea ROS-308, como un ave de rápido crecimiento, eficiente conversión de alimento y alto rendimiento. Criada para producir buena cantidad de carne a bajo costo, ha alcanzado el éxito gracias al énfasis en: Ganancia de Peso, Conversión Eficiente de Alimento, Resistencia a las enfermedades, Rendimiento en carne de Pechuga.

**4.3 Métodos**

**4.3.1 Análisis proximal**

4.3.1.1 Determinación de humedad

El contenido de humedad se determinó de acuerdo con la metodología de la AOAC (1990). Las determinaciones se realizaron por triplicado para cada muestra. Se pesaron 2 g de muestra seca y molida en una caja petri previamente puesta a peso constante durante 2 horas en una estufa a 130 °C. Esta caja con la muestra fue colocada nuevamente en la estufa a 130 °C durante 2 horas. Transcurrido el tiempo, se sacó cuidadosamente y se colocó en un desecador, que fue sellado al vacío hasta que la caja con la muestra se enfrió a temperatura ambiente. Finalmente se sacó y se pesó.

El contenido de humedad se reportó en g/100 g de muestra de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{[(P_i \text{ caja} + P_i \text{ muestra}) - P_f]}{P_i \text{ muestra}}$$

Donde:

P<sub>i</sub>= Peso inicial (g)

P<sub>f</sub>= Peso final de la caja con muestra seca (g)

4.3.1.2 Determinación de cenizas totales

El contenido de cenizas se determinó de acuerdo con la AOAC (1990) y algunas modificaciones por Martínez-Herrera y col., (2006). La ceniza de un producto alimenticio es el residuo inorgánico que queda después de quemar la materia orgánica. La cantidad de cenizas representa el contenido total de minerales en los alimentos. La determinación se hizo por medio de incineración de la muestra a una temperatura no mayor de 500 °C. Se taró un crisol de porcelana, se pesó aproximadamente 1g de muestra seca y molida, posteriormente se calcinó en mechero, y se colocó el crisol en una mufla a una temperatura de 500 C hasta que las cenizas tomen un color blanco uniforme. Después de se dejó enfriar la

muestra en un desecador y finalmente se pesó el crisol. El porcentaje de cenizas del producto, es igual a:

$$\% \text{ Cenizas} = [(m_2 - m_1) \times 100] / m_3$$

Donde:

$m_1$ : masa del crisol vacío (g)

$m_2$ : masa del crisol con muestra calcinada (g)

$m_3$ : masa de la muestra seca (g)

#### 4.3.1.3 Fibra cruda

Para la determinación de la fibra cruda se utilizó el método NMX-Y 094-SCFI-2011, con algunas modificaciones; la determinación se realizó por duplicado. Se pesó 0.5 g de muestra y se colocó en un vaso de precipitado de 600 mL, posteriormente se agregó 200 mL de ácido sulfúrico 0.128 M caliente y cuatro perlas de ebullición. En la fase de digestión ácida, se colocó el vaso en el sistema de calentamiento con las parrillas precalentadas durante  $30 \pm 1$  min, donde se abrió la llave del agua durante todo el proceso de digestión; después, se retiró el vaso del digestor y se hizo la primer filtración de las muestras, se enjuagó el vaso con cinco porciones de 10 mL de agua caliente, ayudando con succión y se agregó acetona la cantidad suficiente para cubrir la muestra y luego se eliminó mediante succión. En la fase de digestión alcalina, se transfirió el residuo al mismo vaso de digestión, se añadió 200 mL de hidróxido de sodio 0.313 M, y se colocó en el digestor a hervor durante  $30 \pm 1$  min. Después, se retiró el vaso del digestor y se filtró usando un papel filtro a peso constante, se lavó con 25 mL de ácido sulfúrico 0.128 M hirviendo, se enjuagó con agua caliente hasta que el filtrado fue neutro. Con la ayuda de vacío, se lavó el residuo tres veces con porciones de 30 mL de acetona donde se secó el residuo por succión después de cada lavado. En la fase de secado, se transfirió el residuo a un crisol y se secó por dos horas a  $130 \text{ }^\circ\text{C}$  y se dejó enfriar. En la fase de calcinación, el crisol con la muestra se colocó en la mufla por 30 min a  $600 \text{ }^\circ\text{C}$ . Posteriormente se dejó enfriar en el desecador y se volvió a pesar.



Se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ FC} = \frac{(B2-B1)-(C2-C1)}{\text{g muestra}} \times 100$$

Donde:

B1= peso de la bolsa para la digestión

B2= peso de la bolsa con muestra

C1= peso del crisol

C2= peso del crisol con muestra digerida

#### 4.3.1.4 Proteína cruda

El contenido de proteína total se determinó de acuerdo con Villegas y Mertz (1970), por el método de Micro-Kjeldahl. El método se basó en la combustión en húmedo de la muestra por el calentamiento del ácido sulfúrico concentrado en presencia de catalizadores metabólicos y de otro tipo para reducir el nitrógeno orgánico presente hasta amoniaco, que queda en solución en forma de sulfato de amonio. El digerido una vez alcalinizado, se destiló en forma directa o por arrastre de vapor para desprender el amoniaco que es atrapado y posteriormente se tituló con un álcali estándar para dar el contenido de nitrógeno orgánico. Se pesó 0.1 g de muestra seca molida y se adicionó en un tubo para digestión junto con 4 mL de mezcla de ácidos sulfúricos-salicílico (25 g de ácido salicílico en 1 L de ácido sulfúrico concentrado), se dejó reposar la mezcla por 12 horas privada totalmente de luz, tapando los tubos con parafilm.

Después del reposo se agregó 0.6 g de la mezcla catalítica de selenio (Merck Art. 8030) y perlas de vidrio. Se dejó digerir calentando a una temperatura de 180 ° C durante una hora y después se aumentó la temperatura y se continuó calentando hasta que la muestra alcanzó una apariencia clara (color verde azulado). Terminada la digestión, se dejó enfriar la muestra para su posterior destilación.

Para la destilación, se agregó 29 mL de agua destilada pero en pequeñas fracciones para enjuagar el tubo, evitando que queden residuos de muestra que pudiese causar pérdidas, todo esto se transfirió a un tubo del destilador. Por otro lado, se adicionaron 5 mL de solución indicadora de ácido bórico a un matríz Erlen Meyer de 125 mL y se colocó debajo del condensador del equipo de destilación (Rapidstill II, Labconco). Al tubo que contuvo la muestra se le agregó

20.0 mL de NaOH 10.0 N y se colocó en el destilador. Dicho proceso terminó cuando el matríz receptor contuvo 75.0 mL del destilado. Finalmente se tituló la muestra con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.01 N hasta que el color cambió de verde a rosa. Para el cálculo de proteína se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ N} * 6.25$$

Donde:

$$\% \text{ N} = (V - V_0) * N * \text{meq} * 100 / M$$

V = mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> empleados en la titulación de la muestra

V<sub>0</sub> = mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en el blanco

N = Normalidad del H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

meq = miliequivalentes del N<sub>2</sub> 0.014 g

M = muestras en g

Nota: 1.0 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.01 N = 0.14 mg de N-NH<sub>4</sub>

#### 4.3.1.5 Grasa cruda

Se determinó de acuerdo con la AOAC (1990). La grasa cruda está formada principalmente por lípidos y otras sustancias como clorofila, pigmentos (carotenoides y xantofilas), vitaminas liposolubles, compuestos orgánicos volátiles, entre otros; todos tienen el carácter físico común de ser solubles en ciertos disolventes. La denominación extracto etéreo es debido a la utilización de hexano como disolvente. Se pesó el papel filtro seco aproximadamente de 2 g de muestra seca y molida, se anotó el peso exacto y determinó el papel (pi). Posteriormente se coloca la muestra en un cartucho para extractor Goldfish y se agregan 50 mL de hexano para cada muestra. Al finalizar el proceso, el cartucho se colocó en el desecador para enfriar y posteriormente se pesó.

El contenido extracto etéreo se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Extracto etéreo (\%)} = ((p_i - p_f) / p_i) * 100$$

#### 4.3.1.6 Carbohidratos (ELN)

El contenido de carbohidratos se determinó de acuerdo con la metodología de la AOAC (1990). Se calcularon por la diferencia de peso con 100 g de muestra restando la suma del contenido de proteína cruda, grasa cruda, cenizas y fibra cruda.

El contenido de carbohidratos se reportó en g/100 g de muestra seca de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Carbohidratos} = 100 - (\text{P. C.} + \text{E. E.} + \text{Ceniza} + \text{FDT})$$

### 4.3.2 Minerales y Vitamina C

#### 4.3.2.1 Minerales hierro y calcio

El contenido de hierro y calcio se determinó usando una digestión húmeda de acuerdo al método descrito por (Jones Jr y col., 1990). A 0.5 g de muestra seca y molida se le adicionó 4 mL de ácido nítrico y se cubrió con parafilm y se dejó reposar por 30 min. Se colocó en una placa de digestión y se calentó a 100 °C durante 1 h. Se retiró de la placa de digestión, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se adicionaron 2 mL de ácido perclórico, se colocó nuevamente en la placa de digestión a 150-170 °C. Se tomó como punto final de la digestión cuando aparecieron humos blancos y el digerido se encontró totalmente transparente. La muestra digerida se dejó enfriar y se aforó a 50 mL con agua desionizada y se leyó directamente por absorción atómica. Los cálculos se realizaron en base a la siguiente fórmula y se reportaron en mg/100 g de MS.

$$\text{Mineral en ppm} = (\text{ABS}_m - \text{ABS}_b) (50 \text{ mL/g})$$

Donde:

ABS<sub>m</sub>= absorbancia de la muestra

ABS<sub>b</sub>= absorbancia del blanco

50 L/g= factor de dilución

#### 4.3.2.2 Determinación del contenido de vitamina C

La determinación del contenido de ácido ascórbico y dehidroascórbico se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por (Corral-Aguayo y col., 2008). Se pesó 1 g de muestra seca y molida en un tubo falcon de 50 mL, se añadieron 10 mL de solución de extracción (ácido cítrico 0.1 M y 0.05 % de EDTA a pH 2.35-2.4), se centrifugó a 5000 rpm por 10 minutos y el sobrenadante se recuperó y filtró. Posteriormente se tomó 1.5 mL del extracto y se le adicionó 0.5 mL de 1,2-

fenilendiamina preparada en metanol / agua (5:95 v/v) y se incubó por 37 minutos en la oscuridad, transcurrido el tiempo se filtró a través de una membrana de nylon de 0.45 µM y se colocó en un vial ámbar para su análisis en HPLC. En éste análisis se utilizó una columna SB-C-18 marca Zorbax (150 X 4.6 mm) y la fase móvil consistió en Cetrimida 5 mM (hexadecyltrimethylammonium bromide) y KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 50 mM en metanol/agua (1:9), v/v a pH 4.6. El flujo fue de 1.5 mL/min. El ácido ascórbico fue monitoreado a 261 nm y el dehidroascórbico a 348. Para la determinación se realizaron curvas de calibración para cada uno de los estándares.

El contenido de vitamina C se reportó en mg/100 g de ácido ascórbico y mg/100 g de ácido dehidroascórbico de muestra seca de acuerdo con las siguientes fórmulas:

$$\text{Ácido Ascórbico} = \frac{(ABC + 238.06356) * FD * V *}{32.4459431 *}$$

$$\text{Ácido de Dehidroascórbico} = \frac{(ABC - 29.456101) * FD * V * (100-H)}{6.58729178 * Pi}$$

Donde:  
 ABC=Área bajo la curva.  
 FD= Factor de dilución =1.333  
 V=Volumen de extracción (mL)  
 H = Humedad (g)  
 Pi= peso inicial de la muestra (mg)

### 4.3.3 Compuestos antinutricionales.

Ver el tema 4.3.4.2 cuantificaciones de taninos condensados.

#### 4.3.4 Análisis nutracéutico.

##### 4.3.4.1 Fenoles totales

El método empleado fue el de Folin Ciocalteu, descrito por Singleton y col. (1999), el cual, está basado en la reducción de ácido gálico por compuestos fenólicos en presencia de un álcali (carbonato de sodio). Se pesó 1 g de muestras en un tubo falcón y se añadió 10 mL de metanol al 30 % enseguida se agitó en un vortex a 8000 rpm durante 10 min, se centrifugó y filtró con papel Whatman hasta obtener todo el líquido. Se tomó una alícuota de 125  $\mu$ L de extracto y se colocó en un tubo de ensaye. Se le adicionó 500  $\mu$ L de agua desionizada, enseguida se agitó brevemente a 3000 rpm. Después se le añadió 125  $\mu$ L de reactivo de Folin-Ciocalteu, posteriormente se agitó brevemente a 3000 rpm y se dejó reposar por 6 min en la oscuridad.

Posteriormente al tubo se le adicionó 1.25 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 7 % y 1 mL de agua desionizada, se agitó brevemente a 3000 rpm. Reposó 1.5 h en la obscuridad a temperatura ambiente. Después del reposo se leyó a una absorbancia de 750 nm en el espectrofotómetro (6405 UV/Vis, JENWAY). En otro tubo se preparó el factor de corrección en 125  $\mu$ L del extracto de la muestra y todos los reactivos bajo las mismas condiciones a excepción del reactivo Folin-Ciocalteu. Por otro lado se prepararon 2 blancos de calibración. Para el blanco de calibración se utilizó metanol al 30 % y con todos los reactivos bajo las mismas condiciones. Para el blanco de calibración del factor de corrección se usó metanol al 30 % y todos los reactivos bajo las mismas condiciones a excepción del Folin. La concentración final se expresó como mg equivalentes de ácido gálico / 100 g de muestra (mg EAG/100g).

Para la determinación de fenoles totales se elaboró una curva estándar de calibración, se tomó 10 mg de ácido gálico y se disolvió en 50 mL de metanol al 30 %; la concentración fue de 0.2 mg/mL. De esta solución se tomó 25 mL de alícuota y se llevó a 50 mL con metanol al 30 %, y así sucesivamente hasta obtener una serie de concentraciones de 0.2 hasta 0.00625 mg/mL. De cada una de las soluciones se tomó una alícuota de 125  $\mu$ L y se siguió la técnica de fenoles totales. La ecuación obtenida fue la aplicada en la determinación de fenoles totales. La concentración final se expresó como mg equivalentes de ácido gálico/100g de muestra (mg EAG/100g).

#### 4.3.4.2 Taninos condensados

Se cuantifican los taninos condensados expresados como mg equivalentes de (+)-catequina/g de muestra (mg eq (+) C/g muestra), de acuerdo al ensayo de la vainillina de (Deshpande y Cheryan, 1985). El ensayo se basa en la condensación de la vainillina con proantocianinas en soluciones ácidas, la vainillina protonada es un radical electrofílico débil que reacciona con el anillo flavonoide en la posición 6 ó 8. El producto intermediario de esta reacción se deshidrató rápidamente para dar un producto coloreado. La reacción que se verifica entre la vainillina y los flavonoides como (+) catequina.

Se pesó 2 g de muestra y se adicionó 10 mL de metanol, se agitó en vortex durante 20 min a 8000 rpm, se centrifugó a 5000 rpm por 5 min. Se tomó una alícuota de 1 mL de esta solución y se le adicionó 5 mL de reactivo de vainillina recién preparado (vainillina 1 % en metanol y HCl 8 % en metanol en proporción 1:1). Se preparó un blanco de corrección con 1 mL de solución y 5 mL de HCl al 4% en metanol. La reacción se llevó a cabo a una temperatura de 30 °C durante 25 min, después de este periodo se lee la absorbancia a 500 nm. La concentración de taninos condensados se calcula en base a una curva de calibración de (+)-catequina.

#### 4.3.4.3 Compuestos fenólicos simples por HPLC

El análisis de compuestos fenólicos por HPLC se hizo en base a la metodología desarrollada por (Garcia-Falcon y col., 2007) con algunas modificaciones. Se pesaron 100 mg de muestra liofilizada y molida, que fueron colocados en un tubo falcón al que se le adicionó 10 mL de metanol al 30 %, la mezcla se agitó por 10 min en vortex, 10 min en sonicador y nuevamente 10 min en vortex. Posteriormente se centrifugó 5 min a 5000 rpm. El sobrenadante fue recuperado, se tomó una alícuota que se filtró a través de una membrana de 0.45 µm, el filtrado se colocó en el vial y se inyectó inmediatamente al HPLC.

El análisis de HPLC de los compuestos fenólicos se efectuó con una separación en fase reversa con una columna Zorbax (ODS) – C18 (5 mm tamaño de partícula, 15 cm x 4.6 mm i.d). La fase móvil corrió a 1.0 mL/min y consistió en solvente A (1% de ácido fórmico en agua) y solvente B (1% ácido fórmico en metanol). Durante el análisis, el gradiente del solvente se programó de 10 a 100

% de B en A en 30 min y el volumen de inyección fue de 20  $\mu$ L. La temperatura de la columna se mantuvo aproximadamente a 25 °C. Se realizó un barrido del espectro de absorción de 200-500 nm.

La detección de los ácidos fenólicos se realizó a 280 y 320 nm, mientras que para las catequina y flavonoles a 280 y 360 nm, respectivamente. Todos los solventes utilizados se filtraron a través de membranas de 0.45  $\mu$ m. La identificación de ácidos fenólicos se realizó mediante comparación con el tiempo de retención y espectros de absorción de estándares de compuestos fenólicos comerciales; La concentración de los compuestos fenólicos se determinó mediante la realización de las correspondientes curvas para cada compuesto y los resultados se expresaron en mg/100g de muestra.

#### 4.3.4.4 Capacidad antioxidante *in vitro* por el método TEAC y ORAC

El ensayo de la capacidad antioxidante expresada como equivalentes de Trolox fue desarrollado inicialmente por Miller y col., (1993) y posteriormente mejorado por Van Den Berg y Col., (1999). Éste, está basado en atrapar aniones de larga vida como el 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato-HCl (ABTS). En este análisis el ABTS es oxidado por el oxidante (metamioglobina y por el peróxido de hidrogeno, dióxido de manganeso, persulfato de potasio, además de reacciones enzimáticas). La reacción presentó una coloración intensa y pudo detectarse espectrofotométricamente a 734 nm. La actividad antioxidante fue medida por la habilidad que tiene la muestra de disminuir el color, reaccionando directamente con el radical ABTS (Prior y col., 2005).

El radical ABTS se obtuvo disolviendo 0.0038 g de ABTS (7 mM) en 1 mL de persulfato de potasio 2.45 mM. La solución concentrada de ABTS se diluyó con buffer de fosfato salino (4 g de NaCl, 0.2 g de KCl, 1.44 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> y 0.24 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> disueltos en un 1 L de agua y se ajustó el pH a 7.4), 0.2 mL en 14 mL de buffer aproximadamente, se obtuvo una absorbancia final en la dilución de  $0.7 \pm 0.2$  a una longitud de onda de 734 nm. En un tubo eppendorf se colocó 0.99 mL de buffer diluido y se midió la absorbancia nuevamente (Abs al t=0min) e inmediatamente se adicionó 0.01 mL de muestra al tubo, se agitó y transcurridos 6 min se midió nuevamente la absorbancia (Abs al t=6min). En este

caso el blanco consistió en el solvente de extracción de la muestra y para el caso de la curva Trolox metanol.

Para cuantificar la actividad antioxidante se realizó una curva estándar de Trolox y se utilizó la absorbancia neta (AN) que se expresó como  $\mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox por gramo de muestra ( $\mu\text{mol ET / g}$ ). Se calculó de la siguiente manera:  $AN = (A_{t=0 \text{ muestra}} - A_{t=6 \text{ muestra}}) - (A_{t=0 \text{ solvente}} - A_{t=6 \text{ solvente}})$ , donde A= Absorbancia

El método de ORAC fue descrito por Ou y col., (2002). Se preparó una solución amortiguadora de fosfatos, que se utilizó para preparar todos los reactivos y las diluciones necesarias (se mezcló 71 mL de Fosfato de sodio monobásico 0.2 M y 304 mL de fosfato de sodio dibásico 0.2 M se llevó a 900 mL con agua destilada y se ajustó el pH a 7.4, se cuidó de no rebasar el volumen de 1L; se almacenó en botella ámbar a 4°C). Se preparó una solución madre de fluoresceína 0.5315 mM (5 mg en 25 mL). De esta solución, se preparó la solución de trabajo  $8.185 \times 10^{-5}$  mM (7.7  $\mu\text{L}$  de solución madre aforado a 50mL).

Se tomaron 1.5 mL de la solución de trabajo de la fluoresceína y se colocaron en una celda espectrofotométrica. En la misma celda se agregó 0.75 mL de muestra (diluída en solución amortiguadora con el objetivo de que el poder antioxidante decaiga en un lapso de tiempo menor que el estándar de Trolox 40  $\mu\text{M}$  y mayor que la de 10  $\mu\text{M}$ ) y se colocó a baño maría a 37 °C por cinco minutos. Después de éste tiempo se agregó 0.75 mL de solución AAPH [2,2'-azobis (2-amidinopropano)-HCl] (0.415 g aforado a 10 mL), agitando con la misma pipeta. Inmediatamente se tomó la primera lectura en el fluorómetro ( $\lambda_{\text{excitación}}=493$   $\lambda_{\text{emisión}}=515$ ) y se regresó al baño maría. Se continuó leyendo la celda cada minuto hasta que el valor de la intensidad correspondió un 10 % del valor inicial. En este procedimiento se corrió un blanco junto con la muestra. Los valores se reportaron como  $\mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox por gramo de muestra ( $\mu\text{mol ET/g}$ ) mediante una curva estándar usando el área neta bajo la curva (ANBC) de cuatro concentraciones de Trolox.

Para el cálculo del valor ORAC se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$ANBC = (ABC_{\text{muestra}} - ABC_{\text{blanco}})$$

$$ABC = \text{área bajo la curva} = 0.5 + f_1/f_0 + f_2/f_0 + \dots + f_i/f_0$$



Dónde:

$f_0$ : la fluoresceína inicial leída al min 0

$f_i$ : la fluoresceína leída al tiempo  $i$ .

NOTA: La solución amortiguadora de fosfatos y la solución madre de fluoresceína debe de prepararse al instante protegiéndola de la luz y sólo puede utilizarse el día que se prepara. Con la solución AAPH se tienen los mismos cuidados que para la solución patrón de fluoresceína, pero adicionalmente se debe mantener en baño de hielo.

### 4.3.5 Evaluación toxicológica en pollos

#### 4.3.5.1 Preparación de la dieta de HHMO al 10%

Se colocó en una báscula un recipiente (cubeta, bote) y se taró, se pesaron 9.0 Kg de alimento comercial (que es elaborado en la Fábrica de Alimentos de la Posta Zootécnica, de la Universidad Autónoma de Aguascalientes) y 1 Kg de HHMO. Se pasó ese alimento ya pesado a la Pantalонера (mezcladora) y se dieron 60 giros mínimos para su buena homogenización. Se sacó el alimento y se almacenó en tolvas/silos/botes completamente cerrados y posteriormente se despachó de éste, la alimentación exclusiva del segundo tratamiento (T2).

#### 4.3.5.2 Manejo de la alimentación de los pollos

Se administró el agua y alimento *at libitum*, se manejaron dos fases de alimentación: iniciador del día 1 al 28 de edad y finalizador de 28 a 42 días, las dietas fueron isoproteicas e isoenergéticas (Cuadro 3).

**Cuadro 3. Características nutricionales del alimento comercial**

Tipo de alimento/etapa	P.C (%)	E.M (Kcal / Kg)
INICIADOR 0 a 28 días	22.0	3,200

FINALIZADOR 28 a 42 días	18.0	3,200
-----------------------------	------	-------

PC= proteína cruda, EM= energía metabolizable. (NRC, 1994)

#### 4.3.5.4 Manejo zootécnico

##### 4.3.5.4.1. Limpieza y desinfección de la caseta

Se hizo limpieza y desinfección de la caseta y todos los materiales utilizados en la unidad de pollos de engorda. Al terminar la limpieza de la caseta se comenzó con el programa de control de fauna nociva. Se desinfectó y encaló en 3 ocasiones, contemplando que la última desinfección fue un día antes de la recepción.

##### 4.3.5.4.2 Limpieza y desinfección del equipo.

*Lavado de comederos, bebederos.* Después de sacar los comederos y bebederos de la caseta, se desarmaron. Se clasificó y se juntaron por partes específicas. En orden, se metieron a remojar en agua con jabón común. Con fibra se tallaron minuciosamente todos los espacios de las partes de los comederos y bebederos. Después, se pasaron a enjuagar con agua limpia y corriente.

*Limpieza de Tolvas/silos, básculas y criadoras.* A los silos o tolvas de alimento, se les retiró el alimento y se lavaron con agua y jabón. La criadora y básculas que se utilizaron dentro de la caseta, solo se limpiaron en seco, quitándoles toda la materia orgánica presente, mediante cepillado.

*Desinfección de comederos y bebederos.* Una vez limpias las partes de los comederos y bebederos pasaron a una tina con desinfectante (yodo). Se dejaron desinfectando entre 10 y 15 minutos. Se pusieron a secar al medio ambiente para su posterior armado y finalmente fueron montados dentro de la caseta, en su lugar correspondiente.

*Desinfección de Criadoras, básculas y silos/tolvas de alimento.* Se desinfectó con ácido crecílico, mediante una bomba de aspersión a presión, se asperjó 400.0 L del preparado por cada 50.0 m<sup>2</sup>. La aplicación del desinfectante fue

conjuntamente con la desinfección de la caseta. En el caso de las Tolvas y criadora, se comenzó de la parte superior a la inferior y de atrás hacia adelante.

#### 4.3.5.4.3 Acondicionamiento de la caseta para la recepción del pollo (1 día de edad).

Se colocó los bebederos y comederos de iniciación uniformemente dispersos. Un día antes de la recepción de los pollitos, se llenó de agua natural y limpia los bebedero vitroleros. Se prendió la criadora 6 horas antes de la recepción. Se reguló la temperatura ambiente dentro de caseta a 30-32 °C, se ubicó el termómetro (de mercurio) de máximas y mínimas a una altura de 5 cm por encima del piso de la criadora. Se redujo la temperatura de 2.8 a 3.9 °C por semana hasta llegar a 24 °C como mínimo. Se hicieron 5 cambios de aire cada hora, durante toda la engorda.

#### 4.3.5.4.4 Vacunación

Los pollos fueron vacunados el día 7 y 28 contra Newcastle (cepa La Sota), se les aplicó 0.5 mL en la parte media posterior del cuello, se extrajo la vacuna de refrigeración 1 o 2 horas antes de vacunar, para hacer más fluida su vacunación, como lo indica (Laboratorios AVILAB) y así como también se aplicó la vacuna contra Gumboro (cepa Lukert) en el día 12, se administró 1 gota por ave, equivalente 0.03 mL, vía ocular, como lo indica (Prontuario de Especialidades veterinarias).

#### 4.3.5.4.5 Toma de muestra sanguínea

La toma de muestra sanguínea se realizó los días 1, 15, 30 y 45 del tiempo del experimento de la engorda, se muestreó así, un pollo de cada repetición de su respectivo tratamiento, dando un total de 27 muestras sanguíneas por día (muestreado), de las siguientes maneras:

##### 4.3.5.4.5.1 El método por medio del ala

La vena branquial del ala se aceptó para extraer la muestra de sangre de las aves de más de cuatro semanas de edad. En las aves más jóvenes las venas son demasiado pequeñas para una extracción de sangre eficiente. El punto de penetración de la aguja fue en medio entre el codo y las coyunturas del hombro.

La aguja se alineó con la vena branquial y con cuidado de introdujo la aguja primero dentro de la piel y luego en la vena. La punta de la aguja apuntó hacia la punta del ala para tomar ventaja del hecho que la sangre corre de regreso hacia el corazón. El ángulo de la aguja apuntó hacia arriba. La sangre fue extraída lentamente hacia la jeringa; tal y como lo reporta Zapata y Fajardo (2015).

#### 4.3.5.4.5.2 Método de Punción Cardíaca

Se prefirió el método de la punción cardíaca para obtener un gran volumen de muestras de sangre (4 a 10 mL). Este método se aceptó para aves jóvenes. Esta técnica se realizó por una sola persona en la que se sostuvo el ave por las dos patas con una mano, mientras operó la jeringa con la otra mano. La posición del ave fue recostada con la cabeza extendida sobre la orilla de la mesa. Se usó el dedo índice como guía, la aguja se introdujo en la cavidad torácica en el punto más alto de la V invertida que se forma por la pechuga. La aguja se mantuvo en el mismo plano que el esternón y con un ángulo hacia atrás de la cola. Se introdujo la aguja completa antes de llegar al corazón. Mientras se introdujo la aguja se aplicó una presión negativa ligera. Cuando la aguja entró en el corazón, la sangre corrió fácilmente hacia la jeringa; tal y como lo reporta Zapata y Fajardo (2015).

#### 4.3.5.4.5.3 Manipulación de la muestra de sangre

La aguja se removió de la jeringa antes de que la sangre fuera vertida en el tubo de coagulación. Para limitar el daño de los glóbulos rojos de la sangre, se inyectó la muestra de sangre lentamente en el tubo para que corriera hacia abajo por la pared del tubo. La sangre se puso en el tubo de coagulación antes de que empiece la coagulación. No se tocaron los tubos mientras que el proceso de coagulación ocurrió. Los tubos se mantuvieron en una posición casi plana (horizontal) para maximizar la superficie del área del coágulo mientras que éste se formaba. Las muestras de sangre no fueron expuestas a la luz directa del sol; tal y como lo reporta Zapata y Fajardo (2015).

#### 4.3.5.5 Cuantificación de Proteínas Totales (PT), Albúmina (ALB), Alanina Amino Transferasa (ALT), Aspartato Amino Transferasa (AST), Gamma Glutamil Transpeptidasa (GGT) y Fosfatasa Alcalina (ALP) en suero sanguíneo

Las determinaciones bioquímicas de proteínas totales, albúmina y actividad enzimática de ALT (alanina amino transferasa) y AST (aspartato amino transferasa), GGT (gamma glutamil transpeptidasa), y Fosfatasa Alcalina (ALP) en suero sanguíneo se realizaron por un método descrito por (Burtis, 1999). Se colectó una muestra sanguínea mediante la punción de vena yugular, vena del ala o punción intracardiaca con jeringa, agregando a tubos estériles de tapón rojo, y se conservó en refrigeración para su posterior análisis en laboratorio. Las muestras fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 5 min, para obtener el suero sanguíneo, para la determinación de proteína total, albúmina, AST, ALT, GGT y ALP, en el equipo Marca Bayer modelo Analyzer Chemistry RA-50 hecho en Alemania.

##### 4.3.5.5.1 Proteínas Totales (PT)

Se basó en el principio del método de Burtis (1999) que señala, en medio alcalino, las proteínas dan un intenso color violeta azulado en presencia de sales de cobre; contiene yoduro como antioxidante. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de proteína total en la muestra ensayada. Para lo cual se utiliza un kit comercial para proteínas totales (PROTEIN TOTAL marca Spinreact. Ref.: 1001290; R: 2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL) y siguiendo las indicaciones del inserto del proveedor. Se analizó con un método espectrofotométrico con un espectrofotómetro marca Bayer (modelo Analyzer Chemistry RA-50 hecho en Alemania) con una longitud de onda de 540 nm, los valores registrados se expresan en g/dL

##### 4.3.5.5.2 Albúmina (ALB)

Se basó en el principio del método de que la albúmina se combina con el verde de bromocresol a pH ligeramente ácido, produciéndose un cambio de color del indicador, de amarillo verdoso a verde azulado proporcional a la concentración de albúmina presente en la muestra ensayada (Gendler, S. y Kaplan, A. 1984). Se utilizó un Kit comercial para Albúmina (ALBUMIN marca Spinreact. Ref.:

1001020; R: 2 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL), y siguiendo las indicaciones del inserto del proveedor. Se analizó con un método espectrofotométrico con un espectrofotómetro marca Bayer (modelo Analyzer Chemistry RA-50 hecho en Alemania) con una longitud de onda de 630 nm, los valores registrados se expresan en g/dL.

#### 4.3.5.5.3 Determinación cuantitativa de ALT

Se basa en el principio del método que señala que la Alanino Aminotransferasa (ALT), inicialmente llamada transaminasa glutámico pirúvica (GPT) que cataliza la transferencia reversible de un grupo amino de la alanino al  $\alpha$ -cetoglutarato con formación de glutamato y piruvato. El piruvato producido es reducido a lactato en presencia de LDH y NADH, la velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de ALT en la muestra ensayada (Kaplan y Glucose, 1984). Se utilizó un kit comercial para la determinación de Alanina a Amino Transferasa (ALT/GPT marca Spinreact; Ref.: 1001171; 10 x 15 mL; disolver una tableta de R2 sustrato en 15 mL de R1) y siguiendo las indicaciones del inserto del proveedor se analizó por el método espectrofotométrico con un espectrofotómetro marca Bayer (modelo Analyzer Chemistry RA-50 hecho en Alemania) con una longitud de onda de 340 nm, los valores registrados son expresados en U/L.

#### 4.3.5.5.4 Determinación cuantitativa de AST

Se basa en el principio del método de que la Aspartato Aminotransferasa (AST) inicialmente llamada transaminasa glutamato oxaloacética (GOT) que cataliza la transferencia reversible de un grupo amino del aspartato al cetoglutarato con formación de glutamato y oxaloacetato. El oxaloacetato producido es reducido a malato en presencia de malato deshidrogenasa (MDH) y NADH. La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinada fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de AST en la muestra ensayada (Kaplan y Glucose, 1984). Se utilizó un kit comercial para la determinación de Aspartato Amino Transferasa (AST/GOT marca Spinreact; Ref.: 1001161; 10 x 15 mL; disolver una tableta de R2 sustrato en 15 mL de R1) y siguiendo las indicaciones del inserto del proveedor. Las muestras se analizaron por el método espectrofotométrico con un espectrofotómetro marca

Bayer (modelo Analyzer Chemistry RA-50 hecho en Alemania) con una longitud de onda de 340 nm, los valores registrados fueron expresados en U/L.

#### 4.3.5.5.5 Determinación cuantitativa de GGT

Se basa en el principio del método que señala que la  $\gamma$ -Glutamil Transferasa ( $\gamma$ -GT) cataliza la transferencia de un grupo  $\gamma$ -glutamilo de la  $\gamma$ -glutamil-p-nitroanillida al dipéptido aceptor glicilglicina, la velocidad de formación del ácido 5-amino-2-nitrobenzoico, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de  $\gamma$ -glutamil transferasa ( $\gamma$ -GT) en la muestra ensayada (Gendler, 1984). Se utilizó un kit comercial para la determinación de Gamma Glutamil Transferasa (GLUTAMIL TRANSFERASE GGT marca Spinreact; presentación cinética: Ref.: 1001186, 10 x 15 mL, disolver una tableta de R2 sustrato en 15 mL de R1; presentación líquida: Ref.: 41292, R1: 1 x 240 mL, R2: 1 x 60 mL) y siguiendo las indicaciones del inserto del proveedor. Se analizaron por el método espectrofotométrico con un espectrofotómetro marca Bayer (modelo Analyzer Chemistry RA-50 hecho en Alemania) con una longitud de onda de 405 nm, los valores registrados son expresados en U/L.

#### 4.3.5.5.6 Determinación cuantitativa de ALP

Se basa en el principio del método que señala que la Fosfatasa Alcalina (ALP) cataliza la hidrólisis del p-nitrofenilfosfato a pH alcalino liberando p-nitrofenol y fosfato. La velocidad de formación del p-Nitrofenol, determinada fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de fosfatasa alcalina de la muestra ensayada, por el método descrito por (Klin, 1970). Se utiliza un kit comercial para la determinación de Fosfatasa Alcalina (ALP 450 marca Spinreact; presentación cinética: Ref.: 1361401, 50 x 2.5 mL, disolver una tableta de R2 sustrato en 15 mL de R1; presentación líquida: Ref.: 41292, R1: 1 x 240 mL, R2: 1 x 60 mL) y siguiendo las indicaciones del inserto del proveedor. Se analizó por el método espectrofotométrico con un espectrofotómetro marca Bayer (modelo Analyzer Chemistry RA-50 hecho en Alemania) con una longitud de onda de 405 nm, los valores registrados son expresados en U/L.

### 4.3.6 Parámetros Productivos

Los Parámetros productivos evaluados según Quintana (2003), es registrando semanalmente los pesos promedio de las aves (PP), el índice de conversión alimenticia (ICA), la ganancia diaria de peso (GDP) y el índice de productividad (IP).

#### 4.3.6.1 Peso promedio

Se obtuvo dividiendo el peso total de los animales expresados en Kg, entre el número de las aves pesadas.

#### 4.3.6.2 Índice de Conversión Alimenticia

El ICA se obtuvo mediante la siguiente relación:

$$\frac{\text{Consumo Alimento}}{\text{Ganancia de Peso}}$$

#### 4.3.6.3 Ganancia Diaria de Peso

La GDP (g/día), se calculó restando el peso final del peso inicial y dividido entre el número de días.

#### 4.3.6.4 Índice de Productividad

Para el cálculo de IP se aplicó la siguiente fórmula:

$$IP = GDP * viab / IC * 10 \text{ donde:}$$

GDP= a la ganancia diaria de peso expresado en g/día

Viab= se le resta a las aves iniciadas la mortalidad y lo que resta es la viabilidad.

ICA= es la cantidad de alimento consumido entre la cantidad de carne producido.

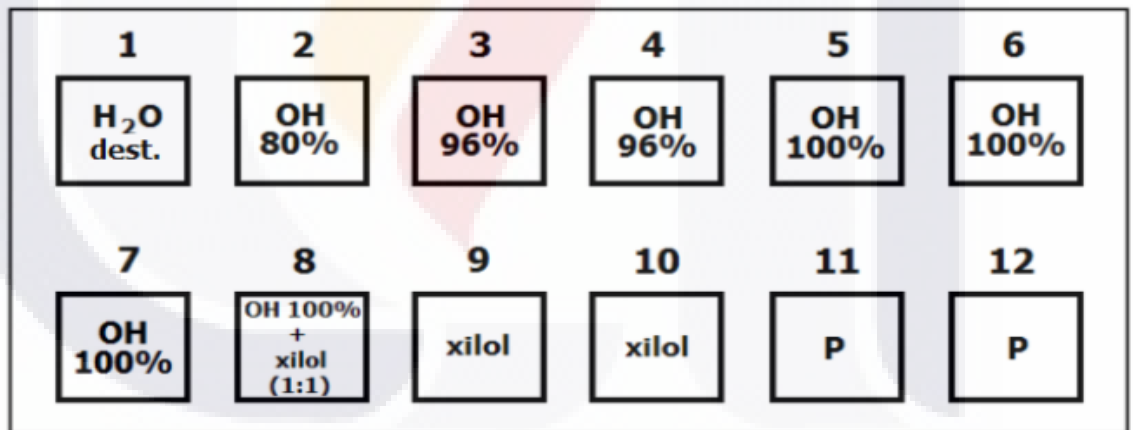
10= factor



### 4.3.7 Estudios Histopatológicos

La evaluación histopatológica de tejidos hepáticos y renales se realizó por el método descrito por (McElroy y col., 1994). Los animales fueron sacrificados mediante dislocación cervical. El hígado y los riñones se extrajeron para la evaluación histopatológica, se tomó muestras de un lóbulo hepático (siempre fue del mismo lóbulo, en cada pollo) y uno de los riñones, se conservaron ambos en una solución fijadora (100 mL de formaldehído al 37%, 900 mL de agua destilada, 4.0 g/L de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 6.5 g/L de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7.4) hasta su análisis histopatológico.

Se toman muestras de hígado y riñón de 1 cm<sup>3</sup>, previamente fijadas en formalina, se lavaron (agua destilada), deshidrataron (alcohol al 80, 96 y 100%), aclararon (xilol) y se infiltraron con parafina líquida, todo lo anterior en un procesador automático de tejidos (Histoquinet, Leica TP 1020). Se utilizaron un total de 12 soluciones en las que las muestras permanecieron una hora en cada una de ellas (Figura 3).



**Figura 3.** Soluciones utilizadas en el procesador automático de tejidos. H<sub>2</sub>O dest.: agua destilada, OH: alcohol, P: parafina líquida, punto de fusión de 56 °C.

Terminado el proceso anterior, se elaboraron los bloques de parafina con las muestras incluidas en ellos de manera individual, para lo cual se utilizó un centro embebido de parafina y un enfriador. A partir de los bloques de parafina se realizan los cortes histológicos de 5.0 µm de grosor usando un micrótopo de rotación, los cortes fueron extendidos en un baño de agua caliente (50 ± 5 °C), se extrajeron del baño con portaobjetos y se dejaron secar en la estufa por 24 h a una temperatura de 60 °C. Una vez secos estos se teñieron con

hematoxilina/eosina (HE) en un teñidor semiautomático, en donde se utilizaron 27 soluciones en donde los cortes permanecieron un minuto en cada una de ellas (Figura 4).

Terminada la tinción se procedió a revisar cada una de ellas en un microscopio compuesto con objetivos de 10x y 40 x.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
xilol	xilol	xilol	xilol	OH 100%	OH 100%	OH 96%	OH 96%	OH 80%
10	11	12	13	14	15	16	17	18
H <sub>2</sub> O	H	H	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	Li <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> O	OH 96%	E
19	20	21	22	23	24	25	26	27
E	OH 96%	OH 96%	OH 100%	OH 100%	OH 100%	xilol	xilol	xilol

**Figura 4.** Soluciones utilizadas en la tinción de cortes para histología OH: alcohol, H<sub>2</sub>O: agua, H: hematoxilina, Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: Solución saturada de carbonato de litio, E: eosina.

### 4.3.8 Diseño de la investigación y análisis estadístico

#### 4.3.8.1 Diseño de la investigación

Se utilizaron 180 pollos mixtos de engorda, raza ROSS-308 de un día de edad, con un peso aproximado de 38.0 ± 3 g, se distribuyeron 90 pollos de manera aleatoria en dos tratamientos; T<sub>1</sub> control y T<sub>2</sub> HHMO adicionada al 10 % a dieta comercial, con tres repeticiones de 30 pollos cada una (cuadro 4). Se colocaron en jaulas tipo “criadoras” de 5 niveles (altura 1.75m, fondo 0.85 m y frente 0.75 m); se pesó el alimento diariamente, se proporcionó *ad libitum* y cada ocho días se retiró el sobrante para obtener el alimento consumido por semana. El agua de bebida se dio *ad libitum* y se proporcionó en bebederos (vitroleros) la primera semana y a partir de la segunda semana se les dio en bebederos automáticos. Se llevó un pesaje de los pollos de manera individual los días 0, 7, 14, 21, 28, 35, y 42 para obtener el peso promedio por semana.

**Cuadro 4. Diseño de distribución de Tratamientos en el experimento.**

TRATAMIENTO	Repetición (1)	Repetición (2)	Repetición (3)	TOTAL
T <sub>1</sub>	30	30	30	90
T <sub>2</sub>	30	30	30	90
	60	60	60	180

Tratamiento 1: Dieta alimento comercial (100 %).

Tratamiento 2: Alimento comercial con HHMO (10 %).

Los pollos fueron vacunados contra Newcastle los días 7 y 28, y contra Gumboro a los 12 días. Se realizaron tomas de muestras sanguínea a los días 0, 14, 30 y 42, por el método de punción cardiaca. Las muestras fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 5 min, para obtener el suero sanguíneo, para la determinación de manera inmediata, de proteína total, albúmina y actividades enzimáticas de la AST, ALT, GGT y ALP, por el método de (Gornall y col., 1949). Un pollo de cada tratamiento y repetición, fueron sacrificados por dislocación cervical y se les llevó a cabo una necropsia en los mismos días (0, 14, 30 y 42). Se realizaron tomas de muestra de los órganos (hígado y riñón), los días 0, 14, 30 y 42, se conservaron y enviaron al laboratorio de Patología Clínica del Departamento de Clínica Veterinaria del Centro de ciencias Agropecuarias para su posterior estudio histopatológico por el método de (McElroy y col., 1994).

Se registraron y determinaron los parámetros productivos como PP, ICA, GDP e IP durante la duración del estudio cada ocho días según Quintana, (2003).

#### 4.3.8.2 Análisis Estadístico

Bajo un modelo de diseño completamente al azar los datos del experimento en pollos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA) y prueba protegida de Fisher con mediciones repetidas, con una  $P < 0.05$ , en un paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS, 1999).

## 5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Análisis químico proximal

El análisis químico proximal (cuadro 5) muestra las características nutritivas de la moringa cosechada en el Estado de Guanajuato en donde se refleja un porcentaje de Proteína cruda de  $33.40 \pm 0.72$  (% MS), estos resultados superan a los reportados por Makkar y Becker (1997), Kakengi y col., (2007); Atawodi y col., (2008), y Yameogo y col., (2011), que han reportado de 20.0 a 29.0 % de proteína; de igual manera, Guzmán-Maldonado y col., (2015) reporta una PC (MS) en las hojas de  $21.1 \pm 1.22$  hasta  $29.3 \pm 0.13$  %, (según la cosecha), más sin embargo, estos resultados están por debajo de Ramachandran y col., (1980) y Fuglie (1999a,b) ya que aseguran que la HHMO contiene 42.0 % de este mismo elemento.

Respecto al valor obtenido en la Fibra Cruda ( $8.77 \pm 0.70$  %), se podría comentar que está este valor en similitud con el de Melesse y col., (2012) ya que reporta  $9 \pm 1$  % de fibra cruda (MS), sin embargo, nuestro valor en este componente está por debajo del reportado por Guzmán-Maldonado y col., (2015) como fibra dietaria (MS) en las hojas de moringa de  $23.9 \pm 0.35$  hasta  $30.6 \pm 0.71$  % según la altura del árbol.

La Grasa Cruda obtenida en este proyecto fue de  $8.10 \pm 0.41$  (% MS), más sin embargo, este valor está por debajo del reportado por Makkar y Becker (1997), Kakengi y col., (2007); Atawodi y col., (2008), y Yameogo y col., (2011), que han reportado 17.1 %.

El contenido de cenizas en la HHMO se mostró en  $12.28 \pm 0.46$  (% MS), y es un valor que está por encima de lo reportado por Abbas (2013) en 8.87 %, más sin embargo está por debajo Sanchez-Machado y col., (2010) que reporta  $14.60 \pm 0.9$  % de la misma.

Los carbohidratos es cien menos la sumatoria de los porcentajes de los elementos anteriormente mencionados, también por eso se le conoce como extracto libre de nitrógeno (ELN) y de este elemento se reporta  $37.45 \pm 0.52$  %

(MS) en la hoja de moringa, es un dato que comparte similitud en valor con el reportado por Makkar y Becker (1997), Kakengi y col., (2007); Atawodi y col., (2008), y Yameogo y col., (2011), que han reportado que, las hojas de moringa contienen 38.6 % de carbohidratos, y de la misma manera estamos en comparación con el estudio de Guzmán-Maldonado y col., (2015) que reporta 27.7 a 40.2 %, de estos compuestos en la hoja.

Por lo que anteriormente se comentó, estos resultados bromatológicos de la moringa, nos reflejan valores sobresalientes de proteína y cenizas principalmente, mientras que en la grasa cruda estamos por menos de la mitad de valores ya publicados.

**Cuadro 5. Análisis proximal (% MS) de hoja de moringa**

<b>Proteína cruda</b>	<b>Fibra cruda</b>	<b>Grasa cruda</b>	<b>Ceniza</b>	<b>ELN</b>
33.40 ± 0.72	8.77 ± 0.70	8.10 ± 0.41	12.28 ± 0.46	37.45 ± 0.52

### **5.2 Determinación de minerales (Calcio y Hierro) y vitamina C**

Definitivamente, en este estudio, el contenido de calcio ( $2593.25 \pm 121$  mg/100 g, MS) (cuadro 6), se hacen notar en los componentes de la hoja de moringa; tómese en cuenta que en el estudio de Radek y Savage (2008) comentan que, la moringa cuenta niveles sumamente altos de calcio (>20 mg/g de hoja seca) y que casi el 38.0 % está en forma de oxalato y según Radek y Savage (2008) mostraron que las hojas de la planta contienen únicamente los oxalatos no solubles que se excretan en las heces, por lo que la moringa no parece ser una planta que contribuya a la formación de cálculos renales, aun si se consume en altas cantidades. El Manual de Ross, (2009) maneja un porcentaje de calcio en la dieta del pollo de engorda de 1.05 % para iniciación, 0.90 % para desarrollo y 0.85 % para finalización, asimismo Guzmán-Maldonado y col., (2015) reporta  $1384 \pm 27$  a  $4630 \pm 63$  mg / 100 g (MS) de calcio, más sin embargo, también compartimos similitud de resultados con Oduro y col., (2008) ya que reporta por cada 100 g de hoja  $2009.79 \pm 0.02$  mg de calcio, pero el valor de este compuesto es mucho mayor al reportado por Nielsen, (2003) que reporta 185.0 mg de calcio por cada 100 g.

Por otra parte, en la evaluación del hierro, se obtuvo como resultado  $19.7 \pm 1.07$  (mg/100 g, MS) (cuadro 6) lo que nos pone en similitud con lo reportado por Guzmán-Maldonado y col., (2015) de  $12.46 \pm 0.06$  a  $32.1 \pm 1.3$  (mg / 100 g MS) de este segundo compuesto. Por otra parte, Oduro y col., (2008) reporta que por cada 100 g de hoja contiene  $28.29 \pm 0.047$  mg de hierro; Sin embargo, Nielsen, (2003) reporta 4.0 mg de hierro por cada 100 g de hoja.

**Cuadro 6. Contenido de hierro y calcio (mg/100 g, MS) de hoja de moringa.**

Hierro	Calcio
$19.7 \pm 1.07$	$2593.25 \pm 121$

Respecto a la vitamina C, se obtuvieron dos resultados, el primero de  $16.31 \pm 0.25$  mg/100 g, MS de ácido ascórbico y el segundo de  $47.18 \pm 1.6$  mg/100 g, MS de ácido dehidro-ascórbico (cuadro 7), que hace que estos valores sean mayores al estudio de las variedades de Pitaya (*Stenocereus stellatus* Riccobono) donde reportan (Beltran y col., 2009) una concentración promedio de sus variedades (Pitaya blanca, roja, cereza y amarilla) de ácido ascórbico de 13 mg/100 g, de igual manera que el plátano (*Musa paradisiaca L*) con 13 mg/100 g, sin embargo el chayote (*Sechium edule L*) y cebolla blanca (*Allium cepa L*) se reportan ambas con 12 mg/100 g por (Muñoz de Chávez y col., 2002), quienes también mencionan que la ingesta diaria de vitamina C en el humano es de 60 mg/día. Mientras que (Guzmán-Maldonado y col., 2015) reporta 11.1 a 64.5 mg / 100 g (MS) de vitamina C. Asimismo, se ha reportado por Kucuk y col., (2003) que, la adición de 250 mg / Kg de vitamina C en la dieta de gallinas mejora el rendimiento y el índice de conversión alimenticia, más sin embargo, otro estudio realizado por Gonzalez Vega y col., (1995), demuestra que, en el pollo de engorda no mejora los parámetros productivos (consumo de alimento, índice de conversión alimenticia y mortalidad) la combinación de vitamina C (200 ppm) con E (74,000 UI/tonelada), pero sí, aumenta la respuesta inmune primaria y secundaria en pollos de hasta 56 días de edad ante los antígenos de virus vivo, virus muerto de new castle, y ante glóbulos rojos de borrego.

Se puede comentar que la moringa analizada del Estado de Gto, supera los valores ante otros autores, respecto al hierro, calcio y en algunos alimento, la

vitamina C, e inclusive en los estudios anteriores con aves se han utilizado a concentración de 25 y 20 mg / 100 g, mientras que en este estudio la HHMO aportó a la dieta de los pollos más menos 63 mg / 100 g de vitamina C total.

**Cuadro 7. Contenido de ácido ascórbico y dehidro-ascórbico (mg/100 g, MS) de hoja de moringa.**

<b>Ácido ascórbico</b>	<b>Acido dehidro ascórbico</b>
16.31 ± 0.25	47.18 ± 1.6

### 5.3 Análisis nutracéuticos

#### 5.3.1 Contenido de fenoles totales

En este estudio, con respecto al contenido de fenoles totales de la colecta de hojas de moringa en el Estado de Guanajuato fue de 3745.17 ± 130 mg EAG/100 g MS (Cuadro 8), así podemos decir que la moringa tiene capacidad nutracéutica o de otra manera dicha, características funcionales, ya que estos datos están por encima del dato más reciente de Charoensin, (2014) quien evaluó la capacidad antioxidante de la hoja seca de moringa, mediante dos extractos (con metanol y diclorometano), entre otros aspectos avaluó fenoles, obteniendo como resultados 216.45 ± 4.64 mg EAG/g y 100.12 ± 3.70 mg EAG/g para cada extracto de hoja de moringa; por otra parte, la pitaya roja se reporta con 1384 mg EAG/100 g y la blanca con 2395 mg EAG/100 g en el estudio de Beltran y col., (2009), mientras que la manzana (*Malus pumila*) se reporta con 1300-1310 mg EAG/100 g, la fresa (*Fragaria ananassa*) con 1600-1800 mg EAG/100 g, el arándano rojo (*vaccinium oxycoccus*) con 2200 mg EAG/100 g, la frambuesa (*Rubus idaeus*) con 2700-2900 mg EAG/100 g y el arándano azul (*Vaccinium myrtillus*) 3003-3800 mg EAG/100 g (Kähkönen y col., 2001); a parte del arándano azul, también se coincide con el reporte de Guzmán-Maldonado y col., (2015) (2.9 a 4.7 g EAG / 100 g).

#### 5.3.2 Contenido de taninos condensados

En los resultados encontrados de las hojas de moringa en este estudio, respecto a la concentración de taninos condensados fue de  $24.39 \pm 0.92$  mg EC/100 g MS (Cuadro 8), es una cantidad relativamente baja de taninos condensados, ya que es solo una de las siete clases de los flavonoides (chalconas, flavonas, flavonoles, flavandioles, antocianinas, auronas y taninos condensados) y cabe mencionar que tienen también el potencial de producir rechazo al gusto (“antifeedants”) y de disminuir la absorción en los rumiantes (“antinutrients”) pero, sin embargo, para los monogástricos, los taninos son polímeros formados por unidades de antocianinas, que son pigmentos hidrosolubles que se encuentran en las vacuolas de las células vegetales y que otorgan el color rojo, púrpura o azul a las hojas, flores y frutos, y éstos evitan la producción de radicales libres, son antioxidantes (Wagner, 1982). Ogbe y Affiku, (2011) reportan un porcentaje de taninos en las hojas de moringa de  $2.57 \pm 0.13$  %, lo cual difiere totalmente del resultado de este proyecto siendo mayor en un 89.4 % con respecto a lo reportado con Ogbe y Affiku (2011), por otra parte, (Foidl y col., 2001) y Makkar y Becker, (1997) reportan una concentración de taninos de 12.0 g/Kg (MS) lo cual equivale a 120.0 mg/100 g, por lo que el resultado de este trabajo ( $24.35$  mg EC/100 g) es el 20 % de la concentración total de taninos reportada por Foidl y col., (2001); Makkar y Becker, (1997) pero, se coincide con los valores reportado por Guzmán-Maldonado y col., (2015) (6.8 a 31.7 mg EC/100 g, según la altura de los árboles cosechados).

### 5.3.3 Capacidad antioxidante

En este estudio, se obtuvo por el método de TEAC un valor de  $607.26 \pm 41.5$  y por el método de ORAC  $559.64 \pm 72.51$ , ambos reportados en  $\mu\text{mol ET} / \text{g}$ , MS (Cuadro 8). Tomando en cuenta la investigación de Domínguez y Pedrós, (2010) que evaluó la capacidad antiradicalaria del Ginkgo Biloba con un valor como resultado de 140-700 meq Trolox/g de muestra seca por el método de TEAC por lo tanto, la hoja de moringa cuenta con una capacidad antioxidante muy similar (92.6%) al Ginkgo Biloba por el método de TEAC y con una capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno de (92.15%) en comparación ORAC vs TEAC, de la misma manera se coincide con los valores reportado por Guzmán-Maldonado y col., (2015) (TEAC 417 a 776 y ORAC 393 a 648  $\mu\text{mol ET} / \text{g}$ ) Por otro lado, Sharma y col., (2009a), en su estudio de actividad antioxidante de plantas de la India, reportan que la fruta de moringa refleja un valor de  $51 \pm 2.08$



$\mu\text{M Fe}^{++}/\text{g MS}$  (por el método de FRAP assay). En el estudio de las variedades de Pitaya (*Stenocereus stellatus* Riccobono) reportan Beltran y col., (2009) una capacidad antioxidante por el método de TEAC, de sus variedades (Pitaya roja, cereza, amarilla y blanca) de  $11.0 \pm 0.20$ ,  $12.2 \pm 0.15$ ,  $16.8 \pm 0.21$  y  $17.3 \pm 0.14$  respectivamente  $\mu\text{mol ET / g}$  (Beltran y col., 2009). Por otra, parte la fresa (*Fragaria ananassa*) se reporta con  $15.4 \mu\text{mol ET / g}$ , la espinaca (*Spinacia oleracea*)  $12.6 \mu\text{mol ET / g}$ , por Pellegrini y col., (2003). Por otra parte, tomando en cuenta el dato de Sharman (2009), se puede comentar que la hoja de moringa tiene 12 veces más capacidad antioxidante que su misma fruta, así como también, 50 y 40 veces más capacidad antioxidante que las espinacas y la fresa, respectivamente. En otro estudio, pero de granos de café, Gotteland y de Pablo (2007) señalan que, 5 g de café soluble contiene  $3.248 \mu\text{mol ET / g}$  por el método de TEAC.

**Cuadro 8. Contenido de fenoles totales, taninos condensados y capacidad antioxidante de hoja de moringa**

<b>Fenoles totales (mg EAG/100 g, MS)</b>	<b>Taninos condensados (mg EC/100 g, MS)</b>	<b>TEAC (<math>\mu\text{mol ET / g}</math>, MS)</b>	<b>ORAC (<math>\mu\text{mol ET / g}</math>, MS)</b>
$3745.17 \pm 130$	$24.39 \pm 0.92$	$607.26 \pm 41.5$	$559.64 \pm 72.51$

### 5.3.4 Contenido de fenólicos simples

En este estudio, los resultados de los análisis de compuestos fenólicos se realizaron por HPLC y fueron en base a la metodología desarrollada por Garcia-Falcon y col., (2007), en donde fueron identificados cuatro compuestos distintos; ácido gálico ( $50.73 \pm 2.32 \text{ mg}/100 \text{ g, MS}$ ), rutina ( $527.27 \pm 21.27 \text{ mg}/100 \text{ g, MS}$ ), ácido clorogénico ( $389.02 \pm 8.88 \text{ mg}/100 \text{ g, MS}$ ) y ácido cumárico ( $151.05 \pm 3.85 \text{ mg}/100 \text{ g, MS}$ ) (cuadro 9). Existen datos en el estudio realizado por Lim, (2012) donde se menciona que Singh y col.,(2009) exponen que, los extractos de hoja, fruta y semilla de moringa, presentan ácido gálico, ácido clorogénico, ácido elágico, ácido ferúlico, kaempferol, quercetina y vainillina.

**Cuadro 9. Contenido de ácido gálico, rutina, ácido clorogénico y ácido cumárico (mg/100 g, MS) en hoja de moringa.**

<b>Ácido gálico (mg/100 g, MS)</b>	<b>Rutina (mg/100 g, MS)</b>	<b>Ácido clorogénico (mg/100 g, Ms)</b>	<b>Ácido cumárico (mg/100 g, MS)</b>
50.73 ± 2.32	527.27 ± 21.27	389.02 ± 8.88	151.05 ± 3.85

Se ha reportado por Mabrouk y Deatherage (1956) que, en el grano de café verde, se encuentra ácido clorogénico, y que es un componente alergénico para el humano, adjudicándole este efecto fisiológico por causar asma bronquial, rinitis o dermatitis a los trabajadores de la industria química. En otro estudio, Gotteland, y de Pablo (2007) señalan que, en general 200 ml de café tostado y molido podrían proporcionar entre 70 y 350 mg de ácido clorogénico y que este componente (ácido clorogénico) está presente en el café verde en un 7 % y es el principal antioxidante, pero que hay efectos negativos a las 9 tazas de café, por lo que se hizo la comparación de un hombre de peso promedio estadounidense de 90.0 Kg, según NYTimes y Clarín (2004), que consume 9 tazas de café está ingiriendo de 7 a 35 mg de ácido clorogénico por cada Kg de su peso, mientras que el pollo de este proyecto ingirió 33.51 mg de este fenólico simple al Kg de peso vivo. Asimismo, se mencionan potenciales efectos negativos del consumo de café sobre el riesgo de muerte fetal, cáncer gástrico, cáncer colo-rectal, cáncer mamario premenopáusicos, fracturas osteoporóticas, artritis reumatoidea, entre otras (Hidgon y Frei; 2006). Algunos autores como Vieitez y Ballester, (1972) mencionan que los componentes fenólicos y cumáricos son inhibidores del crecimiento.

No obstante, Mesa y col; (2002), mencionan que la Rutina tiene acción protectora frente a lesiones nefrotóxicas. Este mismo autor (Mesa y col., 2002), reporta 591.3 mg/ 100 mg MS de Rutina en las hojas de limón y 215.1 mg/ 100 mg MS de Rutina en las hojas de naranja dulce, lo cual la hoja de limón está en similitud con la hoja de moringa y esta última tiene el doble que la hoja de naranja.

#### **5.4 Cuantificación de Proteínas Totales (PT), Albúmina (ALB), Alanina Amino Transferasa (ALT), Aspartato Amino Transferasa (AST), Gamma Glutamil Transpeptidasa (GGT) y Fosfatasa Alcalina (ALP) en suero sanguíneo.**

Los parámetros bioquímicos en suero pueden proporcionar información útil para la evaluación del estado de salud de las aves y reflejan muchas alteraciones metabólicas de los órganos y tejidos cuando se alimentan con fuentes de alimentación no convencionales (Kudair y Al-Hussary, 2010). Se han reportado de varios factores que pueden causar una considerable influencia en los parámetros bioquímicos en suero de pollos entre estos están el uso de los aditivos en el alimento (Sirvydis y col., 2006), así como también el genotipo y la temperatura ambiental (Melesse y col., 2011). El hígado tiene diversas transaminasas para sintetizar y convertir los aminoácidos en moléculas de almacén de energía; las concentraciones de transaminasas en el suero son normalmente bajas (Harr, 2002). Si el hígado está dañado, la membrana celular de los hepatocitos se hace más permeable por lo cual las enzimas y proteínas se filtran a la corriente sanguínea. La elevación de las actividades enzimáticas de la Alanina Amino Transferasa (ALT) y la Aspartato Amino Transferasa (AST) son considerados como indicadoras de daño hepático (Harr, 2002).

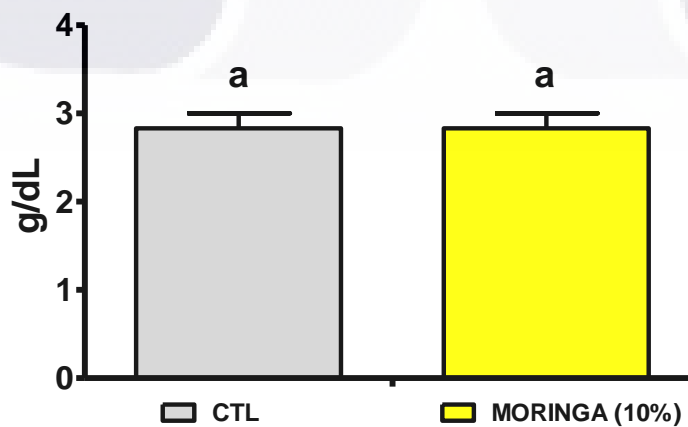
##### **5.4.1 Determinación de PT y ALB**

Los parámetros bioquímicos examinados en suero sanguíneo, son muy importantes ya que al presentar diferencia con respecto al tratamiento control, se toma como una anormalidad principalmente relacionada con el mal funcionamiento de dos órganos de vital importancia como, lo son el hígado y riñón. En el presente estudio no se encontraron diferencias significativas del contenido de proteínas totales en el grupo desafío respecto al control a los 42 días de edad ( $2.83 \pm 0.16$  (g/dL) para ambos grupo). Con respecto a la presencia de las concentraciones de proteínas totales (Gráfica 3) y albúmina (Gráfica 4) no se observaron diferencias significativas en estos marcadores biológicos de daño hepático. Melesse y col., (2013) y, Teye y col., (2013), reportan que, el aumento de los niveles de HHMO adicionadas a la dieta incrementaron significativamente la concentración de proteínas totales en el suero en gallinas. Que este aumento de las proteínas totales del suero en aves alimentados con la dieta de HHMO es

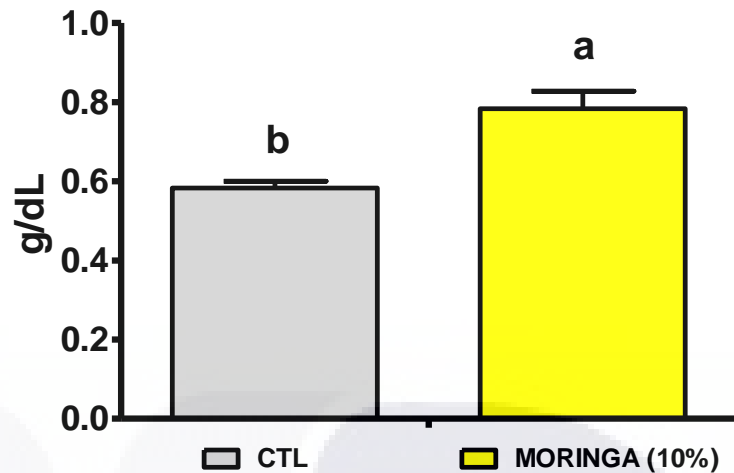
debido a un metabolismo más intenso de las proteínas en el hígado de la gallina como es sugerido por Sirvydis y col., (2006).

Una baja concentración de albúmina en el plasma está asociada a problemas patológicos en hígado y riñón, así como, también deficiencias nutricionales y enfermedades agudas (Al-Homidan y col., 2002). Los valores de referencia para la albúmina en aves van de un rango de 3.1 – 5.05 g/dL (Meluzzi y col., 1992). En este estudio, el contenido de albúmina para el grupo control fue de  $0.58 \pm 0.01$  y de  $0.78 \pm 0.04$  (g/dL) para el grupo que recibió HHMO al 10 % de la dieta. Estos resultados pudieran sugerir algún tipo de daño en el hígado de los animales ya que se encuentran por debajo de los valores de referencia señalados anteriormente. Sin embargo, el grupo control que recibió un alimento normal que fue el referente de otro grupo de pollos, presentó un valor de concentración de albúmina mucho más bajo con una diferencia estadística con respecto al grupo T2 ( $p < 0.05$ ).

Estudios realizados por Al-Homidan y col., (2002) demostraron que la albúmina disminuyó en aves alimentadas con semillas de *Rhazya stricta*, debido a la presencia de factores antinutricionales; Así mismo, en este estudio sí se logró demostrar la presencia de lesiones hepáticas y renales en los pollos que consumieron esta semilla. Por lo anterior estos valores bajos obtenidos en el presente estudio sugieren que tal vez no es debido a un daño en el tejido hepático en los animales, sino más bien a factores antinutricionales o intrínsecos propios de los animales en este estudio.



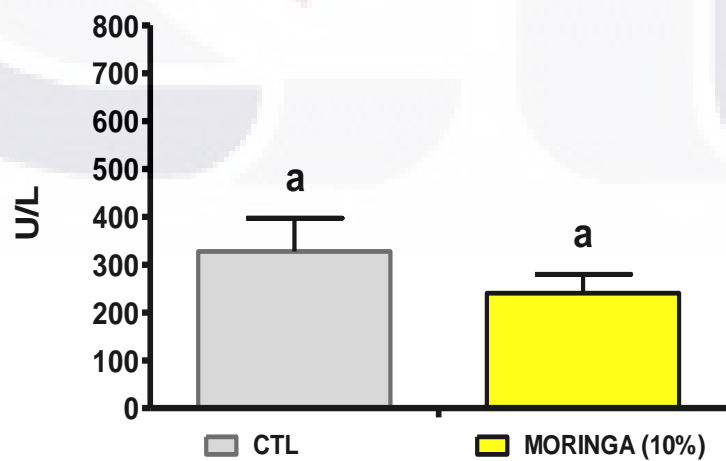
**Gráfica 3.** Concentración promedio de proteínas totales en plasma sanguíneo de pollos de 42 días. Literales diferentes, indican diferencia significativa a la prueba de Tukey ( $P < 0.05$   $n=90$ ).



**Gráfica 4.** Concentración promedio de albúmina en plasma sanguíneo de pollos de 42 días. Literales diferentes, indican diferencia significativa a la prueba de Tukey ( $P < 0.05$   $n=90$ ).

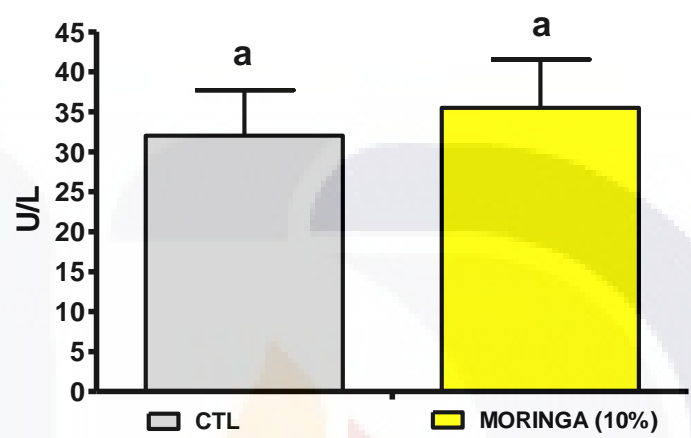
### 5.4.2 Determinación de AST, ALT y ALP

En este estudio, no se logró observar diferencias estadísticas de la actividad enzimática de la AST. Sin embargo, el grupo T2 mostró un valor un poco más bajo ( $240 \pm 39.80$  UI/L) respecto al grupo control ( $327.0 \pm 69.59$  UI/L) (Gráfica 5).



**Gráfica 5.** Concentración promedio del Aspartato Amino Transferasa en plasma sanguíneo de pollos de 42 días. Literales diferentes, indican diferencia significativa a la prueba de Tukey ( $P < 0.05$   $n=90$ ).

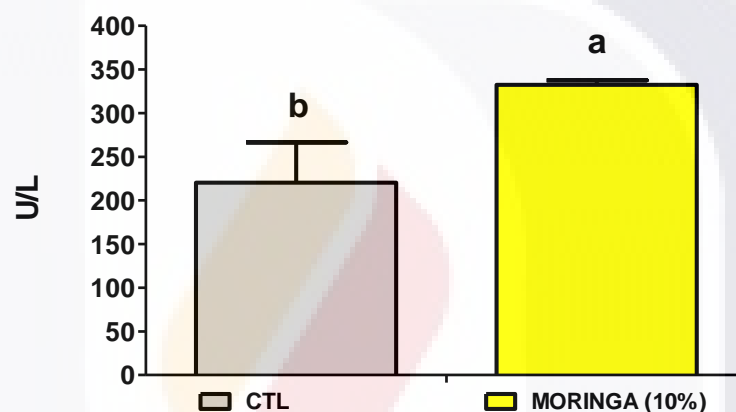
Por otra parte, igualmente en este estudio no se logró observar diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos en la actividad enzimática de la ALT ( $p>0.05$ ); los resultados obtenidos de ALT fueron de  $32.0 \pm 5.68$  y  $35.0 \pm 6.04$  UI/L en los grupos control y moringa (10 %) respectivamente (Gráfica 6).



**Gráfica 6.** Concentración promedio del Alanino Amino Transferasa en plasma sanguíneo de pollos de 42 días. Literales diferentes, indican diferencia significativa a la prueba de Tukey ( $P<0.05$   $n=90$ ).

Estos resultados se consideran dentro del rango de referencia reportado por Mitruka y Rawnsley, (1977) (9.50 – 37.2 UI/L), pero mayores a los reportados por Kucuk y col., (2003) (14.0 -17.0 UI/L) y los reportados por Melesse y col., (2013) quienes reportaron una disminución significativa en las actividades enzimáticas de la ALT en los pollos que fueron alimentados con 5, 8 y 11 % de HHMS adicionadas a sus dietas (19.6 UI/L). Esto se puede interpretar que al no existir una elevación de la actividades enzimáticas de la AST y ALT es porque no están ocurriendo estados de alteración de la permeabilidad de la membrana hepatocelular ya sea debido a la hipoxia circulatoria, la exposición a toxinas y 9toxemia, inflamación, trastornos metabólicos o proliferación de los hepatocitos que generalmente se presenta en el daño hepático (Ramaiah, 2007). Por otra parte, en el síndrome de retraso en el crecimiento de los pollos de engorde, el aumento de las actividades de AST y ALT también están asociadas con un daño del intestino (Prameela y col., 2011). Por otro lado, las ausencias de diferencias significativas de la ALT y AST obtenidas del suero sanguíneo entre los

tratamientos en el presente estudio, pueden reflejar de manera colectiva la funcionalidad normal del hígado y del intestino de los pollos que fueron alimentados con la dieta adicionada con el 10 % de HHMO. Por otra parte, la fosfatasa alcalina (ALP) enzima diferente a la AST y ALT, donde su incremento indica un posible daño a nivel intestinal, en nuestro estudio observamos que los animales del grupo de pollos que recibieron en su dieta la adición del 10 % de HHMO mostraron la actividad enzimática más elevada ( $332.33 \pm 5.35$ ) con respecto al grupo de animales control ( $220.33 \pm 46.26$ ) siendo significativos estadísticamente ( $p < 0.05$ ) (Gráfica 7).

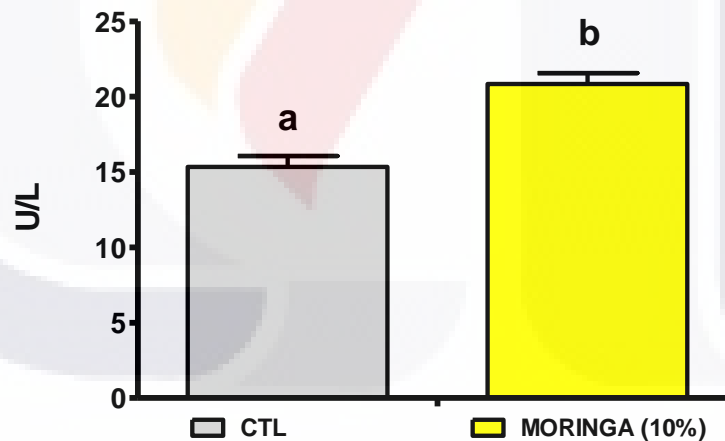


**Gráfica 7.** Concentración promedio de Fosfatasa Alcalina en plasma sanguíneo de pollos de 42 días. Literales diferentes, indican diferencia significativa a la prueba de Tukey ( $P < 0.05$  n=90).

Estos resultados de la actividad enzimática de la ALP son menores a los reportados por Melesse y col., (2013) ( $600 \pm 28$  U/L), quienes lo reportan en pollos que se les adicionó en su alimento diferentes concentraciones (3, 5 y 8%) de HHMO. Este resultado también es apoyado por los trabajos realizados por Olugbemi y col., (2010) quienes reportaron que la HHMO mostraron un efecto beneficioso en la mejora de la respuesta inmune y la salud intestinal de los pollos de engorde, que consumieron HHMO.

### 5.4.3 Determinación de GGT

El incremento de la actividad enzimática de la GGT se produce a causa de procesos patológicos sobre algunos órganos, como hígado y riñones (Ramaiah, 2007). Debido al daño ocasionado por compuestos tóxicos sobre la estructura de las células hepáticas y renales, que producen la ruptura de la membrana celular y en consecuencia la liberación de esta enzima a la circulación sanguínea, es por eso que la evaluación de la actividad de GGT a nivel de plasma también es posible de importancia como indicador de daño hepático (Kim y col., 2003). Las principales causas a nivel hepático que originan el incremento de la actividad de GGT incluyen inflamación, colestasis biliar e hiperplasia de los conductos biliares (Fernandez y col., 1994). En este estudio se observó un incremento de la actividad enzimática de la GGT en las aves que recibieron la HHMO al 10 % de adición en el alimento. Los valores obtenidos fueron de  $15 \pm 0.72$  y  $23 \pm 0.72$  UI/L de la actividad enzimática de la GGT, para los grupos control y moringa 10 % respectivamente (Gráfica 8).



**Gráfica 8.** Concentración promedio de Gamma Glutamyl Transferasa en plasma sanguíneo de pollos de 42 días. Literales diferentes, indican diferencia significativa a la prueba de Tukey ( $P < 0.05$   $n = 90$ ).

Estos resultados nos sugieren la posibilidad de que existe un daño a nivel de tejido hepático o del hepatocito. Estudios en pollos intoxicados con diferentes

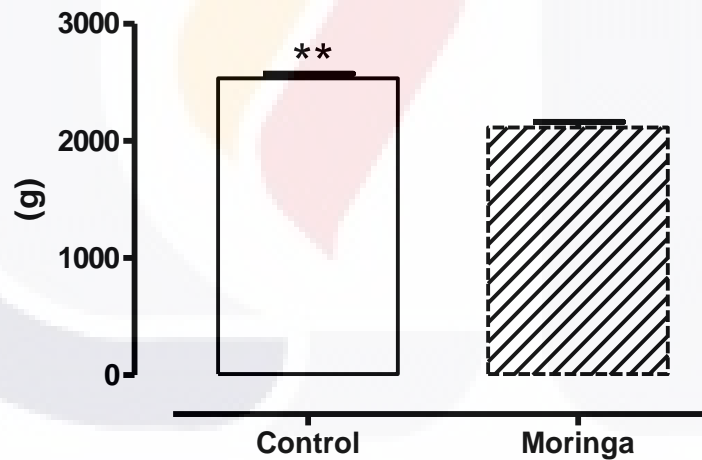


niveles de sustancias tóxicas han demostrado un incremento en la actividad de la GGT en plasma, sugiriendo un daño ocasionado en hígado y riñones principalmente (Raju y col., 2005).

## 5.5 Evaluación de los parámetros productivos

### 5.5.1 Peso corporal promedio

En el peso corporal promedio de los pollos a los 42 días se pudo observar que el grupo de pollos que recibieron la HHMO al 10% no mostraron buenos resultados ya que fueron los animales que manifestaron el menor peso corporal promedio ( $2116.00 \pm 350.73$  g), mientras que el grupo de aves control obtuvo un peso corporal promedio de  $2533.45 \pm 297.34$  g ( $P < 0.05$ ). El grupo de aves a los que se les adicionó el 10 % de HHMO no mostraron un crecimiento normal debido a que su consumo de alimento fue menor (Gráfica 9).



**Gráfica 9.** Peso corporal promedio en los pollos de 42 días. Los asteriscos indican diferencia significativa a la prueba de Fisher ( $P < 0.05$   $n=63$ ).

Melesse y col., (2013), reportan que pollos alimentados con dietas con el 14 % de adición de la HHMO mostraron un rendimiento menor en comparación con los alimentados con otros niveles menores de inclusión de la HHMO en las dietas. Resultados similares fueron obtenidos por Olugbemi y col., (2010) quienes

informan de una reducción del crecimiento en las aves alimentadas con HHMO con niveles de inclusión altos, sin afectar el consumo de materia seca. Esto podría atribuirse a los efectos de desequilibrio de nutrientes y el metabolismo deficiente en animales monogástricos alimentados con altos niveles de ingredientes de alimentos no convencionales (Esonu y col., 2006). Este desequilibrio de nutrientes en la HHMO probablemente podría ocurrir debido a la presencia de diversos factores antinutricionales como los fitatos y taninos (Melesse, 2009; Negesse y col., 2009); lo que podría afectar la biodisponibilidad de los nutrientes.

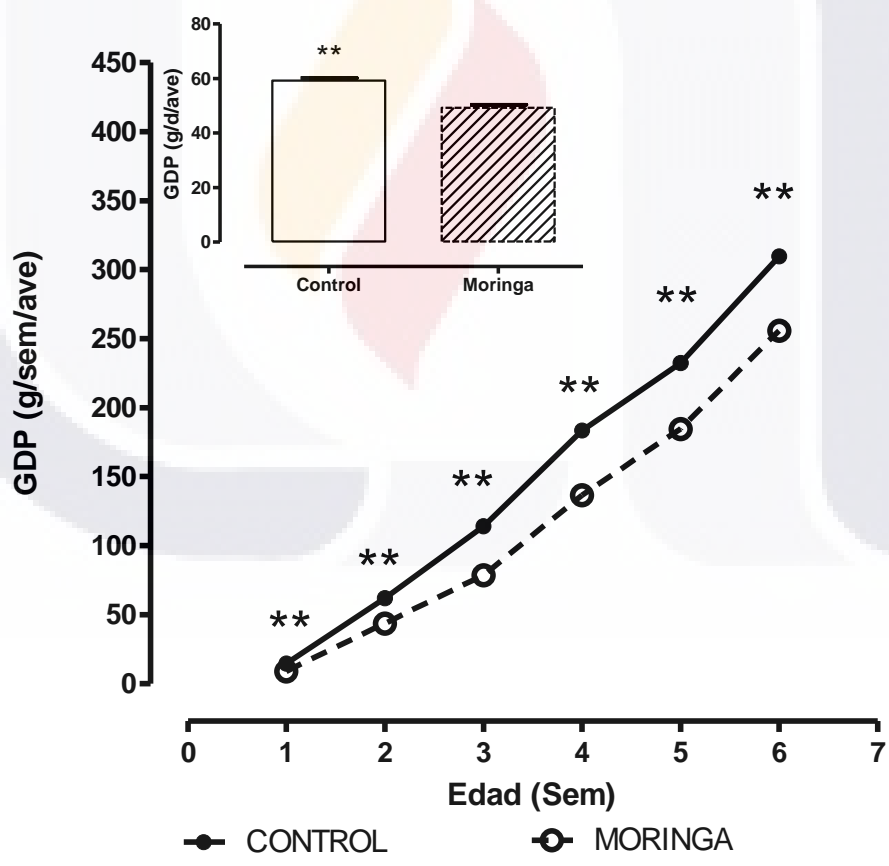
Por otro lado, Olugbemi y col. (2010), encontraron que la adición del 5 % de HHMO en la dieta de los pollos de engorde a base de yuca (20 % y 30 %) no tuvieron un efecto significativo ( $P>0,05$ ) en el peso corporal final en comparación con una dieta libre de yuca y libre de HHMO. Sin embargo, con niveles por encima del 5 % de HHMO se observó una disminución del rendimiento de los pollos de engorda. En contraste con estos resultados, el estudio de Juniar y col., (2010), reportaron que la inclusión de HHMO en cantidades de hasta 10 % no produjo ( $P>0.05$ ) efectos significativos en el consumo de alimento y peso corporal.

Esto difiere a los reportado por Melesse y col., (2013), quienes observaron un mayor consumo de alimento de los pollos alimentados con dietas adicionadas con HHMS en un 2 % y un 6 %. Previamente estudios realizados por Melesse y col., (2011) y Gadzirayi y col., (2012), reportan una alta ingesta de alimento en pollos Rhode Island alimentados con dietas de HHMS. Las observaciones pueden ser atribuidas a una mayor voluminocidad de la alimentación y la menor concentración de EM en las dietas que contienen niveles más altos de HHMS. Por otra parte, Melesse y col., (2013), reportan que pollos alimentados con HHMS con un 5 %, 8 % y 11 % de las dietas registraron valores de peso corporal promedio superior a los de la dieta de control que, no se les adicionó la HHMS, esto también fue reportado por Ayssiwede, (2011), en pollos alimentados con HHMO. Esto es debido a que la concentración de la mayoría de los aminoácidos esenciales en la hoja de moringa *stenophetala* es comparativamente mayor que las que se encuentran en la harina de soja (Melesse, 2009). La hoja de moringa es especialmente rica en metionina en comparación con la harina de soja. Por lo tanto, la disponibilidad de este aminoácido limitante junto con otros aminoácidos esenciales puede haber contribuido a los mayores valores para las

características de rendimiento del crecimiento y de la canal de pollos alimentados con dietas que contienen en su dieta niveles de harina de hoja de moringa. Además de que los valores de EM son más altos en las dietas también pueden influir en la respuesta de los pollos a los niveles de aminoácidos más elevados (Coon, 2002).

### 5.5.2 Ganancia diaria de peso

Con respecto al GDP, el grupo control ganó en promedio  $59.25 \pm 7.09$  g/día, éste valor fue mayor al grupo de aves que consumieron HHMO al 10 % ( $49.29 \pm 8.32$  g/día) ( $P < 0.05$ ) (Gráfica 10).



**Gráfica 10.** Ganancia diaria de peso en los pollos de 42 días. Final promedio en barras y semanal en lineal. Los asteriscos indican diferencia significativa a la prueba de Fisher ( $P < 0.05$   $n=63$ ).

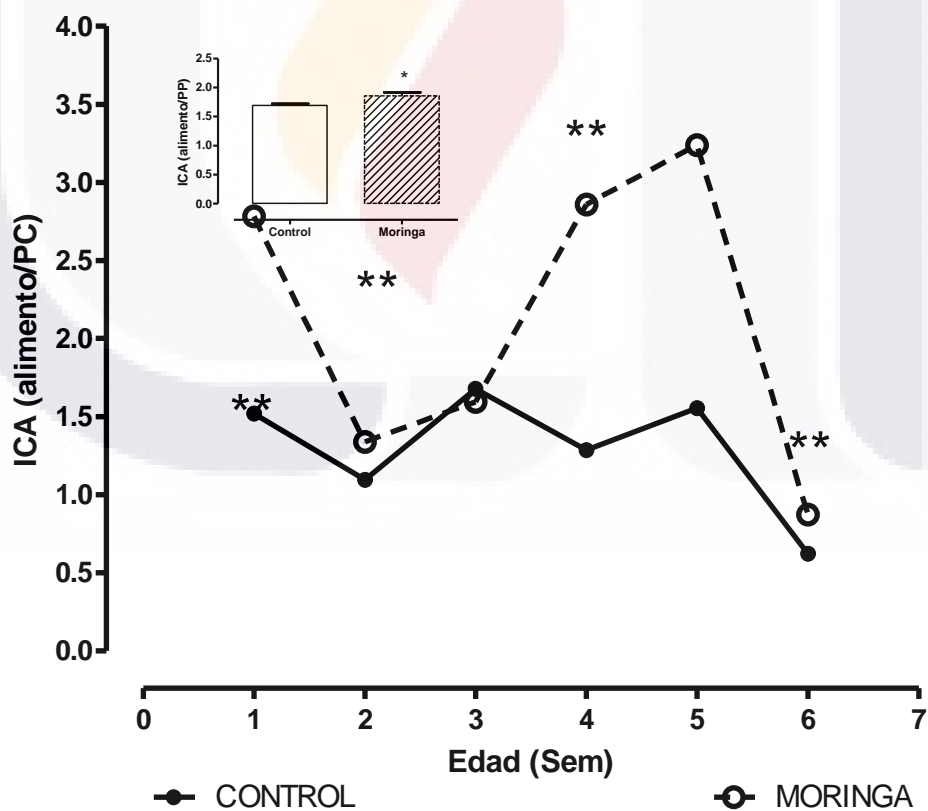
Estos resultados podrían estar relacionados con la presencia de factores antinutricionales y al menor consumo de alimento del grupo de pollos que consumieron la HHMO al 10 %. Melesse y col., (2011) reportó que el uso de la HHMS en la dieta de los pollos Rhode Island tuvieron un efecto sobre el aumento de la alimentación y la ingesta de proteína bruta y la ganancia de peso promedio. Por otra parte, estudios realizados por Nworgu y Fasogbon, (2007) observaron una mayor ganancia de peso corporal en pollos en crecimiento alimentados con dietas con un 2.0 %, 4.0 % y 6.0 % harina de hoja de *C. pubescens* ( $P < 0.05$ ). Mientras que Omeje y col., (1997) reportaron observaciones similares en pollos de engorde alimentados con 5-10 % de harina de hojas de *C. pubescens*. Pollos de engorde alimentados con niveles de 2.5 y 5.0 % de harina de hojas de *C. pubescens* mostraron un mayor rendimiento de crecimiento en comparación con el grupo control (Nworgu, 2004). Sin embargo, Du y col., (2007) no observaron ninguna diferencia significativa en el crecimiento de los pollos de engorde (Arbor Acres) de tres semanas de edad que fueron alimentados con dietas suplementadas con niveles de 0.5, 1.0, 2.0 y 3.0 % HHMO. Abbas y col., (2013) relacionan estos hallazgos a la presencia de proteínas de fácil acceso en la HHMS, que es utilizable por los animales monogástricos, y también a los niveles más altos de metionina y otros aminoácidos esenciales en comparación con la harina de soja de una dieta control. Estos mismos autores, Abbas y col., (2013), concluyeron que la inclusión de HHMS en cantidades de hasta el 6.0 % en la dieta de los pollos en crecimiento en sustitución de las fuentes convencionales de proteína no tiene efectos negativos sobre los pollos. Por otra parte, estudios de Kakengi y col., (2007) declararon que la adición de un 10 % y 20 % de HHMO en la dieta de gallinas ponedoras, como un sustituto de la harina de semilla de girasol, mostraron un aumento de la ingesta de alimento y de materia seca, así como la disminución de la producción en masa de huevo.

Olugbemi y col., (2010) encontraron que la adición del 5.0 % de HHMO en la alimentación de los pollos de engorde en a base de yuca (20 % y 30 %) no tuvo un efecto significativo ( $P > 0,05$ ) en la ganancia de peso. Abbas y Ahmed (2012) llevaron a cabo un experimento para estudiar el efecto de Moringa *oleifera* de la harina de semilla no decorticada adicionada en la dieta de los pollos de engorde (0.0 %, 0.37 %, 0.75 % y 1.5 %), los autores observaron que durante el período

de arranque (8-21 días), el uso del 1.5 % de la harina de semilla de Moringa *oleífera* redujo el aumento de peso significativamente ( $P < 0.05$ ), pero durante la fase de finalización (22-35 días) y ambas fases de alimentación (8-35 días), la administración de adiciones de diferentes niveles de harinas de semilla de Moringa *oleífera* (0.37 %, 0.75 % y 1.5 %), no lograron producir un efecto significativo ( $P > 0.05$ ) en la ganancia de peso.

### 5.5.3 Índice de conversión alimenticia

Quintana (2003) define al índice de conversión como, la relación del alimento usado para conseguir un peso final, cuanto más bajo sea el índice de conversión más eficiente es el alimento. En nuestro estudio las aves del grupo control presentaron en promedio un ICA de  $1.69 \pm 0.24$ , mientras que el del grupo de HHMO al 10 % fue de  $1.85 \pm 0.48$  ( $P < 0.05$ ) (Gráfica 11).



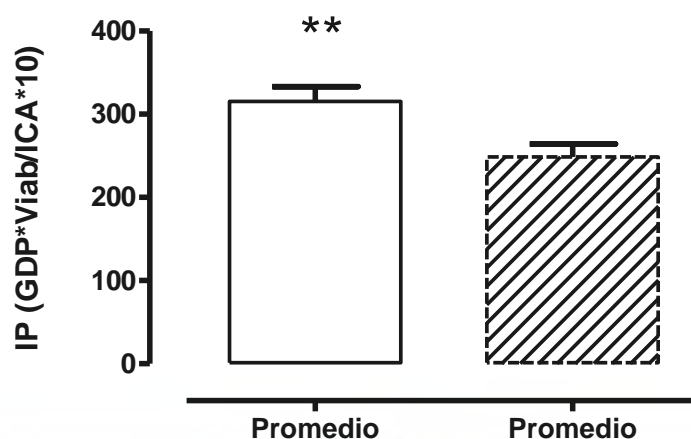
**Gráfica 11.** Índice de conversión alimenticia en los pollos de 42 días. . Final promedio en barras y semanal en lineal. Los asteriscos indican diferencia significativa a la prueba de Fisher ( $P < 0.05$   $n=63$ ).

Abbas y col., (2013) reportaron que el índice de conversión alimenticia (Kg pienso / Kg de huevo) aumentó cuando se añadió la HHMO en un 20.0 % a la dieta de gallinas ponedoras. Los autores explican que el aumento en el índice de conversión alimenticia en un nivel alto de HHMO, se deben principalmente a la baja digestibilidad de energía y proteína. Mientras en los estudios de Olugbemi y col., (2010) reportaron que la suplementación de la HHMO en niveles de hasta el 10.0 % en una dieta basada en yuca en las dietas de gallinas ponedoras no tuvo ningún efecto significativo ( $P>0.05$ ) sobre el índice de conversión alimenticia. Igualmente Abou-Elezz y col., (2011), mencionan en su estudio que, la inclusión de diferentes niveles de HHMO (0.0 %, 5.0 %, 10.0 % y 15.0 %) en la dieta de las gallinas ponedoras no mostraron un efecto significativo en el índice de conversión. Kakengi y col., (2007); Olugbemi y col., 2010; Abou-Elezz y col., (2011), proponen que el uso de la HHMO en la dieta puede ser hasta de un nivel del 10.0 % ya que no se observan efectos negativos en el comportamiento productivo de las gallinas ponedoras, pero que los niveles por encima de este porcentaje (15.0 % y 20.0 %) si producen efectos adversos en las aves.

Melesse y col., (2013) observaron valores similares en el índice de conversión alimenticia cuando recibieron 5.0 %, 8.0 % y 11.0 % de HHMO. Sin embargo valores por arriba de estos niveles en las dietas los valores del índice de conversión pueden ser más elevados. Sin embargo, los resultados de un estudio realizado por Portugaliza y Fernandez Jr, (2012) indicaron un mejor índice de conversión en los pollos alimentados con extractos acuosa de hojas de *Moringa oleifera* con respecto al grupo control. Ayssiwede, (2011), reportaron que pollos que recibieron HHMO en un 24.0 % de adición a la dieta dieron como resultado un menor índice de conversión en comparación con el grupo de aves control. Las diferencias que se observan en el presente estudio podrían atribuirse a la especie de árbol de moringa, la madurez de las hojas utilizadas para la preparación de la HHMO y de la línea de pollos utilizados.

#### **5.5.4 Índice de productividad**

El grupo de aves que presentó el valor mayor de IP fue el control ( $315.34 \pm 142.64$ ) ya que el grupo alimentado con HHMO al 10.0 % de su dieta obtuvo  $248.52 \pm 128.25$ , ( $P<0.05$ ) (Gráfica 12).



**Gráfica 12.** Índice de productividad en los pollos de 42 días. Los asteriscos indican diferencia significativa a la prueba de Fisher ( $P < 0.05$   $n = 63$ ).

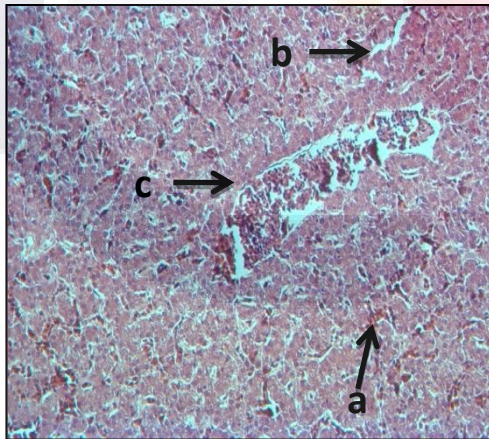
Estos resultados son opuestos a lo reportado por Melesse y col., (2011), reportaron que con el uso de la HHMS en un 6.0 % de la dieta de los pollos Rhode Island observaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en los índices de eficiencia de alimentación y de eficiencia de proteína en comparación con una dieta control. Abbas y col., (2013), relacionan estos hallazgos a la presencia de proteínas de fácil acceso en la HHMS y también a los niveles más altos de aminoácidos esenciales.

Un estudio realizado por Abbas y Ahmed (2012) en pollos de engorda a los que se les adicionó harina de semillas de Moringa *oleifera* con niveles de inclusión de 0.0 %, 0.37 %, 0.75 % y 1.5 %, observaron que durante el período de iniciación (8-21 días), el nivel de 1.5 % de la harina de semilla de Moringa *oleifera* redujo la eficiencia alimentaria de manera significativa ( $P < 0,05$ ). Mientras que durante la etapa de finalización (22-35 días) y ambas etapas (8-35 días), la administración de suplementos de diferentes niveles utilizados (0.37 %, 0.75 % y 1.5 %) no lograron mostrar un efecto significativo ( $P > 0.05$ ) en la eficiencia alimenticia.

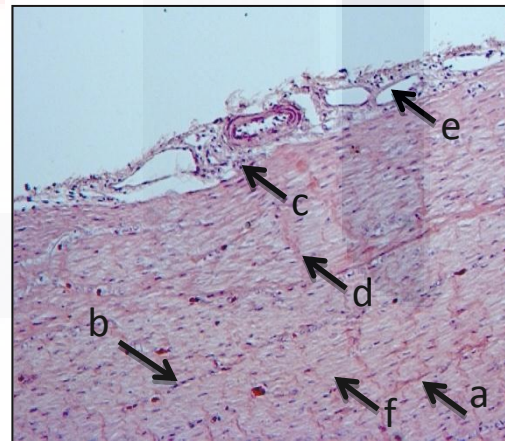
**5.6 Histopatología de hígado y riñón de pollos de engorda con harina de hoja de Moringa *oleifera* al 10%**

**5.6.1 Hígado**

Los resultados observados en el estudio histopatológico realizado a 12 hígados tanto del grupo que no recibió como el que recibió la dieta con la hoja de moringa (T1 y T2), se muestran en las figuras 5 y 6. En la cual se evaluó la condición de la histo-arquitectura del parénquima hepático, así como también, la presencia o ausencia de células de la inflamación, el espacio de Möll, el espacio de Disse, los sinusoides hepáticos, los conductos biliares, y en especial al hepatocito, en donde se evaluó su relación núcleo-citoplasma, características del núcleo celular (picnósis, cariólisis y cariorrexis), y la presencia o ausencia de vacuolas lipídicas en el citoplasma. Este estudio demostró que no hay diferencias micro-morfológicas del grupo suplementado con HHMO al 10.0 % con respecto al grupo control, ya que ambos grupos mostraron una similitud en todas sus características morfo-celulares a nivel hepático.



**Figura 5.** Hígado de pollo HHM (T2-1) con aumento 10X y tinción HE, día 42. (a) parénquima hepático, (b) sinusoides hepáticos, (c) vena centrolobulillar.

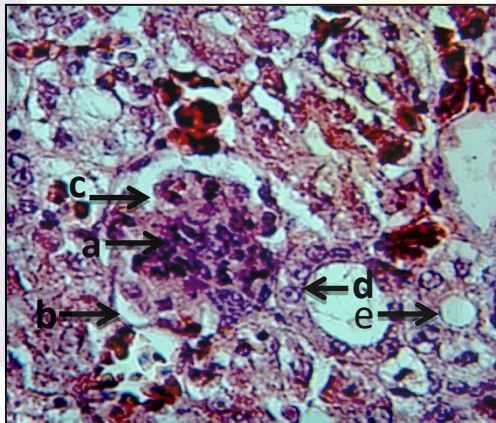


**Figura 6.** Hígado de pollo control (T1-1) con aumento 40X y tinción HE, día 42. (a) histo-arquitectura del parénquima hepático, (b) células basófilas, (c) espacio de Möll, (d) sinusoides hepáticos, (e) conductos biliares, (f) hepatocitos.

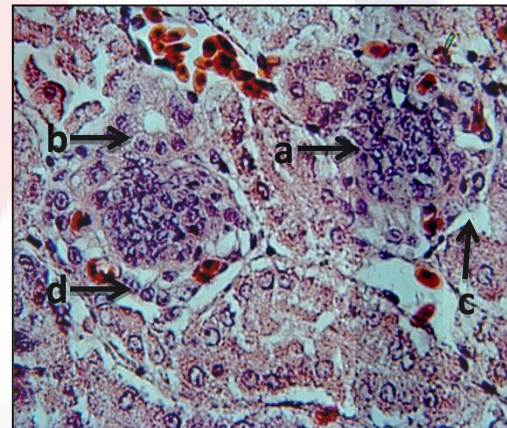


### 5.6.2 Riñón

Los resultados observados en el estudio histopatológico realizado a 12 riñones tanto del grupo que no recibió como el que recibió la dieta con la hoja de moringa (T1 y T2), se muestran en las figuras 7 y 8. En los cuales se evaluó microscópicamente el glomérulo renal, la cápsula de Bowman, el espacio urinario, la capa visceral (podocitos), el polo vascular y polo urinario, la barrera de filtración, los túbulos proximales, la asa de Henle, los túbulos distales, el aparato yuxtaglomerular (compuesto por las células granulares, células de la mácula densa y las células mesangiales extraglomerulares), los túbulos colectores y el intersticio renal. Los resultados de la evaluación indican la no existencia de diferencias micro-morfológicas entre el grupo suplementado con HHMO al 10.0 % con respecto al grupo control, ya que en ambos grupos se observaron similitudes de todas las características morfo-celulares evaluadas.



**Figura 7.** Riñón de pollo HHMO (T2-2) con aumento 40X y tinción HE, día 42. (a) glomérulo renal, (b) espacio urinario, (c) barrera de filtración, (d) mácula densa, (e) túbulo proximal.



**Figura 8.** Riñón de pollo control (T1-1) con aumento 40X y tinción HE, día 42. (a) glomérulo renal, (b) túbulo proximal, (c) cápsula de Bowman, (d) capa visceral del glomérulo.

*Nota: los tejidos no fueron transfundidos para la histopatología.*

## 6. CONCLUSIONES

La Harina de Hoja de Moringa contiene características nutrimentales (Proteína y ELN) en valores elevados y niveles altos de componentes nutraceuticos (Fe, Ca, Vit C, Fenoles Totales y Fenolicos simples).

Con la adición del 10.0% de Harina de Hoja de Moringa a la dieta de pollos de engorda no fue posible mejorar los parámetros productivos de los pollos de engorda, al menos durante el periodo de duración que se tuvo en este estudio.

La adición del 10.0% de Harina de Hoja de Moringa a la dieta de pollos de engorda no fue posible encontrar efectos tóxicos. Aunque los valores de las actividades enzimáticas de la GGT y ALP fueron más elevados en los animales del grupo que recibió HHMO esto pudo haber sido por la presencia de proceso inflamatorios en los conductos biliares en ambos grupos ocasionados por factores ajenos al consumo de la HHMO para el caso de la GGT, mientras la elevación de la ALP pudo haber sido por el mismo motivo de la presencia de procesos inflamatorios en el riñón por factores ajenos al consumo de la HHMO.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abbas, T.E., 2013. The use of *Moringa oleifera* in poultry diets. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences* 37, 492-496.
- Abou-Elezz, S.-F.L., Santos-Ricalde R, Solorio-Sanchez F., 2011. Nutritional effects of dietary inclusion of *Leucaena leucocephala* y *Moringa oleifera* leaf meal on Rhode Island Red hens' performance. . *Cub J Agri Sci.*, pp. 163-169.
- Al-Homidan, A., Al-Qarawi, A.A., Al-Waily, S.A., Adam, S.E.I., 2002. Response of broiler chicks to dietary *Rhazya stricta* y *Nigella sativa*. *British Poultry Science* 43, 291-296.
- Anwar, F., Bhangar, M.I., 2003. Analytical characterization of *Moringa oleifera* seed oil grown in temperate regions of Pakistan. *Journal of Agricultural y Food Chemistry* 51, 6558-6563.
- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., Gilani, A.H., 2007. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy research* 21, 17-25.
- AOAC (Official Methods of Analysis), 15ª edición (1990), Association of Official Analytical, Vol 1. Tomado de la red social el día 22 de Julio 2014. <https://archive.org/details/gov.law.aoac.methods.1.1990>
- Arrieta, D., Perez-Arevalo, M.L., Gomez, C., Ascanio, E., Irausquin, B., Molero, G., 2006. Effect of *Saccharomyces cerevisiae*(1026) culture and/or selenium intake on broiler exposed to low levels of aflatoxin B-1 in the ration. 1. Serum proteins y serum enzymatic activity values. *Revista Científica-Facultad De Ciencias Veterinarias* 16, 613-621.
- Arrieta-Mendoza, D., Perez-Arevalo, M.L., Luengo, A., Hernández, J.P., Lista-Alves, D., Mosquera, J., 2007. Alteraciones histológicas hepáticas e incremento de proteínas séricas en pollos de engorde alimentados con dietas suplementadas con *Saccharomyces cerevisiae*. *Investigación Clínica* 48.
- Asare, G.A., Gyan, B., Bugyei, K., Adjei, S., Mahama, R., Addo, P., Otu-Nyarko, L., Wiredu, E.K., Nyarko, A., 2012. Toxicity potentials of the nutraceutical *Moringa oleifera* at supra-supplementation levels. *Journal of Ethnopharmacology* 139, 265-272.
- Atawodi, S.E., Mari, D., Atawodi, J.C., Yahaya, Y., 2008. Assessment of *Leucaena leucocephala* leaves as feed supplement in laying hens. *Afr. J. Biotechnol* 7, 317-321.

- Awodele, O., Oreagba, I.A., Odoma S., da Silva, J.A. y Osunkalu, V.O. 2012. Toxicological evaluation of the aqueous leaf extract of *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 139(2), 330–336
- Ayssiwede, S.B., 2011. Effects of *Moringa oleifera* (Lam) leaves meal incorporation in diets on growth performances, carcass characteristics y economics results of growing indigenous Senegal chickens. *Pak. J. Nutr.*, pp. 1132–1145.
- Beltran, M.C., Oliva-Coba, T.G., Gallardo-Velasquez, T., Osorio-Revilla, G., 2009. Ascorbic acid, phenolic content y antioxidant capacity red, cherry, yellow y white types of pitahaya cactus fruit (*Stenocereus stellatus* Riccobono). *Agrociencia* 43, 153-162.
- Bharali R, 2003. Chemomodulatory effect of *Moringa oleifera* , Lam, on hepatic carcinogen metabolising enzymes, antioxidant parameters y skin papillomagenesis in mice. *Asian Pac J Cancer Prev*, pp. 131–139.
- Borsa, A., Kohayagawa, A., Boretti, L.P., Saito, M.E., Kuibida, K., 2006. Serum levels of hepatic enzyme function in clinically healthy broiler chickens. *Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinaria E Zootecnia* 58, 675-677.
- Brown, L., Rosner, B., Willett, W., Sacks, F.M., 1999. Meta-analysis of the cholesterol-lowering effects of dietary fiber - Reply to AS Truswell. *American Journal of Clinical Nutrition* 70, 943-943.
- Burger, D.J., Fuglie, L., Herzig, J.W., 1997. The possible role of *Moringa oleifera* in HIV/AIDS supportive treatment, pp. 7-12.
- Burtis, C.A., Ashwood, E.R., 1999. *Clinical chemistry.*, 3<sup>a</sup> ed, Philadelphia: W.B. Saunders.
- Caceres, A., Saravia, A., Rizzo, S., Zabala, L., Deleon, E., Nave, F., 1992. PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF MORINGA-OLEIFERA .2. SCREENING FOR ANTISPASMODIC, ANTIINFLAMMATORY y DIURETIC ACTIVITY. *Journal of Ethnopharmacology* 36, 233-237.
- Charoensin, S., 2014. Antioxidant y anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. *Journal of Medicinal Plants Research* 8, 318-325.
- Cichewicz, R.H., Thorpe, P.A., 1996. The antimicrobial properties of chile peppers (*Capsicum* species) y their uses in Mayan medicine. *Journal of ethnopharmacology* 52, 61-70.
- Confer, A.W., Panciera, R.J., 2001. The urinary system. *Thomson's special veterinary pathology* 2, 209-246.

- Coon, N.C., 2002. Digestion y metabolism., In: Commercial Chicken Meat y Egg Production fifth ed. ed. Springer Science + Business Media, Inc., In: Bell, D.D., Weaver, W.D. (Eds), USA., pp. pp. 199–213.
- Corder, R., Douthwaite, J.A., Lees, D.M., Khan, N.Q., dos Santos, A.C.V., Wood, E.G., Carrier, M.J., 2001. Endothelin-1 synthesis reduced by red wine - Red wines confer extra benefit when it comes to preventing coronary heart disease. *Nature* 414, 863-864.
- Corral-Aguayo, R.D., Yahia, E.M., Carrillo-Lopez, A., Gonzalez-Aguilar, G., 2008. Correlation between Some Nutritional Components y the Total Antioxidant Capacity Measured with Six Different Assays in Eight Horticultural Crops. *Journal of Agricultural y Food Chemistry* 56, 10498-10504.
- Cullen, J.M., MacLachlan, N.J., McGavin, M.D., Carlton, W.W., Zachary, J.F., 2001. Thomson's special veterinary pathology. Thomson's special veterinary pathology.
- D'Angelo, A., Bellino, C., Alborali, G. L., Biancardi, A., Borrelli, A., Capucchio, M. T., Catalano, D., Dellaferrera, G., Maurella, C., Cagnasso, A. 2007. Neurological signs associated with aflatoxicosis in Piedmontese calves. *The Veterinary Record*, 160(20):698-700.
- Dachana KB, Rajiv J, Indrani D, Prakash J. 2010. Effect of dried moringa (*Moringa oleifera* Lam) leaves on rheological, microstructural, nutritional, textural y organoleptic characteristics of cookies. *J Food Qual* 33(5):660–677.
- Denli, M., Blandon, J.C., Guynot, M.E., Salado, S., Perez, J.F., 2009. Effects of dietary AflaDetox on performance, serum biochemistry, histopathological changes, y aflatoxin residues in broilers exposed to aflatoxin B-1. *Poultry Science* 88, 1444-1451.
- Deshpande, S.S., Cheryan, M., 1985. EVALUATION OF VANILLIN ASSAY FOR TANNIN ANALYSIS OF DRY BEANS. *Journal of Food Science* 50, 905-910.
- Desmidt M, Ducatelle R, Haesebrouck F., 1997. Pathogenesis of Salmonella enteritidis phage type two after experimental infection of young chickens. *Vet Microbiol*; 56: 99-109.
- Devaraj, V.C., Asad, M., Prasad, S., 2007. Effect of leaves y fruits of *Moringla oleifera* on gastric y duodenal ulcers. *Pharmaceutical Biology* 45, 332-338.

- DI, S.-M., 2006. High-performance liquid chromatography method to measure alpha- y gamma-tocopherol in leaves, flowers y fresh beans from *Moringa oleifera*. J Chromatogr A pp. 111–114.
- Domínguez i Pedrós, A., 2010. Estudio de la capacidad antioxidante de hojas de Ginkgo biloba.
- Dos Santos, J.A., 1975. Patología especial dos animais domesticos (mamíferos e aves). Bib. Orton IICA/CATIE.
- Du, P.L., Lin, P.H., Yang, R.Y., Fan, Y.K., Hsu, J.C., 2007. Effects of dietary supplementation of *Moringa oleifera* on growth performance, blood characteristics y immune response in broilers. Journal of the Chinese Society of Animal Science 36, 135-146.
- Eaton, D.L., Gilbert, S.G., 2008. Chapter 2: Principles of toxicology. Casarett y Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons. CD Klaassen. McGraw Hill Medical, New York.
- ENSE, 2008. Encuesta Nacional de Salud en Escolares. [online]. *Situación nutricional en México*. Tomado de la red mundial el 30 abril 2014. [http://www.ni.gob.mx/pics/pages/sdsocial\\_gtpobreza\\_base/salvadorzubiran.pdf](http://www.ni.gob.mx/pics/pages/sdsocial_gtpobreza_base/salvadorzubiran.pdf).
- Ergun, E., Ergun, L., Essiz, D., 2006. Light y electron microscopic studies on liver histology in chicks fed aflatoxin. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 113, 363-368.
- Esonu, B.O., Emenalom, O.O., Udedibie, A.B., Anyanwu, A., Madu, U., Inyang, O.A., 2006. Evaluation of Neem (*Azadirachta indica*) leaf meal on performance, carcass characteristics y egg quality of laying hens. Journal of Animal Science 84, 344-345.
- Fahad, J., Kumar, M.C.S., Kodancha, G.P., Adarsh, B., Udupa, A.L., Rathnakar, U.P., 2010. Antirolithiatic activity of aqueous extract of bark of moringa oleifera (lam) in rats. Health 2, 352.
- Fahey, J.W., 2005. *Moringa oleifera*: A Review of the Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, y Prophylactic Properties. Part 1. Trees for life Journal 1, 1-15.
- Faizi, S., Siddiqui, B.S., Saleem, R., Siddiqui, S., Aftab, K., Gilani, A.U.H., 1994. ISOLATION y STRUCTURE ELUCIDATION OF NEW NITRILE y MUSTARD OIL GLYCOSIDES FROM MORINGA-OLEIFERA y THEIR EFFECT ON BLOOD-PRESSURE. Journal of Natural Products 57, 1256-1261.
- Faizi, S., Siddiqui, B.S., Saleem, R., Siddiqui, S., Aftab, K., Gilani, A.U.H., 1995. FULLY ACETYLATED CARBAMATE y HYPOTENSIVE

THIOCARBAMATE GLYCOSIDES FROM MORINGA-OLEIFERA.  
Phytochemistry 38, 957-963.

Fakurazi, S., Hairuszah, I., Nanthini, U., 2008. Moringa oleifera Lam prevents acetaminophen induced liver injury through restoration of glutathione level. Food y Chemical Toxicology 46, 2611-2615.

FAO, depósitos de documentos de la FAO, Factores antinutricionales endógenos presentes en los productos alimenticios vegetales, tomado de la red (<http://www.fao.org/docrep/003/t0700s/T0700S06.htm>), el 20 de octubre del 2014.

Fernandez, A., Verde, M.T., Gascon, M., Ramos, J., Gomez, J., Luco, D.F., Chavez, G., 1994. Variations of clinical biochemical parameters of laying hens y broiler chickens fed aflatoxin-containing feed. Avian Pathology 23, 37-47.

Ferri F.F., 2014. Philadelphia: Pa: Elsevier Mosby: Capítulo IV– Laboratory tests y interpretation of results; ed. Ferri's Clinical Advisor 2014.

Finkel, T., Holbrook, N.J., 2000. Oxidants, oxidative stress y the biology of ageing. Nature 408, 239-247.

Foidl, N., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2001. The potential of Moringa oleifera for agricultural y industrial uses. The Miracle Tree: The Multiple Attributes of Moringa, 45-76.

Fudge A.M., 2000. Laboratory medicine: avian y exotic pets. Saunders, Philadelphia.

Fuglie, L.J., 1999a. The miracle tree: Moringa oleifera. Dakar, Senegal: Church World Services.

Fuglie, L.J., 1999b. The Miracle Tree: Moringa oleifera: Natural Nutrition for the Tropics. Church World Service, Dakar. 68 pp.; revised in 2001 y published as The Miracle Tree: The Multiple Attributes of Moringa, 172 pp.

Gadzirayi, C.T., Masamha, B., Mupangwa, J.F., Washaya, S., 2012. Performance of broiler chickens fed on mature Moringa oleifera leaf meal as a protein supplement to soyabean meal. International Journal of Poultry Science 11, 5-10.

Ganguly, R., Guha, D., 2008. Alteration of brain monoamines & EEG wave pattern in rat model of Alzheimer's disease & protection by Moringa oleifera. Indian Journal of Medical Research 128, 744.

- García, E. - Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), 1998. Climas (Clasificación de Koppen, modificado por García). Escala 1:1 000 000. México.
- García-Falcon, M.S., Pérez-Lamela, C., Martínez-Carballo, E., Simal-Gandara, J., 2007. Determination of phenolic compounds in wines: Influence of bottle storage of young red wines on their evolution. *Food Chemistry* 105, 248-259.
- Gartner, L.P., Hiatt, J.L., Araiza, M.E., 2002. Texto atlas de histología. McGraw-Hill Interamericana ^ eMéxico DF México DF.
- Gast RK, Beard CW., 1989. Age-related changes in the persistence y pathogenicity of *Salmonella typhimurium* in chicks. *Poult Sci*; 68: 1454-1460
- Gendler, S., 1984. Uric acid. Kaplan A y col. *Clin Chem The CV Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton*, 1268-1273.
- Gella FJ, Olivella T, Cruz M, Arenas J, Moreno R, Durban R, Gómez JA. 1985. A simple procedure for routine determination of aspartate aminotransferase y alanine aminotransferase with pyridoxal phosphate. *Clinica Chimica Acta*. 153: 241–247.
- Geneser F. 2000. Histología. Editorial Médica Panamericana. 3ª edición. Buenos Aires, Argentina.
- Getty, R. 1998. S. Sisson y J. D. Grossman. Anatomía de los animales domésticos. Tomo II. 5ª Ed. Reimp. Ed. Masson. Barcelona, España.
- Ghasi, S., Nwobodo, E., Ofili, J.O., 2000. Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam in high-fat diet fed Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology* 69, 21-25.
- Gil, M.I., Ferreres, F., Tomás-Barberán, F.A., 1999. Effect of postharvest storage y processing on the antioxidant constituents (flavonoids y vitamin C) of fresh-cut spinach. *Journal of agricultural y food chemistry* 47, 2213-2217.
- González Vega Aguirre, D., Arce Menocal, J., Avila González, E., Morilla González, A., & Cortés Coronado, R. (1995). Efecto de la suplementación de las vitaminas C y E en la dieta del pollo de engorda sobre los parámetros productivos y la respuesta inmune. *Vet. Méx*, 26(4), 333-40.
- Gornall, A.G., Bardawill, C.J., David, M.M., 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. biol. Chem* 177, 751-766.



- Gotteland, Martín, & de Pablo V, Saturnino. (2007). ALGUNAS VERDADES SOBRE EL CAFÉ. *Revista chilena de nutrición*, 34(2), 105-115. Recuperado en 24 de abril de 2016, de [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75182007000200002&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182007000200002&lng=es&tlng=es). 10.4067/S0717-75182007000200002.
- Guevara, A.P., Vargas, C., Sakurai, H., Fujiwara, Y., Hashimoto, K., Maoka, T., Kozuka, M., Ito, Y., Tokuda, H., Nishino, H., 1999. An antitumor promoter from *Moringa oleifera* Lam. *Mutation Research/Genetic Toxicology y Environmental Mutagenesis* 440, 181-188.
- Gupta, A., Gautam, M.K., Singh, R.K., Kumar, M.V., Rao, C.V., Goel, R.K., Anupurba, S., 2010. Immunomodulatory effect of *Moringa oleifera* Lam extract on cyclophosphamide induced toxicity in mice. *Indian Journal of Experimental Biology* 48, 1157-1160.
- Gutierrez-Ruiz, M.C., Gomez-Quiroz, L.E., 2007. Liver fibrosis: searching for cell model answers. *Liver Int.* 155N, 434-439.
- Guzmán-Maldonado, S.H., Zamarripa-Colmenares, A., Hernández-Duran, L.G., 2015. Calidad nutrimental y nutraceutica de hoja de moringa proveniente de árboles de diferente altura. *Revista mexicana de ciencias agrícolas* 6, 317-330.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 2015. *Free radicals in biology y medicine*. Oxford University Press, USA.
- Hamza, A.A., 2010. Ameliorative effects of *Moringa oleifera* Lam seed extract on liver fibrosis in rats. *Food y Chemical Toxicology* 48, 345-355.
- Harr, K.E., 2002. Clinical chemistry of companion avian species: A review. *Veterinary Clinical Pathology* 31, 140-151.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J., 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism y structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry* 13, 572-584.
- Higdon, J. V., & Frei, B. (2006). Coffee y health: a review of recent human research. *Critical reviews in food science y nutrition*, 46(2), 101-123.
- INEGI, 2013. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, In: *Perspectiva Estadística Aguascalientes*, 2013 ed.
- Iqbal, S., Bhanger, M.I., 2006. Effect of season y production location on antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaves grown in Pakistan. *Journal of Food Composition y Analysis* 19, 544-551.
- J., B.W., 1986. *Histología Veterinaria Aplicada*.

- Jaiswal, D., Rai, P.K., Kumar, A., Mehta, S., Watal, G., 2009. Effect of Moringa oleifera Lam. leaves aqueous extract therapy on hyperglycemic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 123, 392-396.
- Jauregui, A., Hugening, C., Teresa, M., Ledesma Martinez, N., Garcia, R., & Avila Gonzalez, E. (1998). [Granuloma y pyogranuloma in meckel's diverticulum of broiler chickens with septicaemia y arthritis]. In 34 Reunion Nacional de Investigacion Pecuaria, Queretaro, Qro. Oct 1998.(Memorias), Queretaro, Qro.(Mexico), 29-31 Oct 1998.
- Jones Jr, J.B., Case, V.W., Westerman, R.L., 1990. Sampling, handling y analyzing plant tissue samples. *Soil testing y plant analysis.*, 389-427.
- Jongrungruangchok S, B.S., Songsak T, 2010. Nutrients y minerals content of eleven different samples of Moringa oleifera cultivated in Thailand. *J Health Res*, pp. 123–127.
- Juniar, I., Widodo, E., Sjojfan, O., 2010. Effect of Moringa oleifera leaf meal in feed on broiler production performance. *JURNAL ILMU-ILMU PETERNAKAN* 18.
- Kakengi, A., Kaijage, J.T., Sarwatt, S.V., Mutayoba, S.K., Shem, M.N., Fujihara, T., 2007. Effect of Moringa oleifera leaf meal as a substitute for sunflower seed meal on performance of laying hens in Tanzania. *Bone* 1, 446.
- Kaplan, A., Glucose, K.A., 1984. *Clin Chem The CV Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton* 436.
- Karadi, R.V., Gadge, N.B., Alagawadi, K.R., Savadi, R.V., 2006. Effect of Moringa oleifera Lam. root-wood on ethylene glycol induced urolithiasis in rats. *Journal of ethnopharmacology* 105, 306-311.
- Kim, J.-G., Lee, Y.-W., Kim, P.-G., Roh, W.-S., Shintani, H., 2003. Reduction of aflatoxins by Korean soybean paste y its effect on cytotoxicity y reproductive toxicity—part 3. Inhibitory effects of Korean soybean paste (doen-jang) on aflatoxin toxicity in laying hens y aflatoxin accumulation in their eggs. *Journal of Food Protection*® 66, 866-873.
- Klaassen CD. 2008. *Casarett y Doull's Toxicology. The basic science of poisons. 7ª edición. Editorial McGraw – Hill. Kansas City, USA.*
- Klin, Z., 1970. Kinetic determination of lactate dehydrogenase as recommended by the German Clinical Chemistry Society (DGKC) *Biochem. 8: 658 C. F: BioMerieux, France.*
- Kubena, L.F., Harvey, R.B., Buckley, S.A., Edrington, T.S., Rottinghaus, G.E., 1997. Individual y combined effects of moniliformin present in Fusarium

fujikuroi culture material y aflatoxin in broiler chicks. Poultry science 76, 265-270.

Kucuk, O., Sahin, K., Sahin, N., Gursu, M.F., Gulcu, F., Ozcelik, M., Issi, M., 2003. Egg production, egg quality, y lipid peroxidation status in laying hens maintained at a low ambient temperature (6 deg C) y fed a vitamin C y vitamin E-supplemented diet. Veterinarni Medicina-UZPI (Czech Republic).

Kudair, I.M., Al-Hussary, N.A.J., 2010. Effect of vaccination on some biochemical parameters in broiler chickens. Iraqi Journal of Veterinary Sciences 24, 59-64.

Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Heinonen, M., 2001. Berry phenolics y their antioxidant activity. Journal of Agricultural y Food Chemistry 49, 4076-4082.

Landeros, P., Reyes, W., De Lucas, E., Albarrán, E., López, Y., Quezada, T., 2008. Evaluación de dos adsorbentes (manano oligosacáridos y clinoptilolita) en dietas de pollos de engorde contaminadas con fumonisina B1. Revista de Salud Animal 30, 50-58.

Lim, T.K., 2012. *Edible Medicinal y Non-Medicinal Plants*, p. 453.

Lincoln, T., Zeiger, E., 2006. Secondary Metabolites y Plant Defense. Plant Physiology. Fourth Edition. Sinauer Associates, Inc. Capítulo 13, 125.

Lipipun, V., Kurokawa, M., Suttisri, R., Taweechotipatr, P., Pramyothin, P., Hattori, M., Shiraki, K., 2003. Efficacy of Thai medicinal plant extracts against herpes simplex virus type 1 infection in vitro y in vivo. Antiviral research 60, 175-180.

Luisa, S.M., 2013. *Beneficios Nutritivos y Medicinales de la Moringa Oleifera*. Tomado de la red mundial el 30 abril 2014. [http://ciencia.unam.mx/leer/261/Beneficios\\_nutritivos\\_y\\_medicinales\\_de\\_la\\_moringa](http://ciencia.unam.mx/leer/261/Beneficios_nutritivos_y_medicinales_de_la_moringa). ciencia UNAM, Universidad Autonoma de México [online] [http://ciencia.unam.mx/leer/261/Beneficios\\_nutritivos\\_y\\_medicinales\\_de\\_la\\_moringa](http://ciencia.unam.mx/leer/261/Beneficios_nutritivos_y_medicinales_de_la_moringa).

Lumeij. 1997. Avian clinical biochemistry. In Clinical biochemistry of domestic animals, 5th Edition. J. J. Kaneko, J. W. Harvey, y M. L. Bruss. (eds). Academic Press, San Diego, California, pp. 857-883.

Mabrouk, A. F., & Deatherage, F. E. (1956). Organic acids in brewed coffee. Coffee Brewing Institute. Recuperado en 24 de abril de 2016, de <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=CAFE.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=001850>

- MacDaniel, L.S., Dempsey, H.A., Chute, H.L., 1964. Enzyme levels in birds. Bulletin/The Maine agricultural experiment station, technical series (no 8).
- Mahajan, S.G., Mehta, A.A., 2007. Inhibitory action of ethanolic extract of seeds of *Moringa oleifera* Lam. on systemic y local anaphylaxis. Journal of immunotoxicology 4, 287-294.
- Majid MF, Abood A, Hammadi H. 2007. Aflatoxin B1-induced kidney damage in rats. Journal of the Faculty of Medicine Baghdad, 49: 147–150.
- Makkar H. P. S., Becker K., 1996. Nutritional value y antinutritional components of whole y ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. Animal Feed Sci Tech 63(1):211–228.
- Makkar, H.P.S., Becker, K., 1997. Nutrients y antiquality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. Journal of Agricultural Science 128, 311-322.
- Manzoor, M., Anwar, F., Iqbal, T., Bhangar, M.I., 2007. Physico-chemical characterization of *Moringa concanensis* seeds y seed oil. Journal of the American Oil Chemists Society 84, 413-419.
- Martínez Herrera, J.; Siddhuraju, P.; Francis, G.; Dávila-Ortíz, G.; Becker, K. (2006). Chemical composition, toxic/antimetabolic constituents y effects of different treatments on their levels in four provenances of *Jatropha curcas* L. from México. Food Chem. 96:80–89.
- Mataka LM, Sajidu SMI, Masamba WRL, Mwatseteza JF (2010) Cadmium sorption by *Moringa stenopetala* y *Moringa oleifera* seed powders: batch, time, temperature, pH y adsorption isotherm studies. Int J Water Resour Environ Eng 2(3):50–59
- Merkley JW, Maxwell RJ, Phillips JG, Huff WE. 1987. Hepatic fatty acid profiles in aflatoxin-exposed broiler chickens. Poultry Science, 66: 59–67.
- McElroy, D.A., Prophet, E.B., Mills, B., Arrington, J.B., Sobin, L.H., 1994. Laboratory methods in histotechnology. Armed Forces Institute of Pathology, American Registry of Pathology, Washington, DC.
- Mehta, K., Balaraman, R., Amin, A.H., Bafna, P.A., Gulati, O.D., 2003. Effect of fruits of *Moringa oleifera* on the lipid profile of normal y hypercholesterolaemic rabbits. Journal of Ethnopharmacology 86, 191-195.
- Melesse, A., Bulang, M., Kluth, H., 2009. Evaluating the nutritive values y in vitro degradability characteristics of leaf, seed y seedpod from *Moringa stenopetala*. J. Sci. Food Agric., pp. 281–287.

- Melesse, A., Getye, Y., Berihun, K., Banerjee, S., 2013. Effect of feeding graded levels of *Moringa stenopetala* leaf meal on growth performance, carcass traits y some serum biochemical parameters of Koekoek chickens. *Livestock Science* 157, 498-505.
- Melesse, A., Maak, S., Schmidt, R., von Lengerken, G., 2011. Effect of long-term heat stress on some performance traits y plasma enzyme activities in Naked-neck chickens y their F(1) crosses with commercial layer breeds. *Livestock Science* 141, 227-231.
- Melesse, A., Steingass, H., Boguhn, J., Schollenberger, M., Rodehutschord, M., 2012. Effects of elevation y season on nutrient composition of leaves y green pods of *Moringa stenopetala* y *Moringa oleifera*. *Agroforestry Systems* 86, 505-518.
- Meluzzi, A., Primiceri, G., Giordani, R., Fabris, G., 1992. Determination of blood constituents reference values in broilers. *Poultry science* 71, 337-345.
- Mesa, M. G., Herrera, D. M. A., Vilas, M. M., Alfonso, C. C., Carretero, J. H., Batista, A. D., & Montequini, J. F. (2002). Plantas cítricas en el tratamiento de enfermedades vasculares. *Rev Cubana Angiol y Cir Vasc*, 3(2), 39-46.
- MILLER, J. K., E. BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA, F. C. MADSEN. 1993. Oxidative stress, antioxidants y animal function. *J. Dairy Sci.*76: 2812-2823.
- Miller, N. J., Diplock, A. T., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan. V., Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity y its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin. Sci.* 84:407-412.
- Mitruka, B.M., Rawnsley, H.M., 1977. Clinical biochemical y hematological reference values in normal experimental animals. *Clinical biochemical y hematological reference values in normal experimental animals.*
- Mohammed, K.A.-E.F., Sarmiento-Franco, L., Santos-Ricalde, R., Francisco Solorio-Sanchez, J., 2012. The nutritional effect of *Moringa oleifera* fresh leaves as feed supplement on Rhode Island Red hen egg production y quality. *Tropical Animal Health y Production* 44, 1035-1040.
- Morton, J. F. (1991). The Horse radish tree, *Moringa pterygosperma*. A boon to arid lands?. *Economic Botany*, 45, 318–333.
- Moyo Busani, M.V., Masika Patrick J. y Arnold Hugo., 2011. Nutritional characterization of *Moringa (Moringa oleifera Lam)* leaves. *African Journal of Biotechnology*, pp. 12925-12933.

- Muthukumar, M., Naveena, B.M., Vaithiyanathan, S., Sen, A.R., Sureshkumar, K., 2014. Effect of incorporation of Moringa oleifera leaves extract on quality of ground pork patties. *Journal of Food Science y Technology-Mysore* 51, 3172-3180.
- Muñoz de Chávez, M., Ledesma Solano, J.A., Avila Curiel, A., Calvo, C., Castañeda López, J., Castro González, I., 2002. Los alimentos y sus nutrientes: tablas de valor nutritivo de alimentos. DF, México: McGraw Hill.
- Nair, A.G.R., Sankaras, S., 1962. PIGMENTS OF FLOWERS OF MORINGA PTERYGOSPERMA. CURRENT SCIENCE ASSN CV RAMAN AVENUE, PO BOX 8005, BANGALORE 560 080, INDIA, p. 155.
- Nambiar, V.S., Seshadri, S., 2001. Bioavailability trials of  $\beta$ -carotene from fresh y dehydrated drumstick leaves (*Moringa oleifera*) in a rat model. *Plant Foods for Human Nutrition* 56, 83-95.
- Ndiaye, M., Dieye, A.M., Mariko, F., Tall, A., Sall, D.A., Faye, B., 2001. [Contribution to the study of the anti-inflammatory activity of *Moringa oleifera* (moringaceae)]. *Dakar medical* 47, 210-212.
- Ndong, M., Uehara, M., Katsumata, S.-i., Suzuki, K., 2007. Effects of oral administration of *Moringa oleifera* Lam on glucose tolerance in Goto-Kakizaki y Wistar rats. *Journal of clinical biochemistry y nutrition* 40, 229.
- Negesse, T., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2009. Nutritive value of some non-conventional feed resources of Ethiopia determined by chemical analyses y an in vitro gas method. *Animal Feed Science y Technology* 154, 204-217.
- Nepolean, P., Anitha, J., Emilin, R.R., 2009. Isolation, analysis y identification of phytochemicals of antimicrobial activity of *Moringa oleifera* Lam. *Current biotica* 3, 33-37.
- Nielsen, I., 2003. Grubben, GJH & Denton, OA (eds) 2004. Plant resources of Tropical Africa 2. *Nordic Journal of Botany* 23, 298-298.
- Nkukwana T.T., Muchenje V., Masika P.J., Hoffman L.C., Zdama K., Descalzo A.M., (2013); Fatty acid composition y oxidative stability of breast meat from broiler chickens supplemented with *Moringa oleifera* leaf meal over a period of refrigeration; *Food Chemistry* 142, 255-261.
- Nkukwana, T.T., Muchenje, V., Masika, P.J., Hoffman, L.C., Dzama, K., 2014a. The effect of *Moringa oleifera* leaf meal supplementation on tibia strength, morphology y inorganic content of broiler chickens. *South African Journal of Animal Science* 44, 228-239.

- Nkukwana, T.T., Muchenje, V., Peterse, E., Masika, P.J., Mabusela, T.P., Hoffman, L.C., Dzama, K., 2014b. Effect of Moringa oleifera leaf meal on growth performance, apparent digestibility, digestive organ size y carcass yield in broiler chickens. *Livestock Science* 161, 139.
- Nkukwana, T.T., Muchenje, V., Pieterse, E., Masika, P.J., Mabusela, T.P., Hoffman, L.C., Dzama, K., 2014c. Effect of Moringa oleifera leaf meal on growth performance, apparent digestibility, digestive organ size y carcass yield in broiler chickens. *Livestock Science* 161, 139-146.
- NMX-Y 094-SCFI-2011. ALIMENTOS PARA ANIMALES-DETERMINACION DE FIBRACRUDA EN ALIMENTOS BALANCEADOS E INGREDIENTES MAYORES. Tomada de la red el día 28 de noviembre del 2014: [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5218831&fecha=14/11/2011](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5218831&fecha=14/11/2011)
- NRC (National Research Council). 1994. Nutrient requirements of poultry. 9th Rev. Ed. Washington: National Academy Press. Ed. Washington: National Academy Press.
- Nworgu, F.C., 2004. Utilization of forage meal supplements in broiler production. *Utilization of Forage Meal Supplements in Broiler Production*.
- Nworgu, F.C., Fasogbon, F.O., 2007. Centrosema (*Centrosema pubescens*) leaf meal as protein supplement for pullet chicks y growing pullets. *International Journal of Poultry Science* 6, 255-260.
- Nwosu, M.O., Okafor, J.I., 1995. Preliminary studies of the antifungal activities of some medicinal plants against *Basidiobolus* y some other pathogenic fungi. *Mycoses* 38, 191-195.
- NYTimes y Clarín.,2004. The New York Times y Clarín., sociedad, "El estadounidense promedio aumentó de peso y altura". Tomado de la red mundial [<http://edant.clarin.com/diario/2004/03/02/s-03306.htm>] el día 05 de junio del 2016.
- Oberley, T.D., 2002. Oxidative damage y cancer. *The American journal of pathology* 160, 403-408.
- Odee, 1998. Forest biotechnology research in dry lands of Kenya: the development of Moringa species. *DrylandBiodivers*, pp.:7-8.
- Oduro, I., Ellis, W.O., Owusu, D., 2008. Nutritional potential of two leafy vegetables: Moringa oleifera y Ipomoea batatas leaves. *Scientific Research y Essays* 3, 57-60.
- Ogbe, A.O., Affiku, J.P., 2011. Proximate study, mineral y anti-nutrient composition of Moringa oleifera leaves harvested from Lafia, Nigeria: potential benefits in poultry nutrition y health. *The Journal of Microbiology, Biotechnology y Food Sciences* 1, 296.

- Ola-Fadunsin, S.D., Ademola, I.O., 2013. Direct effects of *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae) acetone leaf extract on broiler chickens naturally infected with *Eimeria* species. *Tropical animal health y production* 45, 1423-1428.
- Olson, M.E., Fahey, J.W., 2011. *Moringa oleifera*: a multipurpose tree for the dry tropics. *Revista Mexicana De Biodiversidad* 82, 1071-1082.
- Olugbemi, T.S., Mutayoba, S.K., Lekule, F.P., 2010. Effect of *Moringa* (*Moringa oleifera*) inclusion in cassava based diets fed to broiler chickens. *International Journal of Poultry Science* 9, 363-367.
- Omeje, S.I., Odo, B.I., Egwu, P.O., 1997. The effects of *Centrosema pubescens* as leaf meal concentrate for broiler birds, pp. 136-137.
- OMS., Organización Mundial de la Salud;. tomada de la red el día 28 de noviembre de 2014: [www.oms.org](http://www.oms.org).
- Ou B.; Huang D.; Hampsch-Woodill M.; Flanagan J.A.; Deemer E.K. (2002). Analysis of antioxidants activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) y ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of Agricultural y Food Chemistry* 50, 3122-3128.
- Padayatty, S.J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J.-H., Chen, S., Corpe, C., Dutta, A., Dutta, S.K., 2003. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition* 22, 18-35.
- Pal, S.K., Mukherjee, P.K., Saha, K., Pal, M., Saha, B.P., 1996. Studies on some psychopharmacological actions of *Moringa oleifera* Lam.(moringaceae) leaf extract. *Phytotherapy Research* 10, 402-405.
- Pari, L., Kumar, N.A., 2002. Hepatoprotective Activity of *Moringa oleifera* on Antitubercular Drug-Induced Liver Damage in Rats. *Journal of Medicinal Food* 5, 171-177.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F., 2003. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages y oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *The Journal of nutrition* 133, 2812-2819.
- Perusia, O.R., Rodríguez, R., 2001. Micotoxicosis. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 12, 87-116.
- Portugaliza, H.P., Fernandez Jr, T.J., 2012. Growth performance of Cobb broilers given varying concentrations of Malunggay (*Moringa oleifera* Lam) aqueous leaf extract. *Online Journal of Animal y Feed Research (OJAFR)* 2, 465-469.



- Prameela, M.R., Ahmad, N.N., Prasad, P.E., Latha, S.C., 2011. Hematological y biochemical changes of stunting syndrome in broiler chicken. *Vet. World* 4 (3), 124–125.
- Prior, R.L., Wu, X.L., Schaich, K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity y phenolics in foods y dietary supplements. *Journal of Agricultural y Food Chemistry* 53, 4290-4302.
- Prosky, L., Asp, N.G., Schweizer, T.F., Devries, J.W., Furda, I., 1988. DETERMINATION OF INSOLUBLE, SOLUBLE, y TOTAL DIETARY FIBER IN FOODS y FOOD-PRODUCTS - INTERLABORATORY STUDY. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 71, 1017-1023.
- Quintana L. JA. 2003. Manejo de las aves domésticas más comunes. 3a. ed. México D.F.: Trillas. pp 11-33.
- Radek, M., Savage, G.P., 2008. Oxalates in some Indian green leafy vegetables. *International Journal of Food Sciences y Nutrition* 59, 246-260.
- Raju, M., Rama Rao, S.V., Radhika, K., Panda, A.K., 2005. Effect of amount y source of supplemental dietary vegetable oil on broiler chickens exposed to aflatoxicosis. *British poultry science* 46, 587-594.
- Ramachandran, C., Peter, K.V., Gopalakrishnan, P.K., 1980. DRUMSTICK (MORINGA-OLEIFERA) - A MULTIPURPOSE INDIAN VEGETABLE. *Economic Botany* 34, 276-283.
- Ramaiah, S.K., 2007. A toxicologist guide to the diagnostic interpretation of hepatic biochemical parameters. *Food y chemical toxicology* 45, 1551-1557.
- Rathi, B.S., Bodhankar, S.L., Baheti, A.M., 2006. Evaluation of aqueous leaves extract of *Moringa oleifera* Linn for wound healing in albino rats. *Indian journal of experimental biology* 44, 898.
- Ray, K., Hazra, R., Guha, D., 2003. Central inhibitory effect of *Moringa oleifera* root extract: possible role of neurotransmitters. *Indian journal of experimental biology* 41, 1279-1284.
- Richter, N., Siddhuraju, P., Becker, K., 2003. Evaluation of nutritional quality of moringa (*Moringa oleifera* Lam) leaves as an alternative protein source for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L). *Aquaculture* 217, 599-611.
- Robbins SL, Cotran RS, Kumar V, Collins T. 2002. Manual de patología estructural y funcional. Ed. McGraw-Hill Interamericana. España.
- Ross(2009),BROILER Suplemento de nutricion del pollo de engorda. [on line] tomado de la red mundial el 05 de abril del 2016.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

[http://en.aviagen.com/assets/Tech\\_Center/BB\\_Foreign\\_Language\\_Docs/Spanish\\_TechDocs/Ross-Suplemento-Nutricin-Pollo-Engorde-2009.pdf](http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Spanish_TechDocs/Ross-Suplemento-Nutricin-Pollo-Engorde-2009.pdf)

Ruckmani, K., Kavimani, S., Jayakar, B., Anandan, R., 1998. Anti-ulcer activity of the alkali preparation of the root y fresh leaf juice of *Moringa oleifera* Lam. *Ancient Science of Life* 17, 220.

Ruiz Flores, G., Constantino Casas, F., Quintana López, J. A., Cedillo Peláez, C., & Urquiza Bravo, O. (2008). Patogenia de *Salmonella Enteritidis* FT 13a y *Salmonella Enteritidis* biovar Issatschenko en pollos de engorda. *Veterinaria México*, 39(2), 145-160.

Salah, N., Miller, N.J., Paganga, G., Tijburg, L., Bolwell, G.P., Riceevans, C., 1995. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals y as chain-breaking antioxidants. *Archives of biochemistry y biophysics* 322, 339-346.

Sánchez JM, Cardona CN., 2003. Mecanismos de interacción de *Salmonella* con la mucosa intestinal. *Asoc Colomb Infect*; 7: 22-29.

Sanchez-Machado, D.I., Nunez-Gastelum, J.A., Reyes-Moreno, C., Ramirez-Wong, B., Lopez-Cervantes, J., 2010. Nutritional Quality of Edible Parts of *Moringa oleifera*. *Food Analytical Methods* 3, 175-180.

Santillán, 2013. *Beneficios Nutritivos y Medicinales de la Moringa Oleifera*. Tomado de la red mundial el 30 abril 2014. [http://ciencia.unam.mx/leer/261/Beneficios nutritivos y medicinales de la moringa](http://ciencia.unam.mx/leer/261/Beneficios_nutritivos_y_medicinales_de_la_moringa). ciencia UNAM, Universidad Autonoma de México [online] [http://ciencia.unam.mx/leer/261/Beneficios nutritivos y medicinales de la moringa](http://ciencia.unam.mx/leer/261/Beneficios_nutritivos_y_medicinales_de_la_moringa).

Sarwatt, S., 2002. Substituting sunflower seed-cake with *Moringa oleifera* leaves as supplemental goat feed in Tanzania. *Agrofor Syst*, pp. 241–247.

SAS. 1999. Procedures guide for personal computers. CARY, N. C.: SAS Insitute, Inc., U. S. A.

Sasikala, V., Rooban, B.N., Priya, S.G.S., Sahasranamam, V., Abraham, A., 2010. *Moringa oleifera* prevents selenite-induced cataractogenesis in rat pups. *Journal of Ocular Pharmacology y Therapeutics* 26, 441-447.

Sathya, T.N., Aadarsh, P., Deepa, V., Murthy, P.B., 2010. *Moringa oleifera* Lam. leaves prevent cyclophosphamide-induced micronucleus y DNA damage in mice. *International Journal of phytomedicine* 2.

Satterlee, L. D., Marshall, H. F., & Tennyson, J. M. (1979). Measuring protein quality. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 56:103–109.

- Schindler, G., Patzak, U., Brinkhaus, B., Nieciecki, A., Wittig, J., Krämer, N., Glöckl, I., Veit, M., 2002. Urinary Excretion y Metabolism of Arbutin after Oral Administration of *Arctostaphylos uvae ursi* Extract as Film-Coated Tablets y Aqueous Solution in Healthy Humans. *The Journal of Clinical Pharmacology* 42, 920-927.
- Schmidt, R.E., Reavill, D.R., Phalen, D.N., 2015. *Pathology of Pet y Aviary Birds*. Wiley.
- Shahidi, F., Ke, P.J., Zhao, X., Yang, Z., Wanasundara, P.K., Antioxidative activity of green y black tea in meat model systems, pp. 599-602.
- Sharma, R.K., Chatterji, S., Rai, D.K., Mehta, S., Rai, P.K., Singh, R.K., Watal, G., Sharma, B., 2009a. Antioxidant activities y phenolic contents of the aqueous extracts of some Indian medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research* 3, 944-948.
- Sharma, R.K., Chatterji, S., Rai, D.K., Mehta, S., Rai, P.K., Singh, R.K., Watal, G., Sharma, B., 2009b. Antioxidant activities y phenolic contents of the aqueous extracts of some Indian medicinal plants. *J Med Plants Res* 3, 944-948.
- Shukla & Pachauri. 1995. Shukla. S.K. y S.P. Pachauri, 1995. Blood biochemical profiles in induced aflatoxicosis of cockerels. *British Poult. Sci.* 36(1):155-160.
- Shukla S, Mathur R, Prakash AO (1988b) Biochemical y physiological alterations in female reproductive organs of cyclic rats treated with aqueous extract of *Moringa oleifera* Lam. *Acta Eur Fertil* 19(4):225–232.
- Shukla S, Mathur R, Prakash AO (1989) Histoarchitecture of the genital tract of ovariectomized rats treated with an aqueous extract of *Moringa oleifera* roots. *J Ethnopharmacol* 25(3):249–261.
- Sies, H., Stahl, W., Sevanian, A., 2005. Nutritional, dietary y postprandial oxidative stress. *The Journal of nutrition* 135, 969-972.
- Singh, B.N., Singh, B.R., Singh, R.L., Prakash, D., Dhakarey, R., Upadhyay, G., Singh, H.B., 2009. Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant y anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. *Food y Chemical Toxicology* 47, 1109-1116.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols y other oxidation substrates y antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299, 152-178.
- Sirvydis, V., Bobinienė, R., Gudavičiūtė, D., Čepulienė, R., Semaška, V., Vencius, D., Kepalienė, I., 2006. Influence of a prebiotic feed additive on

some biochemical indices of blood y intestinal microbiota of broiler chickens. *Žemės Ūkio Mokslai* 4, 57-62.

Sreelatha, S., Jeyachitra, A., Padma, P.R., 2011. Antiproliferation y induction of apoptosis by *Moringa oleifera* leaf extract on human cancer cells. *Food y Chemical Toxicology* 49, 1270-1275.

Sturkie, P. D. 1986. *Avian physiology*. Fourth Edition. Kingsport Press. USA.

Sudha, P., Asdaq, S.M.B., Dhamingi, S.S., Chandrakala, G.K., 2010. Immunomodulatory activity of methanolic leaf extract of *Moringa oleifera* in animals.

Suphachai, C., 2014. Antioxidant y anticancer activities of *Moringa oelifera* leaves. *Academic Journals*, pp. 318-325.

Sánchez-Machado, 2006. High-performance liquid chromatography method to measure alpha- y gamma-tocopherol in leaves, flowers y fresh beans from *Moringa oleifera*. *J Chromatogr A* pp. 111–114.

Tee E. S., Noor M. I., Azudin M. N., Idris K., 1997. *Nutrient composition of Malaysian foods*, 4th edn. Institute for Medical Research, Kuala Lumpur, 299 pp.

Teye, G.A., Baffoe, F., Teye, M., 2013. Effects of *Moringa* ( *Moringa oleifera*) leaf powder y dawadawa ( *Parkia biglobosa*), on sensory characteristics y nutritional quality of frankfurter-type sausages: A preliminary study. *Global Adv. Res. J. Agric. Sci* 2, 29-033.

Tietz, N.W., 1995. *Clinical guide to laboratory tests*. WB Saunders Co.

Torok, N.J., 2008. Recent advances in the pathogenesis y diagnosis of liver fibrosis. *J. Gastroenterol.* 43, 315–321.

Trigueros RY, Villata R. 1997. Evaluación del uso de follaje deshidratado de morera (*Morus alba*) en alimentación de cerdos de la raza landrace en etapa de engorde. Resultados de investigación, CENTA, El Salvador.

Tseng, T.H., Kao, E.S., Chu, C.Y., Chou, F.P., Wu, H.W.L., Wang, C.J., 1997. Protective effects of dried flower extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. against oxidative stress in rat primary hepatocytes. *Food y Chemical Toxicology* 35, 1159-1164.

Tsukada, S., Parsons, C.J., Rippe, R.A., 2006. Mechanism of liver fibrosis. *Clin. Chem. Acta* 364, 33–60.

Valdivia, A.G., Martinez, A., Damian, F.J., Quezada, T., Ortiz, R., Martinez, C., Llamas, J., Rodriguez, M.L., Yamamoto, L., Jaramillo, F., 2001. Efficacy

of N-acetylcysteine to reduce the effects of aflatoxin B1 intoxication in broiler chickens. *Poultry science* 80, 727-734.

Van den Berg H., Guido R., Aalt B. (1999). Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay capacity measurements of mixtures. *Food Chemistry*. 66:511-517.

Vieitez, E. R. N. E. S. T. O., & Ballester, A. N. T. O. N. I. O. (1972). Compuestos fenólicos y cumáricos en *Erica cinerea* L. *Anal. Inst. Bot. AJ Cavanilles*, 29, 129-142.

Villegas y Mertz (1970), VILLEGAS, E.; MERTZ, E.T. 1970. Screening technique used at CIMMYT for protein quality maize. *Technical Bull. No. 20 CIMMYT México*.

Wagner, G.J., 1982. Cellular y Subcellular Location in Plant Metabolism. *Recent advances in Phytochemistry* volume 16, 1-45.

Weibking, T.S., Ledoux, D.R., Bermudez, A.J., Turk, J.R., Rottinghaus, G.E., Wang, E., Merrill, A.H., 1993. Effects of feeding *Fusarium moniliforme* culture material, containing known levels of fumonisin B1, on the young broiler chick. *Poultry Science* 72, 456-466.

Wlodek P, Sokolowska M, Smolenski O, Wlodek L. 2002. The  $\gamma$ -glutamyltransferase activity y non-protein sulfhydryl compounds levels in rat kidney of different age groups. *Acta Biochimica Polonica*, 49: 501–507. Yameogo, C.W., Bengaly, M.D., Savadogo, A., Nikiema, P.A., Traore, S.A., 2011. Determination of chemical composition y nutritional values of *Moringa oleifera* leaves. *Pakistan Journal of Nutrition* 10, 264-268.

Yameogo CW, Bengaly MD, Savadogo A, Nikiema PA, Traore SA. Determination of chemical composition y nutritional values *Moringa oleifera* leaves. *Pak J Nutr* 2011; 10: 264–268.

Yang, R.-Y., Lin, S., Kuo, G., 2008. Content y distribution of flavonoids among 91 edible plant species. *Asia Pac J Clin Nutr* 17, 275-279.

Yang, R.Y., Tsou, S.C.S., Lee, T.C., Chang, L.C., Kuo, G., Lai, P.Y., 2006. *Moringa*, a novel plant rich in antioxidants, bioavailable iron, y nutrients, In: *Herbs: Challenges in Chemistry y Biology*, pp. 224-239.

Yarmuch, J., 2010. Pedro Castillo Yanez doctor had works published. *Revista Chilena De Cirugia* 62, 660-660.

Zapata Builes Wildeman y Fajardo Rincón Holtman, 2015; *Manual de Química sanguínea veterinaria*. Tomado de la web el 25 de marzo del 2015. [http://www.microclin.com/archivos/manual\\_de\\_quimica\\_sanguinea\\_veterinaria\\_Zapata\\_Fajardo.pdf](http://www.microclin.com/archivos/manual_de_quimica_sanguinea_veterinaria_Zapata_Fajardo.pdf)