

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA

**Efecto del reemplazo de la vitamina e por un
antioxidante natural (Annato extract) sobre los
parámetros productivos de pollo de engorde**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Castope Huamán Maribel

**Lima – Perú
2014**

DEDICATORIA

A JEHOVÁ DIOS por estar siempre a mi lado y mostrarme su gran amor cada día de mi vida.

A mi madre Gregoria que con su amor, consejos y apoyo es el motor que impulsa cada paso para lograr mis objetivos.

A mis queridas hermanas Beatriz y Jessica por confiar en mí y estar a mi lado en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

A todos los docentes de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Mayor de San Marcos.

Al equipo del laboratorio de patología aviar y en especial a mi querida y estimada directora de tesis la Dra. Eliana Icochea que con sus enseñanzas, consejos, apoyo y dedicación permitieron la finalización de este trabajo.

A mis grandes amigas y compañeras de estudio Ana Lucía, Theresa, Cindy, Janina, Giovanna y Gabriela por compartir conmigo tantas horas de estudio y diversión en nuestra facultad.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE CUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Sector avícola en el Perú.....	4
2.2. Nutrición de las aves.....	5
2.3. Vitaminas en avicultura	6
2.4. Clasificación de vitaminas.....	7
2.4.1. Vitaminas hidrosolubles	7
2.4.2. Vitaminas liposolubles.....	7
2.5. Vitamina E en la nutrición avícola	8
2.5.1. Historia de la vitamina E	9
2.5.2. Sinonimia.....	10
2.5.3. Estructura química	10
2.5.4. Fuente de la vitamina E	11
2.5.4.1. Vitamina E de origen natural.....	11
2.5.4.2. Vitamina E sintética comercial.....	12
2.5.5. Biogénesis de la vitamina E.....	13
2.5.6. Absorción y metabolismo	13
2.5.7. Funciones de la vitamina E en las aves.....	15
2.5.7.1. En el sistema inmunológico.....	16
2.5.7.2. Antioxidante natural	18
2.5.7.3. Otras funciones	19
2.6. Bixa Orellana (Achiote).....	19
2.6.1. Clasificación taxonómica.....	19

2.6.2.	Sinónimos	20
2.6.3.	Nombres comunes.....	20
2.6.4.	Historia.....	20
2.6.5.	Descripción botánica.....	21
2.6.6.	Constituyentes químicos	23
2.6.7.	Producción de achiote en el Perú	24
2.6.8.	Annato extract.....	25
2.6.8.1.	Uso como antioxidante natural	26
2.6.8.2.	Otros usos	28
2.6.8.3.	Toxicidad.....	29
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	31
3.1.	Lugar y tiempo de estudio	31
3.2.	Materiales	31
3.2.1.	Animales	31
3.2.2.	Alimento	32
3.2.3.	Programa de vacunación	32
3.2.4.	Equipos y Materiales	33
3.3.	Métodos	33
3.3.1.	Tamaño muestral.....	33
3.3.2.	Diseño experimental	34
3.3.3.	Manejo de las aves en el galpón experimental	34
3.4.	Parámetros de evaluación	35
3.4.1.	Peso corporal.....	35
3.4.2.	Ganancia de peso	35
3.4.3.	Consumo de alimento	35
3.4.4.	Índice de conversión alimenticia (ICA).....	36
3.4.5.	Porcentaje de mortalidad (%)	36
3.4.6.	Índice de Eficiencia Productivo Europeo (IEPE)	37
3.5.	Análisis de datos	37
IV.	RESULTADOS.....	38
4.1.	Peso corporal	38

4.2. Ganancia de peso acumulada.....	39
4.3. Consumo de alimento acumulado.....	40
4.4. Conversión alimenticia (ICA).....	41
4.5. Porcentaje de mortalidad (%)	42
4.6. Índice de Eficiencia Productivo Europeo (IEPE)	43
V. DISCUSIÓN	44
VI. CONCLUSIONES	49
VII. LITERATURA CITADA.....	50

RESUMEN

Se evaluó el efecto del uso del *annato extract* como antioxidante natural sobre la eficiencia productiva de pollos de engorde en comparación al uso de la vitamina E en 360 pollos machos de la línea Ross 308, siendo estos distribuidos al azar en tres tratamientos con tres repeticiones de 40 aves por tratamiento. El T1 fue el tratamiento control con una dieta a base de 100% vitamina E (10mg/Kg pv), T2 dieta conformada con 50% de *annato extract* (150 ppm) y 50% de vitamina E (10 mg/Kg pv), T3 dieta con 100% de *annato extract* (200 ppm). El registro de los datos se realizó desde la primera hasta la sexta semana de crianza evaluándose los parámetros productivos de peso corporal promedio, ganancia de peso acumulado, consumo de alimento acumulado, conversión alimenticia, mortalidad final y IEPE. A la sexta semana de crianza el T3 tuvo un peso corporal promedio (2877.7g) mayor que T1 (2867.3g) y T2 (2859g). La ganancia de peso acumulada del T3 (2833.98g) fue mayor que T1 (2822.91g) y T2 (2814.65). El consumo de alimento acumulado del T3 (3899.46g) fue mayor que T1 (3892.51g) y T2 (3908.02). La conversión alimenticia no mostró diferencia entre tratamientos. El porcentaje de mortalidad final para los tres tratamientos fue bajo (2.5%) y estuvo por debajo del estándar. El IEPE del T3 (492.98) fue ligeramente mayor que el T1 (490.32) y T2 (485.54). Según el análisis estadístico no se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los tres tratamientos para ninguno de los parámetros evaluados. Con estos resultados podemos concluir que el *annato extract* puede reemplazar eficientemente a la vitamina E en la alimentación de las aves.

Palabras Clave: dieta, vitamina E, *annato extract*, antioxidantes naturales.

ABSTRACT

Use of *annatto extract* as a natural antioxidant was evaluated upon productive efficiency in comparison with use vitamin E in 360 male broiler chickens Ross 308, this birds were randomly assigned into three different treatments who were tested in 3 trials for each treatment with 40 Ross broiler chickens. T1 was the control group and it used a diet based on 100% of vitamin E (10 mg / kg bw), T2 used a diet made with 50% extraction annatto (150 ppm) and 50% of vitamin E (10 mg / kg bw), T3 was a diet with 100% annatto extract (200 ppm). The data recording was taken from the first to the sixth week of breeding and the parameters evaluated were average body weight, cumulative weight gain, cumulative feed consumption, feed conversion, total mortality and IEPE. At the sixth week of breeding the T3 (2877.7g) obtained an average body weight higher than T1(2867.3g) and T2(2859g). The cumulative weight gain of T3 (2822.91g) was higher than T1 (2811.84g) and T2 (2803.58). The cumulative food consumption T3 (3899.46g) was higher than T1 (3892.51g) and T2 (3908.02). The feed conversion showed no difference between treatments. The percentage of total mortality for the three treatments (2.5%) was lower than the standard. The T3 EPEF obtained a slightly better production efficiency (492.98) than T1 (490.32) and T2 (485.54). According to statistical analysis no significant difference ($p < 0.05$) was found between the three treatments for any of the parameters evaluated. With these results we can conclude that the annatto extract can efficiently replace vitamin E into the diet of birds.

Keywords: diet, Vitamin E, annatto extract, natural antioxidant

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Peso corporal promedio semanal hasta la sexta semana de crianza

Pág. 39

Cuadro 2. Ganancia de peso acumulada semanal por ave hasta la sexta semana de crianza.

Pág. 40

Cuadro 3. Consumo de alimento acumulado semanal por ave hasta la sexta semana de crianza

Pág. 41

Cuadro 4. Conversión alimenticia semanal hasta la sexta semana de crianza

Pág. 41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química del α tocoferol (5, 7, 8- Trimetiltocol). Fuente: *Codoceo y Muñoz (1999)*.

Pág. 11

Figura 2. Porcentaje (%) de producción de achiote en el Perú por departamentos. Fuente: MINAG (2012)

Pág. 25

Figura 3. Estructura química de la Bixina (a) y norbixina (b). Fuente: *Febles et all. (2002)*

Pág. 27

Figura 4. Mortalidad (%) promedio de los tres tratamientos por semana. T1: tratamiento control con 100% de vitamina E; T2: tratamiento con 50% *annato extract* (150 ppm) y 50% de vitamina E; T3: 100% de *annato extract* (200 ppm)

Pág.42

Figura 5. Mortalidad (%) por semana por tratamientos hasta la sexta semana de crianza. T1: tratamiento control con 100% de vitamina E; T2: tratamiento con 50% *annato extract* (150 ppm) y 50% de vitamina E; T3: 100% de *annato extract* (200 ppm)

Pág. 43

I. INTRODUCCIÓN

La avicultura es una actividad que ha alcanzado grandes avances en las últimas décadas y esto se debe principalmente a la acción conjunta entre genética, nutrición, sanidad y manejo (Tavernari, 2008).

La nutrición es el proceso fisiológico, por el cual, el organismo del ave digiere el alimento, lo transforma en elementos simples que pueden ser absorbidos a través de los capilares sanguíneos y los transporta a los diferentes órganos del cuerpo donde son utilizados (Vaca, 2003).

La dieta de las aves está compuesta básicamente de una mezcla de varios ingredientes, granos de cereales, harina de soja, grasas, vitaminas y premezclas de minerales. Estos alimentos en conjunto con el agua proporcionan la energía y nutrientes esenciales para el crecimiento, reproducción y salud de las aves (Nutrient Requirements of Poultry, 1994). Las vitaminas se definen como compuestos orgánicos, necesarios en pequeñas cantidades, para el normal crecimiento y mantenimiento de la vida animal (Mc Donald, 1999).

La vitamina E funciona en el organismo animal fundamentalmente como antioxidante biológico; en conexión con la enzima glutatión peroxidasa, que contiene selenio, otras vitaminas y enzimas que contienen elementos traza, lo cual permite proteger a las células frente a las lesiones oxidativas provocadas por los radicales libres. Esta protección es

particularmente importante al evitar la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados, ya que la oxidación de estos origina hidroperóxidos, que lesionan los tejidos celulares, originando un incremento de radicales libres lipídicos, de manera que la prevención de dicha oxidación resulta de vital importancia para el mantenimiento de la salud de las aves (Mc Donald, 1999).

La vitamina E es uno de los principales nutrientes del alimento de las aves y es el mayor antioxidante natural activo utilizado en la alimentación animal (Tuoying, 2011). El uso de la vitamina E en la alimentación de las aves es considerado una práctica rutinaria, favoreciendo significativamente los parámetros de ganancia de peso y conversión alimenticia (Huerta *et al.* 2005).

El requerimiento básico actual de vitamina E para pollos de engorde es de 10 a 15 mg/Kg (National Research Council, 1994). A fin de lograr el máximo potencial de las funciones de la vitamina E, a nivel comercial se establecen comúnmente entre 5-10 veces los requerimientos fijados por National Research Council (NRC). Por consiguiente, la vitamina E se ha convertido en la vitamina de mayor costo en la dieta avícola. Esto contribuye aproximadamente al 24% del total del costo de la premezcla vitamínica y es el cuarto ingrediente más costoso de las dietas para las aves (Tuoying, 2011).

Es por esta razón que en la actualidad se busca la utilización de fuentes alternativas de compuestos naturales con propiedades antioxidantes (Carrera, 2004). El *annato extract* que se obtiene del extracto de la planta *Bixa Orellana* conocida comúnmente en nuestro país como “achiote”, contiene gran cantidad de carotenoides expresados en forma de provitamina A, lo cual indicaría la elevada capacidad antioxidante de esta planta (Encizo *et al.* 2009).

Los estudios de toxicidad aguda realizados para extractos de *Bixa* han demostrado su baja toxicidad. Un estudio realizado en ratas Wistar a las cuales se les administró una dosis 2 000 mg/kg/día de *Bixa*, demostró que era prácticamente inocuo. Por otra parte, un estudio de tolerancia cutánea en conejos realizado con un extracto de *Bixa orellana*, no mostró

alteraciones significativas, lo cual fue confirmado mediante estudios histológicos de muestras de piel y cabello (Lourido, 2010). El presente estudio evaluó el uso del producto *annato extract* como antioxidante natural, sobre la eficiencia productiva de pollos de engorde en comparación a un producto comercial de vitamina E.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Sector avícola en el Perú

La industria avícola del mundo ha cambiado en los últimos 50 años más que cualquier otro sector de la producción animal. El consumo mundial de los productos avícolas ha ido creciendo más allá del ritmo de crecimiento de la población mundial y continúa dando signos de crecimiento (Mann *et al.* 2002).

En los últimos años el sector avícola peruano ha tomado impulso y se ha lanzado hacia un crecimiento constante, constituyéndose en el sector pecuario más importante del país cuya tarea es cubrir la gran demanda nacional de carne aviar. En el año 2012 las empresas avícolas en el Perú registraron una crianza de unas 570 millones de aves, cifra récord en la producción del sector (APA, 2012).

Solo al año esta industria mueve alrededor de 4,4000 millones de soles y representa en el Perú el 23% del PBI Agropecuario, el 56% del total de la producción agropecuaria y cerca del 2.5% del PBI nacional; dando empleo a 280,000 personas directamente y a más de un millón indirectamente, y aportando cerca del 70% de proteína animal consumida en el país (APA, 2012).

2.2 Nutrición de las aves

El alimento es un componente muy importante del costo total de producción del pollo de engorde. Con el objeto de respaldar un rendimiento óptimo, es necesario formular las raciones para proporcionar a las aves el balance correcto de energía, proteína, aminoácidos, minerales, vitaminas y ácidos grasos esenciales (Ross suplemento de nutrición del Pollo de engorde, 2012).

El factor nutrición es donde recae el mayor costo de la avicultura, representando la alimentación un 60-70% de los costos de producir un Kg de carne; y consecuentemente, haciendo que los costos de producción sean sensibles a las variaciones en la eficiencia de las raciones (APA, 2012).

Es importante conocer los conceptos básicos de alimentación y nutrición. La alimentación es el proceso de poner a disposición del ave los elementos nutricionales para que esta los ingiera. La nutrición es el proceso fisiológico subsiguiente, por el cual, el organismo del ave los digiere, los transforma en elementos simples que pueden ser absorbidos a través de los capilares sanguíneos y transportados a aquellas partes del cuerpo donde son utilizados (Vaca, 2003).

Actualmente el sector avícola es consciente de los elevados índices productivos que alcanzan los pollos de crecimiento rápido, variando su conformación, el consumo de alimento y la conversión alimenticia, etc. Por lo cual las necesidades nutricionales también han variado, siendo necesario adecuar la suplementación vitamínica que aportamos en las dietas (Martínez, 2009).

La dieta de las aves está compuesta básicamente de una mezcla de varios ingredientes como granos de cereales, harina de soja, grasas, vitaminas y premezclas de minerales. Estos alimentos en conjunto con el agua proporcionan la energía y nutrientes esenciales para el crecimiento, reproducción y salud de las aves (Nutrient Requirements of Poultry, 1994).

2.3 Vitaminas en Avicultura

Las vitaminas juegan un papel decisivo en la nutrición de las aves, como catalizadores orgánicos presentes en pequeñas cantidades en la mayoría de los alimentos (Barroeta *et al.* 2002). El término “vitamina” fue acuñado por el bioquímico polaco Casimir Funk, en 1911. La palabra “Vitamina” la inventó tomando el latín “Vita” (Vida) y “Amina” (Sustancia derivada del amoniaco). De ahí tenemos la palabra “Vitamina” (Coscojuela y López, 2013).

Son moléculas orgánicas que el cuerpo necesita para el adecuado funcionamiento del metabolismo. Participan en la formación de hormonas, células sanguíneas, sustancias químicas del sistema nervioso y material genético (Pardo, 2004).

Las vitaminas se deben suplementar en los concentrados de aves, porque las materias no las contienen en cantidades suficientes y las aves no las pueden sintetizar a excepción de la vitamina C (Barroeta *et al.* 2002). Se encuentran presentes en los alimentos naturales, ya que son sintetizados por plantas y microorganismos (Codoceo y Muñoz, 1999).

Se agrupan en forma conjunta no debido a que se relacionan químicamente o porque tengan funciones fisiológicas semejante, sino debido, como lo implica su nombre, a que son factores vitales en la dieta y porque todas se descubrieron en relación con las enfermedades que causan su carencia (FAO, 2013).

El descubrimiento y aislamiento de la mayoría de las vitaminas se consiguió a partir de trabajos de investigación realizados con ratas que recibían dietas preparadas con principios inmediatos purificados, proteínas, grasas, y carbohidratos, suplementadas con sales minerales. Empleando esta técnica, Hopkins demostró, en 1912, que las dietas sintéticas de ese tipo eran inadecuadas para el crecimiento normal de la rata, y que al suplementar la dieta con una pequeña cantidad de leche, los animales se desarrollaban perfectamente. De este modo se comprobó que existía algún factor, esencial (o más de un factor), que no se encontraba en la dieta purificada (Marcus y Coulston, 1999).

Las necesidades de vitaminas para los distintos procesos metabólicos también varían en función de la composición de la dieta. La suplementación vitamínica que se recomienda para las aves de producción suele estar basada en las recomendaciones nutricionales de NRC (National Research Council, 1994), fundamentada, a su vez, en los trabajos de investigación que se realizaron entre las décadas de los 60 a los 80 del siglo pasado (Martínez, 2009).

2.4 Clasificación de vitaminas

Cuando se clasificó a las vitaminas por primera vez, a cada una se la denominó con un letra del alfabeto. Después, ha habido la tendencia a cambiar las letras por nombres químicos. El uso del nombre químico se justifica cuando la vitamina tiene una fórmula química conocida, como con las principales vitaminas del grupo B. Sin embargo, es conveniente incluir ciertas vitaminas en un mismo grupo, inclusive aunque no se relacionen químicamente, pues tienden a aparecer en los mismos alimentos (FAO, 2013).

Tradicionalmente las vitaminas se han clasificado, según un criterio de solubilidad, en vitaminas hidrosolubles y vitaminas liposolubles (Codoceo y Muñoz, 1999).

2.4.1 Vitaminas hidrosolubles

Debido a su solubilidad en agua, se excretan en la orina, de modo que rara vez se acumulan en concentraciones tóxicas. Actualmente las vitaminas hidrosolubles se conciben desde el punto de vista de su acción coenzimática. Por esta razón las vitaminas hidrosolubles se clasifican en coenzimas de transporte electrónico o de oxidorreducción y coenzimas de transferencia de grupos (Codoceo y Muñoz, 1999).

2.4.2 Vitaminas liposolubles

Las vitaminas liposolubles A, D, E y K son un grupo de compuestos orgánicos heterogéneos necesarios para el funcionamiento del organismo, y que tienen distinto papel fisiológico. Son vitaminas solubles en los lípidos y solventes orgánicos. Para una eficiente absorción requieren de ácidos grasos, de la bilis, enzimas lipolíticas del páncreas y mucosa

intestinal. Son transportadas por proteínas específicas: cuando los niveles proteicos se alteran también lo hacen los niveles vitamínicos. Son compuestos esenciales, puesto que el organismo no puede sintetizarlas (Sayago *et al.* 2007).

Las vitaminas liposolubles se almacenan en la grasa corporal como el tejido adiposo, debido al consumo elevado durante periodos más largos de tiempo. En el ser humano, estas vitaminas se pueden transferir de manera transplacentaria durante el embarazo y puede modular las necesidades dietéticas durante los primeros meses de vida (Thompkinson y Kharb, 2007).

Se encuentran en insumos como el maíz (porción germinal, donde se concentra la mayoría de lípidos) y la soya. En ocasiones, están presentes bajo la forma de provitamina (caroteno, colesterol, tocoferol, etc.), transformándose en vitamina en el tubo digestivo o en los tejidos, luego de ser absorbida por el animal. Son almacenadas en los organismos en cantidades apreciables. Los animales adultos producen más cantidad de vitaminas en el tubo digestivo, ya que poseen una flora variada y establecida, en contraste con los pollos bebes (Rivera y Llaque, 2014).

2.5 Vitamina E en la nutrición avícola

En las últimas décadas se han realizado investigaciones intensivas sobre aves para evaluar el papel que desempeña la vitamina E en la producción, reproducción, inmunomodulación, resistencia a las enfermedades y mejoramiento de la calidad de los productos avícolas (Tuoying, 2011).

Actualmente, el uso de la vitamina E en la alimentación de las aves es considerado una práctica rutinaria, favoreciendo significativamente los parámetros de ganancia de peso y conversión alimenticia (Huerta *et al.* 2005).

El requerimiento básico de vitamina E del pollo de engorde es de 10 a 15 mg/Kg. Mediante la suplementación de altos niveles de vitamina E se puede obtener un mejoramiento significativo de la estabilidad oxidativa de carnes. La necesidad de suplementación extra dependerá del nivel y el tipo de grasa de la dieta de su contenido de selenio y de la presencia de agentes pro y antioxidantes (Ross suplemento de nutrición del Pollo de engorde, 2012).

Las recomendaciones del NRC son requerimientos mínimos para la supervivencia de cada especie y se han obtenido con dietas sintéticas por lo tanto los niveles de vitaminas recomendados son muy bajos. Por ello, por debajo de dichos niveles, la probabilidad de que aparezcan problemas es elevada (Selecciones Avícolas, 2013).

A nivel comercial se establecen comúnmente entre 5-10 veces los requerimientos de la vitamina E fijados por el NRC. Por consiguiente, la vitamina E se ha convertido en la vitamina de mayor costo en la dieta avícola. Esto contribuye aproximadamente al 24% del total del costo de la premezcla vitamínica y es el cuarto ingrediente más costoso de las dietas para las aves (Tuoying, 2011).

2.5.1 Historia de la vitamina E

En 1922, los estadounidenses Hebert Mclean Evans y Katherine Bishop demostraron por primera vez la existencia de la vitamina E (Coscojuela y López, 2013). Hallaron que las ratas hembras requerían un principio en la dieta no identificado entonces para tener una preñez normal; se encontró que las hembras con deficiencia presentaban ovulación y concepción normales, pero al mismo tiempo, durante el periodo de gestación, ocurría muerte y resorción de los fetos. También se describieron lesiones en los testículos, durante un tiempo, la vitamina E se denominó como la “Vitamina contra la esterilidad” (Marcus y Coulston, 1999).

En 1925 Evans, sugirió la adopción de la letra “E” para nombrar a este factor dietético por su proximidad dentro de la serie alfabética, a la designación de la vitamina antirraquítica D (Codoceo y Muñoz, 1999).

En 1936 la sustancia activa fue aislada de aceite de germen de trigo por Evans y colaboradores. Además se le añadió el sufijo-ol designado a la forma activa alcohol (Coscojuela y López, 2013).

En 1938, Erhard Fernholz describe la estructura de la vitamina E, mediante la degradación térmica de la vitamina, y mostró que contenía una cadena fitilo y un resto de hidroquinona, y sugirió una estructura de la vitamina, más adelante demostrando que este aislamiento fue correcto. En este mismo año, los suizos Karrer y John lograron sintetizar la vitamina E denominándola dl- α -tocoferol (García y Salvanechi, 2011).

La estructura de la vitamina E se determinó posteriormente y se le dio el nombre de Tocoferol, del griego tokos: nacimiento y pherein: llevar, portar (Coscojuela y López, 2013). Por lo que tocoferol (TOR) significa literalmente “Tener hijos” (García y Salvanechi, 2011).

2.5.2 Sinonimia

Factor X, α - Tocoferol, 5-7-8 Trimetiltoicol, Vitamina antiesterilizante (Coscojuela y López, 2013).

2.5.3 Estructura química

La vitamina E está conformada por un grupo de 8 vitámeros. Su estructura consta de 2 partes primarias: un anillo complejo cromano, con propiedades redox que es el responsable de su capacidad antioxidante, y una larga cadena lateral (Sayago *et al.* 2007). La vitamina E es un término genérico que representa una familia de compuestos que se pueden dividir en dos grupos, los tocoferoles y los tocotrienoles sobre la base del grado de saturación de sus cadenas laterales (Gould *et al.* 1991).

Se diferencian en la saturación de la cadena lateral; los tocoferoles tienen una cadena saturada y los tocotrienoles una insaturada con 3 dobles enlaces en los carbonos 3, 7 y 11. Dentro de cada grupo, los vitámeros difieren en el número y posición de los grupos metilo en el anillo cromano, designándose como α , β , γ , δ (Sayago *et al.* 2007).

Se considera que el α -tocoferol (5, 7, 8-trimetiltocol) es el tocoferol de mayor importancia, ya que constituye alrededor de 90% de los tocoferoles en tejidos de animales, y muestra la mayor actividad biológica en casi todos los sistemas de biovaloración (Figura 1) (Marcus y Coulston, 1999).

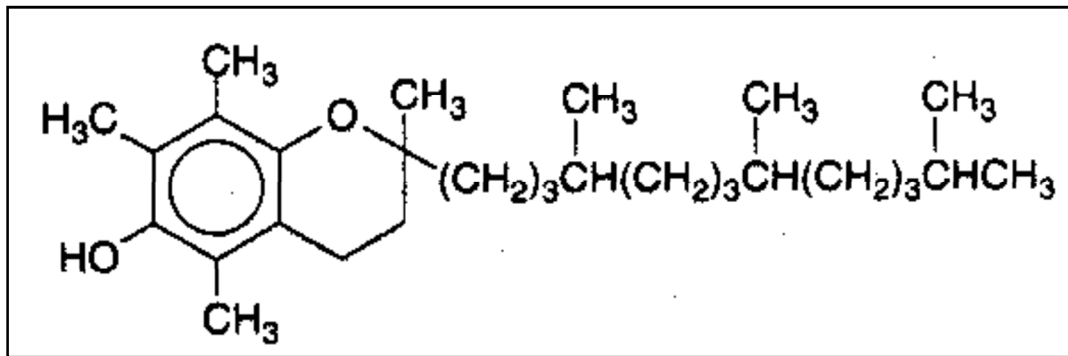


Figura 1. Estructura química del α tocoferol (5, 7, 8- Trimetiltocol). Fuente: *Codoceo y Muñoz (1999)*.

2.5.4 Fuentes de vitamina E

2.5.4.1 Vitamina E de origen natural

La vitamina E de fuente natural: RRR α -tocoferol, se obtiene mediante la extracción de los tocoferoles de los aceites vegetales (soja, palma, girasol, etc). Sólo es una forma isomérica y es la forma con el 100% de bioactividad (Coscojuela y López, 2013).

Se encuentra en una gran variedad de alimentos y es una de las vitaminas de más amplia distribución. Se encuentra principalmente en los aceites vegetales (soja, maíz, algodón y girasol), granos, plantas y en el tejido adiposo de los animales. Se localiza principalmente en las hojas y partes verdes de las plantas, que contienen más α -Tocoferol

que las partes amarillas, mientras que el γ -Tocoferol se encuentra en bajas concentraciones. También se encuentran en las algas marrones, verdes y rojas, en algunas levaduras y hongos, pero no en las bacterias. La mantequilla, el huevo, los guisantes secos, los chícharos, garbanzos, las lentejas y los cereales tales como la avena y el arroz integral tienen también un alto contenido de este compuesto (Pita, 1997).

Una de las fuentes dietéticas más concentradas de vitamina E es el aceite de germen de trigo que contiene más de 1 gramo por Kg (Cadenas *et al.* 1996). Su presencia en el maíz puede variar de 10 a 40 UI/Kg dependiendo de la variedad de maíz, fertilizante usado, estado de maduración, secado y almacenaje (Rivera y Llaque, 2014).

2.5.4.2 Vitamina E sintética comercial

Las formas comerciales de vitamina E contienen el RRR- α -tocoferol natural y el α -tocoferol sintético, o bien una mezcla de ambos. El isómero α -tocoferol posee la mayor actividad de vitamina E en los animales (Galli, 2010).

La primera producción de α -tocoferol sintética era una mezcla equimolar de dos isómeros: RRR y SRR- α -tocoferol. Este compuesto es nombrado como 2-ambo- α -tocoferol, aunque antes se le conocía como dl- α -tocoferol. Esta es la molécula considerada el estándar internacional para la vitamina E, hasta los años 80 (Brigelius-Flohé *et al.* 2002).

Posteriormente, el proceso de síntesis de la vitamina E varió, dando como resultado el actual all-rac- α -tocoferil acetato, el cual tiene ocho estereoisómeros (RRR, RRS, RSR, RSS, SRR, SRS, SSR, SSS), que se siguió, y se sigue, llamando, aunque incorrectamente, dl- α -tocoferil acetato. De esta forma, el producto sintético actual no se corresponde al producto sintético con el que se dedujeron los ratios de equivalencia clásicos (Coscojuela y López, 2013).

El 60% de la vitamina E sintética es excretada directamente sin utilización, de manera que de 300 mg ingeridos por los broilers, en 42 días de vida, 180 mg de all-rac-alfa-tocoferil acetato aparecen en las heces (Galli, 2010).

En 1982, la IUPAC (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada) recomendó que la fuente natural de vitamina E sea llamada RRR-alfa-tocoferol/RRR-alfa-tocoferil acetato, mientras que la vitamina E sintética debería ser llamada all-rac-alfa-tocoferol/all-rac-alfa-tocoferil acetato (Coscojuela y López, 2013).

2.5.5 Biogénesis de la vitamina E

Los tocotrienoles surgen de la condensación del ácido homogentísico (HGA) y el geranil-geranil difosfato (GGDP), reacción catalizada por la enzima homegentísico geranil-geranil transferasa (HGGT) dando origen al 2-metil-6-geranil geranilbenzoquinol. Por otra parte la síntesis de los tocoferoles se basa en la condensación del ácido homogentísico (HGA) con el fitol difosfato (PDP), reacción catalizada por la enzima homogentísico fitol transferasa (HPT) dando lugar a la formación del 2-metil-6-fitolbenzoquinol (Cahoon *et al.* 2003).

El 2-metil-6-geranil geranilbenzoquinol y el 2-metil-6-fitolbenzoquinol, obtenidos en estas reacciones sufren una serie de reacciones de metilación y ciclación formando las moléculas de α -tocotrienol y α -tocoferol respectivamente (Brigelius-Flohé *et al.* 2002)

Los principales productos de degradación de la vitamina E son la tocoferilquinona y la tocoferilhidroquinona, dímeros, trímeros y algunas sustancias solubles en agua. Estos compuestos se excretan fundamentalmente a través de las heces (Sayago *et al.* 2007)

2.5.6 Absorción y metabolismo

El mecanismo por el cual la vitamina E es absorbida y transportada en el plasma son bien conocidos, sin embargo, su transporte intracelular no es bien conocida. La vitamina E requiere de un sistema de transporte en ambientes acuosos del plasma, en el espacio extracelular, y citoplasma de la célula debido a su hidrofobicidad (Dutta-Roy *et al.* 1994).

La absorción se produce principalmente en el tercio superior y medio del intestino delgado de los animales. Solo del 20 al 50% de la dosis ingerida es absorbida en el intestino delgado por difusión pasiva (Berg, 2010).

Su absorción está ligada a la simultánea digestión y absorción de la grasa alimentaria, habiéndose observado que los triglicéridos de cadena media incrementan esta absorción mientras que los ácidos grasos poliinsaturados la inhiben (Mataix y Ochoa, 2002).

Una vez atravesado el lumen intestinal es transportada por las lipoproteínas y eritrocitos encontrándose niveles significativos de esta vitamina en las membranas de estos últimos (Gerald y Combs, 1992).

Las proteínas con capacidad de unión para α -TOH se han descrito en el citosol, y fracción nuclear, que puede funcionar como portadores para intermembrana α -TOH. El grupo en el anillo cromanol de α -TOH puede ser importante para el proceso de transferencia entre los orgánulos de la célula (Dutta-Roy *et al.* 1994).

Dentro del enterocito, la α y γ - tocoferol no esterificado son incorporados en los quilomicrones junto con otros lípidos y apoproteínas. Los quilomicrones son secretados a los espacios intercelulares y transportados vía linfática mesentérica y ducto torácico dentro de la circulación donde la lipoproteína lipasa (LPL) y triglicérido lipasa hepática (TLH) hidrolizan los triglicéridos. La α y el γ - tocoferol permanecen en los quilomicrones remanentes y son transportados al hígado. Entre 25-30% de la vitamina absorbida de la dieta se encuentra en la linfa. El tocoferol esterificado es previamente hidrolizado a tocoferol libre, en el lumen del intestino y la mucosa, a través de las esterasas pancreáticas e intestinales. (Sayago *et al.* 2007).

Los estudios han demostrado que la bilis y la secreción pancreática son esenciales para la hidrólisis de los triglicéridos por las lipasas pancreáticas facilitando así la absorción de la vitamina E. Su retención hística es dependiente de la proteína transportadora y de su actividad biológica (Pita, 1997).

El tocoferol circulante es acumulado lentamente por los diferentes tejidos, incorporándose a las membranas de las células junto al colesterol y los fosfolípidos (Mataix y Ochoa, 2002).

El α -tocoferol y su esteroisómero natural (d- α -tocoferol) son preferentemente secretados como componentes de la VLDL y quizás de las HDL. Una proteína citosólica hepática llamada proteína transportadora del tocoferol (TTP) se une al esteroisómero natural del α -tocoferol (Codoceo y Muñoz, 1999).

La α -TOH se toma por todos los tejidos del cuerpo y se concentra en la membrana que contiene las estructuras de las células, como las mitocondrias, los cromosomas, núcleo y la membrana plasmática (Rooyen, 1999).

Estudios recientes han demostrado que la aparente vida media en plasma de la forma RRR-alfa-tocoferol de vitamina E es de 48 horas (Mireles, 2000).

Esta proteína (TTP) también permite que otras formas de vitamina E puedan ser degradadas en los microsomas y lisosomas hepáticos, y excretadas en la bilis. Normalmente, la vitamina E secretada por el hepatocito dentro de la VLDL, es transferida a otras lipoproteínas circulantes durante el catabolismo de la VLDL por la LPLasa, o permanece en las lipoproteínas intermedias resultantes y la LDL (Codoceo y Muñoz, 1999).

El tejido adiposo, el hígado y el músculo son áreas importantes para el depósito de esta vitamina encontrándose los niveles más altos en los tejidos finos (Gerald, 1992).

2.5.7 Funciones de la vitamina E en las aves

El estudio de las funciones fisiológicas de la vitamina E comenzó hace más de cien años y ha generado cientos de trabajos científicos; sin embargo, aún hay muchos aspectos de sus acciones que permanecen poco claros (Galli, 2010).

Existen varias teorías acerca de la función de la vitamina E en el organismo, siendo la más aceptada que la vitamina E actúa coordinada con otras moléculas y enzimas para la defensa de las células (especialmente glóbulos rojos, células musculares y células nerviosas) frente a los efectos nocivos producidos por los radicales libres, considerándose actualmente un importante antioxidante que aporta sustanciales beneficios al organismo (Gerald, 1992).

2.5.7.1 En el sistema inmunológico

La respuesta inmune está contenida en dos actividades interdependientes: La respuesta mediada de las células y la inmunidad humoral. La vitamina E desempeña un papel en ambas respuestas (Agro y veterinaria, 2013).

Las bajas concentraciones de vitamina E se asocian con la desestabilización de las membranas de las células del sistema inmune, la disminución de la hipersensibilidad retardada y con la disminución de la producción de inmunoglobulina. Se asocia además con la disminución de la inmunidad mediada por células y de la producción de interleucina-2 (IL-2) (Pita, 1997). Con la edad resultan alterados los niveles de las citoquinas IL-2 e IL-6. La IL-2 se encuentra disminuida, mientras que el incremento de la IL-6 ha sido asociado con un aumento del estrés oxidativo, relacionado a su vez con una deficiencia de vitamina E (Flebes *et al.* 2002).

En primer lugar tenemos la protección de las membranas celulares contra los compuestos oxidantes que se producen durante una respuesta inicial mediada por las células. Los radicales libres, como el óxido y el súper óxido nítricos, producidos por la inmunidad celular en respuesta a agentes invasores, aumentan en gran medida los daños potenciales que los tejidos del huésped sufren por la oxidación. La vitamina E actúa deteniendo la reacción en cadena iniciada por los radicales libres y en consecuencia disminuye el anión superóxido, estimulando de esta manera un incremento en la biodisponibilidad del óxido nítrico (NO) (Berg, 2010).

En segundo lugar, la vitamina E inhibe la producción de prostaglandina PGE₂, que disminuye (o suprime) la inmunidad celular. De esta manera, si la administración de vitamina E es suficiente, se prolonga la duración de la respuesta mediada por las células, con lo que aumenta su efectividad (Agro y veterinaria, 2013).

En un estudio con pollos se demostró que la vitamina E suplementaria (300mg/Kg de dieta) disminuyó la concentración de prostaglandinas en los órganos hematopoyéticos y aumentó la producción de anticuerpos en respuesta a una infección con *E. coli*. La protección inmunitaria en aves está fuertemente correlacionada con la concentración de prostaglandinas. A mayor concentración de prostaglandinas particularmente PGE₁, PGE₂ Y PGF₂ α , mayor es la inmunosupresión. Los autores sugirieron que la actividad de la vitamina E para mejorar la respuesta inmunitaria y proteger frente a infecciones es mediada por una reducción de la síntesis de prostaglandinas en pollos infectados. Esta hipótesis se confirmó en pavos, en los que la síntesis de prostaglandinas disminuyó con la administración de 360 ppm de vitamina E (Weber, 1995).

Los trabajos realizados por Colnago *et al.*, en 1984 demostraron la importancia de las vitaminas en la respuesta inmune frente a infestaciones parasitarias, principalmente coccidiosis. Niveles más altos de vitamina E en la dieta tienen efecto indirectamente proporcional sobre la mortalidad en casos de exposición a *E. Tenella* (Rivera, 2014).

La importancia de niveles altos de la vitamina E en la respuesta inmune de base humoral en pollos, fue cuantificada por Franchini *et al.*, en 1986 estudiando la cinética de anticuerpos tras la aplicación de la vacuna inactivada frente a la enfermedad de Newcastle en los lotes alimentados con distintos niveles de vitamina (100, 200 y 300 ppm). A los 48 horas post vacunación, los niveles de anticuerpos cuantificados por inhibición de la Hemoaglutinación fueron significativamente superiores, con títulos de 4,5, en aquellas aves que recibieron los niveles más altos de vitamina E en comparación de aquellas aves alimentadas con niveles inferiores se observaron títulos de 3,7 (Martínez, 2009).

Finalmente, la vitamina E mantiene la fluidez de las membranas que desempeñan un papel en el reconocimiento de los antígenos, la respuesta celular y la reparación de las membranas. Muy recientemente se ha reportado que la vitamina E altera favorablemente la proliferación y proporción de células T coadyuvantes y de células citotóxicas, además de mejorar la respuesta por anticuerpos de los pollos (Agro y veterinaria, 2013).

Estos efectos adquieren relevancia en el envejecimiento, ya que ha sido reconocido que en los mamíferos tiene lugar una disminución progresiva de la actividad del sistema inmune, a medida que se incrementa la edad (Febles *et al.*, 2002).

2.5.7.2 Antioxidante natural

La vitamina E suele ser el principal antioxidante de las membranas en las células animales. Su actividad antioxidante se debe al carácter reductor del grupo hidroxilo de su anillo cromanol (Camps, 2010). La vitamina E funciona *in vivo* como un antioxidante que protege a los lípidos tisulares del ataque de los radicales libres. Los radicales peroxilos (LOO^0) pueden generarse, por ejemplo, a partir de los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de las membranas o en las lipoproteínas después de la pérdida de hidrógenos (proceso llamado iniciación) y la adición de una molécula de oxígeno (Febles *et al.* 2002).

Los tocoferoles al reaccionar con los radicales peroxilos lipídicos generan hidroperóxido lipídicos relativamente estables. Los radicales tocoferilos interrumpen la reacción radicalica en cadena, por lo que protegen de la peroxidación lipídica (Cadenas *et al.* 1996).

Los tocoferoles interrumpen las reacciones en cadena mediante una autoxidación con la donación de un hidrógeno al radical peroxilo originando un radical ariloxilo y un hidroperóxido (reacción I). Los radicales ariloxilo resultantes se estabilizan por deslocalización electrónica de la estructura fenólica, reaccionando fácilmente con otros radicales peroxilo para formar productos estables (reacción II), resultando poco probable que se tomen átomos de hidrógeno de moléculas lipídicas intactas (Sayago, 2007).

Debido a su efecto preventivo sobre la oxidación celular, tiene la capacidad de proteger a la carne de procesos de oxidación y el consiguiente deterioro del producto final (Rivera, 2014). De hecho, en plasma y en eritrocitos, la vitamina E es el principal antioxidante liposoluble que protege los lípidos contra el daño oxidativo (Cadenas *et al.* 1996).

2.5.7.3 Otras funciones

La vitamina E, específicamente el succinato de α -tocoferol, su forma más activa, puede inducir apoptosis directa o indirectamente en las células tumorales, dependiendo de la dosis, del periodo de exposición y del tipo de células (Febles, 2002).

2.6 Bixa Orellana (Achiote)

Linneo utilizó dos términos que tienen importancia histórica y quizás es por eso que su denominación original es la que ha persistido: le llamó *Bixa orellana*. Bixa porque ese fue el nombre indígena original que los hombres de colon encontraron en la Isla Española (ahora Santo Domingo) y la apellidó orellana en honor al aventurero socio de Pizarro que descubrió el Amazonas. La voz achiote es un nahuatlismo que significa “semilla brillante” o “semilla grasa”, el nombre bija proviene del dialecto de los indios arahuac, que viven en Brasil y Venezuela que significa “de color rojo” (Rueda y Niño, 2004).

2.6.1 Clasificación taxonómica

Según la clasificación botánica, la especie *Bixa orellana* pertenece a:

División: Embriofita

Sub División: Diploidalia

Sección: Espermatofita (Fanerógamas)

Sub Sección: Angiosperma

Clase: Dicotiledonea

Sub Clase: Arquiclamidea

Orden: Parietales

Familia: Bixaceas

Género: Bixa

Especie: *Bixa orellana* L

2.6.2 Sinónimos:

Bixa acuminata Bojer, *Bixa americana* Poirlet in Lam., *Bixa odorata* Ruiz & Pav. ex G. Don, *Bixa platycarpa* Ruiz & Pav. ex G. Don, *Bixatinctoria* Salisb., *Bixa upatensis* Ram. Goyena, *Bixa urucurana* Willd., *Orellana americana* Kuntze, *Orellana Orellana* (L.) Kuntze (Plant Finder, 2014).

2.6.3 Nombres comunes

En México, Axiotl (náhuatl), acanguarica, auauí, ornato, uruca, recaudo rojo, Kiui, dúxub, bosh, achiotillo, cuypuc, chancuarica, pamuca, bia, achut; en Brasil, Argentina, Galicia y Portugal se le conoce como Urucú; en Francia como Rocuyer; en Estados Unidos como annatto lipsticktree; y en otros países como bija, uñañé, onoto, eroyá, chancanguarica, pumacoa, rocou, chagerica, orellana, ranota (Rodríguez, 2013).

2.6.4 Historia

El achiote (*Bixa Orellana*) se cree que fue domesticada a partir de *Bixa excelsa*, un árbol silvestre de la misma familia (Bixaceae) que crece en los bosques tropicales de Sudamérica (Encizo *et al.* 2009).

El achiote es originario de América Tropical, lo podemos encontrar desde México a lo largo de América Central, hasta Brasil, Bolivia, Perú y Ecuador (Cordero *et al.*, 2003). Prospera en zonas tropicales y se adapta a distintos tipos de clima y suelos (Rodríguez, 2013).

En el Perú, la *Bixa orellana* se encuentra en la parte montañosa de los departamentos de Amazonas, Cusco, Ayacucho y San Martín (Huamán et al., 2009). Según Joseph Grumilla, el anoto o achiote, era el árbol más estimado de los indígenas americanos pues lo utilizaban de diferentes formas (Arango, 2006).

Los activos exploradores y navegantes ibéricos la llevaron a las Filipinas, de ahí pasó a Indonesia vía las Molucas y de allí a la India. Pero también fue directamente a España, el Mediterráneo, Medio Oriente y por último África y la India. Ahora se le conoce en todo el orbe tropical y es silvestre en la mayor parte de las regiones mencionadas. El achiote es por eso una planta pan-tropical (Rueda y Niño, 2004).

Soporta temperaturas de 24 hasta 35 °C, sin heladas, y precipitaciones anuales de 1000 a 1200 mm (Rodríguez, 2013). La especie puede adaptarse a diferentes altitudes, desde el nivel del mar hasta los 1400 m. A mayores altitudes la especie crece lentamente y podría sufrir daños por frío (Cordero et al. 2003).

2.6.5 Descripción botánica

En la Amazonía Peruana existe una gran variabilidad genética de la especie *Bixa orellana* L., esta información se fundamenta en las 58 colecciones que se han realizado en diferentes lugares de la Selva Peruana, en las cuales se pueden observar una gran diversidad en lo que se refiere a: hábito de crecimiento (arbustos y árboles); coloración del tallo (gris, anaranjado y marrón); color de las hojas (verdes con diferentes tonalidades y violetas); color de las flores (blancas y violetas con diferentes tonalidades); color de los frutos (verdes con diferentes tonalidades; amarillo con diferentes tonalidades, anaranjado, rojo con diferentes tonalidades, marrón y negro); forma de los frutos (ovoide, redondo elíptico y cónico); espinosidad de los frutos (sin espinas, muy baja, baja, alta y muy alta espinosidad); longitud de las espinas (muy cortas, cortas, largas y muy largas); número de semillas por fruto, etc. (Gonzales, 1992).

El achiote es una planta muy coposa, que produce en cada cogollo primero un ramillete de flores blancas medio encarnadas y de cada ramillete salen racimos de frutas encarnadas de cáscaras ásperas y espinosas, dentro de la cual maduran dos o tres de ellas (Arango, 2006).

Las hay de colores rosados, morados y también blanco (Palacios et al., 2007). Es una planta cultivada, perenne, que mide entre 3 y 10 metros de altura (Rodríguez, 2013) y diámetros de 10-30 cm, con numerosas ramas (Cordero *et al.*, 2003) con tronco de corteza lisa de color gris verdoso y abundantes lenticelas (Arango, 2006).

Sus hojas son simple, grandes, de formas acorazonadas y dispuestas de manera alterna, de bordes lisos y con largos pecíolos (Rodríguez, 2013).

Las flores son hermafroditas y están dispuestas en ramilletes terminales (Rodríguez, 2013), de color blanco, rosado o morado, creciendo en racimos (Cordero *et al.*, 2003). Poseen 5 pétalos, 5 sépalos y numerosos estambres productores de polen (Palacios *et al.*, 2007).

El fruto es una capsula ovoide u ovoide-globosa, pardo-rojiza, que mide de 2 a 5 centímetros de diámetro, puede tener espínulas sedosas (escasas o abundantes) o carecer de ellas. Puede ser de color naranja, verde, amarillo, rojo o poseer diferentes tonalidades entre éstos (Cordero *et al.*, 2003). Cada fruto contiene de 10 hasta 70 o más semillas, dependiendo de la variedad son casi triangulares y pequeñas, rodeadas con una sustancia viscosa de color rojo vivo que contiene la bixina (Rodríguez, 2013).

En su madurez, las hojas se tornan algo coriáceas (caen del árbol en forma natural) especialmente durante la época seca y la floración es escalonada. Los arbustos de achiote comienzan su producción comercial entre los 3 y 4 años de edad. En promedio, una plantación resulta redituable por un periodo de 12 años, aunque varía de acuerdo con las condiciones del suelo, el clima y el manejo (Palacios *et al.* 2007).

El rendimiento promedio de una plantación depende de ciertas variables, pero en promedio se obtienen 1000 kg/ha de frutos secos, o hasta 2000 en condiciones óptimas. La semilla representa entre 50 y 60% del peso total, es decir, en promedio se obtienen de 500 a 600 Kg de semilla por hectárea (Rodríguez, 2013).

Dos tercios de la producción de achiote se comercializan en forma de semillas y el resto en forma de extractos de semillas. América Latina produce el 60% del achiote del mundo, seguida de África (27%) y Asia (12%) (Giuliano *et al.* 2003).

2.6.6 Constituyentes químicos

Cuando los conquistadores españoles arribaron al Nuevo Mundo, descubrieron una gran cantidad de productos derivados de plantas empleados por los mayas y los aztecas. Uno de ellos, fue el annatto un tinte a base de carotenoides que se extrae de las semillas de la planta tropical *Bixa orellana* L (Giuliano *et al.* 2003).

En el Achiote se han identificado treintaicinco componentes de los cuales acetato de (Z-E)-farnesilo (11,6%), acetato de occidentalol (9,7%), espatulenol (9,6%), ishwarane (9,1%), bixina y norbixina son los mayores constituyentes. La cantidad total de bixina y norbixina varía significativamente; los valores comunes son de 2-5%, pero el contenido podría alcanzar sobre los 7% del peso seco de las semillas (Dallorso, 2008).

Otros constituyentes del Achiote incluyen: acetona, achiotina, ácido tomentósico, carotenoides, un metil éster, trans-bixina, apocarotenoides, y orelina. Además de estos compuestos, el Achiote tiene reportado en su contenido, un cuerpo de terebintinos y un ácido graso (Enciso *et al.*, 2009).

En las hojas encontramos: Bixaganeno, ishwarano (aceite esencial) entre otros mono y sesquiterpenos; flavonoides: 7-bisulfato de apigenina, 7- bisulfato de luteolina, 8-bisulfato de hipolaetina, glucósido de apigenina, bisulfato de apigenina, hipoaletina, cosmosiina, entre otros como: flavonas, antocianidinas y sesquiterpenlactonas; carotenoides: bixina, norbixina, orelina, β -caroteno, criptoxantina, metilbixina, zeaxantina,

luteína; ácido tomentósico; vitaminas (A, B, y C); proteínas; azúcares; celulosa; grasas; calcio, fierro y fósforo; diterpenos: farnesilacetona, geraniol, geranil formato, alcaloides (vestigios), ácido gálico (benzenoide) y ácido alfitólico (Huamán *et al.* 2009).

En las semillas encontramos: carotenoides expresados como provitamina A (1000 - 2000 U.I./g de semilla seca), entre ellos destacan: bixina, betabixina, metilbixina, norbixina, orelina, zeaxantina, β -caroteno, luteína y criptoxantina; también contienen bixinato de sodio, achiotina, ácido tomentósico, pectinas, proteínas, taninos, y un hidrocarburo sesquiterpénico, ishwarane (esencia floral de las semillas). Las semillas también contienen sílica, potasa, un alto contenido de fósforo y bajo de calcio; un alto contenido de proteínas, el cual incluye niveles adecuados de triptófano y lisina, pero bajos niveles de metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina y treonina (Enciso *et al.* 2009).

2.6.7 Producción de Achiote en el Perú

En el año 2002, la exportación de colorantes en el Perú aportó la suma de US\$ 62.5 millones, de los cuales la contribución de la exportación de achiote y sus extractos fue del 10%. Los precios reportados fueron: 1Kg de semilla de achiote se cotizó a US\$ 0.65Kg, extracto de bixina a US\$ 110 Kg y norbixina a US\$54kg. La producción de achiote en el Perú se puede observar en la Figura 2 (MINAG, 2012).

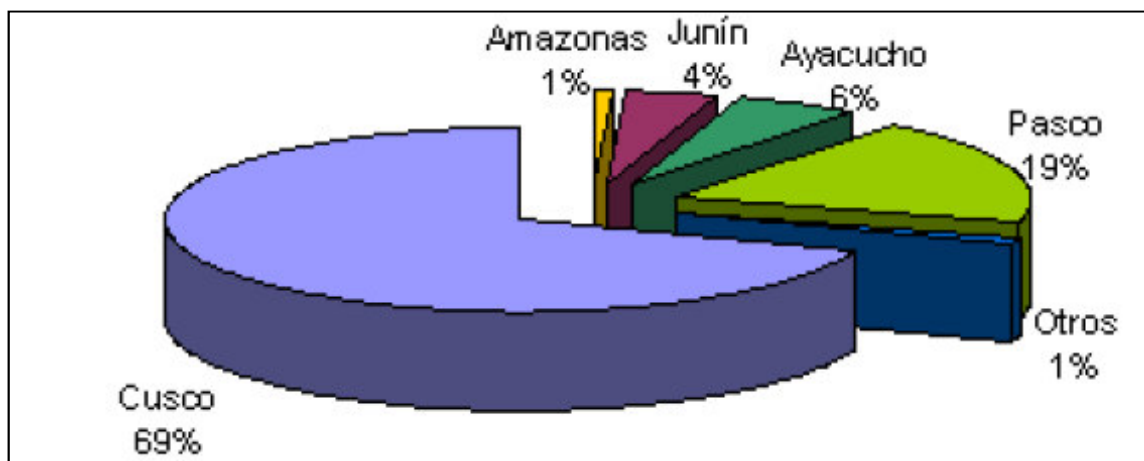


Figura 2. Porcentaje (%) de producción de achiote en el Perú por departamentos.

Fuente: MINAG (2012)

2.6.8 Annato extract

El *annatto extract* son aceites o productos alcalinos obtenidos al eliminar la capa externa de las semillas de *Bixa Orellana* mediante diversos procesos. Estos extractos se presentan en polvo, en pasta, en suspensión o en solución (Toledo *et al.* 2004).

Presenta una coloración que varía desde el amarillo brillante hasta el rojo intenso. Sus propiedades tintóreas se atribuyen a sus constituyentes carotenoides. La bixina corresponde a más del 80% de los carotenoides encontrados en las semillas y corresponde en promedio a 2,5% del peso de las semillas deshidratadas. La bixina es un apocarotenoide, compuesto originado por la ruptura de carotenos, siendo esta ruptura mediada por enzimas que actúan en puntos específicos originando dos nuevos carotenoides. La retirada del grupo metil éster de la bixina origina la norbixina, un ácido dicarboxílico (Beltrão *et al.* 2002).

Las diferencias estructurales confieren a la bixina características liposolubles, debido a la presencia del éster metílico en la molécula, la norbixina presenta mayor hidrosolubilidad en razón de la presencia del grupo carboxilo., sitio de interacción con moléculas de agua (Rocha *et al.* 2012).

2.6.8.1 Uso como antioxidante natural

Los carotenoides que presentan actividad como antioxidante son:

- La bixina, es el producto obtenido a partir de la remoción con solvente orgánico del colorante de la semilla del achiote y posterior secado. Se presenta en forma de cristales romboédricos de color rojo oscuro. Es el principal pigmento del achiote, siendo su fórmula empírica $C_{25}H_{30}O_4$, su nombre científico es ácido 9' - cis - 6,6' - diapocaroteno - 6,6' dioico, mono metilester y posee un peso molecular de 394.50.
- La norbixina, es el producto obtenido por saponificación del grupo éster de la bixina, con una sal potásica o sódica y posterior secado, lo que viene a ser un derivado dicarboxílico del mismo carotenoide. La forma estable es la β -norbixina (TRANS), siendo su fórmula empírica $C_{24}H_{28}O_4$, su nombre científico es ácido, 6' - metilhidrogen - 9' - cis - 6,6' diapocaroteno - 6,6' dioico y posee un peso molecular de 380.48 (Figura 3) (Rueda y Niño, 2004).

En estado puro estos carotenoides son muy sensibles a la oxidación debido a su naturaleza fuertemente insaturada; esta oxidación implica una disminución directa del color rojo por efecto de la desaparición de los enlaces conjugados; la oxidación es acelerada por la acción de la luz, el calor, y en presencia de aceites ocurre por los catalizadores metálicos, en particular el cobre, el hierro y el manganeso (Benítez *et al.* 2010).

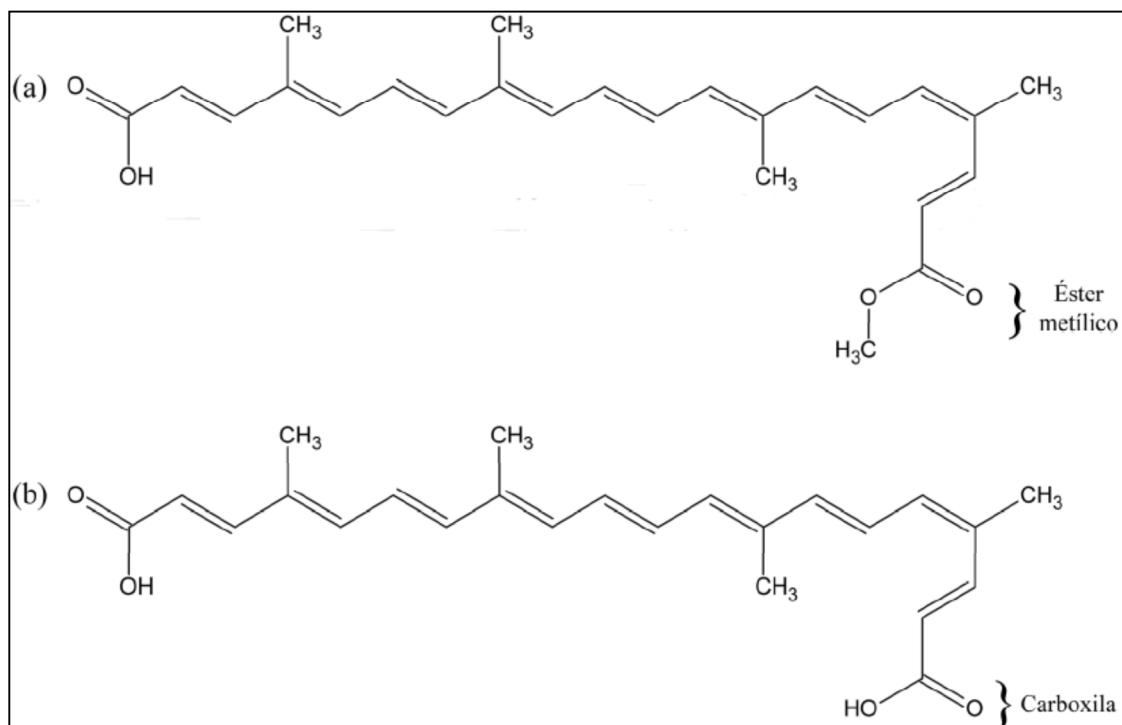


Figura 3. Estructura química de la Bixina (a) y norbixina (b). Fuente: *Febles et al. (2002)*

Diversos estudios han observado el efecto antioxidante de los derivados del achiote: la bixina y otras sustancias naturales (luteína, licopeno, α -caroteno y α -tocoferol). La bixina presentó destacado efecto antioxidante, reduciendo la formación de hidroperóxidos en triacilglicéridos oxidados por la luz. También se evaluó individualmente el extracto de achiote (α -caroteno, luteína y licopeno) en cuanto a su capacidad de inhibir la formación de hidroperóxidos en una emulsión acuosa, cuya oxidación fue estimulada por el uso del 2,2-azobis-amidinopropano (AAPH). En ese experimento, el extracto de achiote superó las demás sustancias naturales, presentando la mayor actividad antioxidante (Rocha *et al.* 2012).

En un estudio se evaluó el efecto de la norbixina en la respuesta al daño del ADN inducido por radiación UV, peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$) sobre células de *Escherichia coli*, y se determinó que la norbixina era capaz de proteger a la célula ante estos agentes. La norbixina aumentó la supervivencia de la célula en al menos 10 veces (Lourido y Martínez, 2010).

2.6.8.2 Otros usos

Los primeros grupos culturales de América preparaban con sus semillas una masa roja con la que se pintaban el cuerpo, la cara, las piernas y los brazos ya sea para adornarse o para evitar la picadura de los mosquitos o para facilitar la cicatrización de las heridas. También, les servía para teñir sus tejidos y pintar sus utensilios o también utilizaban sus fibras para hacer cercos donde encierran a sus animales y para dar color al chocolate y a sus guisados usaban el tinte del fruto (Rueda *et al.* 2004).

A la planta completa, o a algunas de sus partes se les atribuyen múltiples efectos en la medicina tradicional (Parrotta, 2001), pero recientes evidencias constituyen el achiote en una gran alternativa, pues además de las actividades farmacológicas referenciadas, sus componentes metabólicos resultan útiles como antiedematizantes, antihemorrágicos y neutralizantes del veneno de *Bothrops asper* (mapaná equis), serpiente causante del 50-70% de las mordeduras en Colombia (Otero *et al.* 2012a; Otero *et al.* 2012b).

Se reporta su acción antitumoral (Tibodeau *et al.* 2010) antibacteriana (Fleischer *et al.* 2003) antifúngica, leishmanicida (Braga *et al.* 2007), antipirética y antimalárica (Bertani *et al.* 2005).

La pulpa que rodea a las semillas es ampliamente utilizada en base de hierbas medicamentosa para tratar quemaduras, hemorragias, disentería, gonorrea, estreñimiento, y fiebre (Huamán *et al.* 2009).

Varios estudios han demostrado la acción antiplasmodial de extractos preparados a partir de diferentes partes de *B. orellana* (Baelmans *et al.* 2000; Nguyen *et al.* 2007).

Otros estudios describen las potencialidades del achiote para prevenir las mutaciones que conducen al cáncer junto al propóleo y algunos hongos comestibles. También se han explicado las potencialidades antimutagénicas sobre la base de ensayos que demostraron la importante acción de la bixina en la disminución de la peroxidación lipídica (proceso

inducido por la formación de radicales libres) y la proliferación de células tumorales (Lourido y Martínez, 2010).

Se utiliza como complemento alimenticio de pollos de engorde y pollas ponedoras, para obtener carne y yemas de huevo de color más vivo y profundo (Cordero *et al.*, 2003). Utilizado para tratar el moquillo en las gallinas. Se maceran 12 hojas por 1 litro de agua y se les da en agua de tiempo por 3 días (Villalobos, 2006).

Varios estudio han informado el extracto oleoso de bixina como colorante de yema de huevos (Silva *et al.*, 2005) y de la piel de pollos de carne (Pereira *et al.* 2001).

2.6.8.3 Toxicidad

El Comité de Especialistas en Aditivos Alimentares (JECFA) de la FAO/WHO determinó un límite para la ingesta de extracto de achiote, compuesto básicamente por Bixina, de no máximo de 0.065 mg/kg de peso corpóreo/día (FAO, 2013).

Los estudios de toxicidad aguda realizados para extractos de bija han demostrado su baja toxicidad. Un estudio realizado en ratas Wistar a las cuales se les administró una dosis 2 000 mg/kg/día de bija, demostró que era prácticamente inocuo. Por otra parte, un estudio de tolerancia cutánea en conejos realizado con un extracto de Bixa orellana, no mostró alteraciones significativas, lo cual fue confirmado mediante estudios histológicos de muestras de piel y cabello. Otros investigadores emplearon en su estudio un extracto alcohólico de Bixa orellana en piel rasgada de conejos Nueva Zelanda y concluyeron que el producto no es un irritante dérmico primario (Lourido y Martinez, 2010).

Paumgarten *et al.* (2002), demostraron que el consumo de achiote deshidratado conteniendo 28% de bixina en ratas preñadas no produjo ningún efecto adverso en las ratas o en los fetos, sugiriendo de esto que el achiote consumido vía oral hasta 500 mg/Kg de masa corporal al día no presenta toxicidad o embriotoxicidad en estas condiciones.

Agner *et al.* (2005), realizaron un estudio en ratas machos sometiéndolos a una alimentación formulada con 20, 200 y 1000 ppm por 15 semanas demostrando que el extracto de achiote conteniendo 5% de bixina no produjeron indicios de daños celulares.

La FAO, periódicamente, revisa los estudios publicados, con el objetivo de mantener constante actualización sobre la inocuidad de las sustancias utilizadas en alimentos. Es así que en el año 2006, la organización reafirmó que los extractos de achiote no representan un potencial tóxico y el uso es seguro en las concentraciones determinadas para alimentos.

III.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar y tiempo de estudio

El estudio se realizó entre los meses de Julio a Agosto del 2012.en la Unidad de Producción Avícola y en el Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria (FMV) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos(UNMSM), ubicados en el distrito de San Borja, provincia de Lima, departamento de Lima.

3.2 Materiales

3.2.1 Animales

Para realizar este estudio se usaron 360 pollos machos de la línea Ross 308 de un día de edad, procedentes de un mismo plantel de reproductoras libres de enfermedades.

3.2.2 Alimento

Durante la crianza los pollos recibieron una dieta convencional que estuvo hecha a base de concentrado de acuerdo a los requerimientos fisiológicos por edad de los pollos. El alimento estuvo hecho a base de los 5 ingredientes básicos: maíz, torta de soya, harina integral de soya, aceite vegetal y carbonato de calcio así como las premezclas y sus diferentes niveles de inclusión de vitamina E, para cada tratamiento. El programa de alimentación fue el siguiente:

Alimento Tipo Inicio: 1-21 días.

Alimento Tipo Crecimiento: 22-34 días.

Alimento Tipo Acabado: 35-42 días.

3.2.3 Programa de vacunación

Las aves recibieron el siguiente programa de vacunación estándar para pollos de engorde:

- Día 1: Vacunación en la planta de incubación contra la enfermedad de Marek (cepa HVT) y Bronquitis infecciosa (cepa H120)
- Día 12: Vacunación en unidades de experimentación contra la enfermedad de Newcastle (cepa B1B1, cepa VG/VA)
- Día 18: Vacunación en unidades de experimentación contra la enfermedad de Gumboro (Cepa Lukert, cepa D78)

3.2.4 Equipos y materiales

Durante la crianza de los pollos se utilizaron los equipos avícolas convencionales como bebederos tipo tongo y plassón, comederos tipo bandeja y tolva, criadoras de calefacción a gas, cama de tipo viruta, mangueras y válvulas de gas, separadores de madera, alambre y nórdex plásticos para los corrales. Para la medición de la T° ambiental se usaron termómetros digitales y de máxima y mínima. Para el pesado semanal de los pollos se usó una balanza digital.

3.3 Métodos

3.3.1 Tamaño muestral

El número de aves a evaluar se determinó utilizando la fórmula de diferencia entre medias, resultando un tamaño muestral de un mínimo de 34 aves.

$$n = \left(\frac{[Z(a) + Z(b)] \cdot SD}{m_1 - m_2} \right)^2$$

Donde:

n: Tamaño de muestra requerido

Z(a): Valor tabular de T de Student para el nivel de confianza de 95%(1.96)

Z(b): Valor de la T de Student para 90% de potencia (1.65)

SD: Desviación estándar esperada para el índice de eficiencia productiva o IEP (27.45)

m₁: Media esperada de la población estándar (IEP=343.056)

m₂: Media esperada de la población problema (105% IEP)

m₁-m₂: Diferencia entre las dos medias esperadas (5%del IEP)

3.3.2 Diseño experimental

Los 360 pollos fueron distribuidos en un diseño aleatorio de tres grupos experimentales (tratamientos), con 3 repeticiones de 40 aves por tratamiento.

En total se contó con 9 corrales de 2 m x 2 m (4 m²), con una densidad de 10 pollos por m². El periodo experimental fue de 42 días. Los tratamientos fueron los siguientes:

- Tratamiento 1 (T1): Es el tratamiento control, conformado por los pollos alimentados con un concentrado conteniendo 100 % de vitamina E (10 mg/Kg pv).
- Tratamiento 2 (T2): El tratamiento 2 conformado por pollos alimentados con un concentrado con 50% *annato extrac* (150 ppm) y 50% de vitamina E (10 mg/Kg. pv),
- Tratamiento 3 (T3): El tratamiento 3 conformado por pollos alimentados con un 100% de *annato extract* (200 ppm).

3.3.3 Manejo de las aves en el galpón experimental

Considerando las normas del Comité de Ética y Bienestar Animal (CEBA), comité de nuestra facultad que regula que los procedimientos con animales no sean dolorosos e inhumanos la crianza de los pollos se llevó a cabo dentro de los lineamientos estándar de la crianza comercial de línea genética (densidad, temperatura, humedad, etc.); que garantice el normal crecimiento de los pollos y disminuya el impacto del estrés común de una crianza comercial. Por lo cual los pollos recibieron un adecuado alojamiento, alimento y agua.

Los pollos fueron criados a galpón abierto, en un mismo ambiente sobre piso de cemento, con cama de viruta de madera y cortinas externas para controlar la T° ambiental además de un cielo raso como microclima.

El manejo de las cortinas laterales dependió de la edad y T° ambiental, se realizó una limpieza del interior de los corrales de mínimo 2 veces por día; además se realizó visitas diarias para observar el estado sanitario de los pollos.

3.4 Parámetros de evaluación

El registro de los datos para la evaluación de los parámetros productivos se realizó desde la primera hasta la sexta semana de crianza.

3.4.1 Peso corporal

Se pesaron el 100% de los pollos de cada corral y por tratamiento, desde su llegada al galpón (un día de edad) y a los días 7, 14, 21, 35 y 42 del ensayo, lo cual correspondió a las semanas 1, 2, 3, 4, 5 y 6 respectivamente.

3.4.2 Ganancia de peso.

La ganancia de peso semanal y la ganancia de peso acumulada se obtuvieron de la resta del peso de inicio de semana menos el peso al final de la misma. Esta variable se evaluó con el pesaje de todos los pollos presentes en sus respectivos corrales.

3.4.3 Consumo de alimento.

El consumo de alimento se registró semanalmente, para la obtención de esta información se restó la cantidad total de alimento repartido durante la semana y el total de resto de alimento sobrante en los comederos de los corrales. El resultado se dividió entre el número de aves, obteniéndose el consumo de alimento semanal y acumulado.

3.4.4 Índice de conversión alimenticia (ICA).

Se refiere a la cantidad de alimento requerido para la producción de un Kg de peso vivo por ave. Este parámetro se evaluó semanalmente y acumulado mediante la siguiente fórmula:

$$\text{ICA semanal} = \frac{\text{Alimento consumido en la semana}}{\text{Ganancia de peso semanal}}$$

$$\text{ICA acumulado} = \frac{\text{Alimento consumido total por edad}}{\text{Peso vivo promedio}}$$

3.4.5 Porcentaje de mortalidad (%)

Los datos para la obtención de estos parámetros se registraron hasta el término del estudio. Se realizó la necropsia diaria de los pollos muertos del día con la finalidad de encontrar hallazgos patológicos para determinar la causa de muerte. El porcentaje de mortalidad se obtuvo de la siguiente fórmula:

$$\text{Mortalidad} = \frac{\text{Número de pollos muertos} \times 100}{\text{Número total de pollos al inicio}}$$

3.4.6 Índice de Eficiencia Productivo Europeo (IEPE)

El IEPE se refiere al rendimiento integral de un lote de pollos de engorde, considerando para la evaluación de este parámetro la mortalidad, el peso vivo, la edad, la ganancia de peso diario y la conversión alimenticia. Se obtiene aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{IEPE} = \frac{\text{Viabilidad (\%)} \times \text{Ganancia de peso diario} \times 100}{\text{Conversión alimenticia}}$$

3.5 Análisis de datos

Para comprobar si existe diferencia estadística entre las medias de peso corporal de los tres tratamientos se utilizó la prueba de ANOVA. Los parámetros productivos como ganancia de peso acumulado, consumo de alimento acumulado, conversión alimenticia, y eficiencia productiva son variables no paramétricas por lo cual los datos de medias fueron analizados mediante la prueba de Kruskal-Wallis, el análisis de estas variables se realizó empleando el paquete estadístico SAS vs10.1.

IV. RESULTADOS

4.1 Peso corporal

Los resultados de peso corporal se muestran en el cuadro 1. Se observó que en la primera, segunda y cuarta semana de crianza, el peso corporal promedio de los T1 y T2 presentaron una ventaja con respecto al tratamiento 3, durante la tercera y quinta semana de crianza el peso corporal promedio de los T2 y T3 presentaron una ventaja sobre el T1. En la sexta semana de crianza el T3 con un peso promedio de 2877.7 g (SD 95% \pm 134.7) presentó 10.4 g más que el peso corporal promedio que el T1 y 18.7 g más que el T2, sin embargo no se encontró diferencia estadísticas significativas ($p > 0.05$) en los pesos promedios de los tres tratamientos durante estas seis semanas de crianza.

Cuadro 1. Peso corporal promedio semanal (g) hasta la sexta semana de crianza

Semana de crianza	Tratamiento		
	T1	T2	T3
1 ^{er} día	44.4±3.2	44.4±2.6	43.7±3.1
1	158.3±16.9	159.0±17.6	150.0±18.5
2	418.3±49.8	421.0±49.4	415.7±48.1
3	820.0±45.2	836.7±43.9	840.0±37.3
4	1,373.3±102.8	1,379.7±92.5	1,366.7±114.1
5	2,070.7±160.9	2,071.0±157.5	2,085.0±131.1
6	2,867.3±158.6	2,859.0±181.1	2,877.7±134.7

T1: tratamiento control con 100% de vitamina E; T2: tratamiento con 50% *annato extract* (150 ppm) y 50% de vitamina E; T3: 100% de *annato extract* (200 ppm)

4.2 Ganancia de peso acumulada

Durante la primera, segunda y cuarta semana de crianza, la ganancia de peso acumulada del T2 fue mayor respecto a la ganancia de peso acumulada de los T1 y T3 (Cuadro 2).

En la tercera, quinta y sexta semana de crianza la ganancia de peso acumulada del T3 fue mayor con respecto a la ganancia de peso acumulada de los T1 y T 2. En la sexta semana se observó que el T 3 con una ganancia de peso acumulada de 2833.98 g presentó 11.07 g más con respecto al T1 y 19.33 más con respecto al T2; sin embargo no se encontró diferencia estadísticas significativas ($p>0.05$) entre los tres tratamientos desde el inicio hasta el término del experimento.

Cuadro 2. Ganancia de peso acumulada semanal (g) por ave hasta la sexta semana de crianza.

Tratamiento	Semana de crianza					
	1	2	3	4	5	6
T1	113.91	373.91	775.58	1,328.91	2,026.24	2,822.91
T2	114.65	376.65	792.32	1,335.32	2,026.65	2,814.65
T3	106.31	371.98	796.31	1,322.98	2,041.31	2,833.98

T1: tratamiento control con 100% de vitamina E; T2: tratamiento con 50% *annato extract* (150 ppm) y 50% de vitamina E; T3: 100% de *annato extract* (200 ppm)

4.3 Consumo de alimento acumulado

Durante la segunda, tercera y cuarta semana de crianza de los pollos, el T3 presentó un menor consumo de alimento acumulado con respecto al consumo de alimento acumulado del T1 y T2 (Cuadro 3).

En la quinta y sexta semana se observó que el consumo de alimento acumulado del T1 fue menor con respecto al consumo de alimento acumulado del T2 y T3, es así que en la sexta semana se observó que el consumo de alimento acumulado del T1 fue de 15.51 y 6.95 g menos de consumo de alimento acumulado en comparación al consumo de alimento acumulado de los T2 y T3 respectivamente. Sin embargo no se encontró diferencia estadísticas significativas ($p > 0.05$) entre los tres tratamientos desde el inicio hasta el término del experimento.

Cuadro 3. Consumo de alimento acumulado semanal (g) por ave hasta la sexta semana de crianza

T1: tratamiento control con 100% de vitamina E; T2: tratamiento con 50% *annato extrac* (150 ppm)

Tratamiento	Semana de crianza					
	1	2	3	4	5	6
T1	158.68	500.65	1,058.42	1,805.98	2,760.26	3,892.51
T2	159.48	502.87	1,061.86	1,815.20	2,780.45	3,908.02
T3	158.66	498.63	1,055.49	1,803.02	2,768.23	3,899.46

y 50% de vitamina E; T3: 100% de *annato extract* (200 ppm)

4.4 Conversión alimenticia

Los resultados de conversión alimenticia se muestran en el cuadro 4. En la tercera semana de crianza se observó que el T1 presentó una mayor conversión alimenticia con respecto a la conversión alimenticia de los T2 y T3, es decir que un pollo que consumió alimento con el T1 para producir 1Kg de peso vivo tuvo que consumir 20 y 30 g más de alimento en comparación al T2 y T3 respectivamente; durante la cuarta, quinta y sexta semana de crianza los resultados de la conversión alimenticia entre los tres tratamientos fueron similares, observándose que desde el inicio hasta el término del experimento no se encontró diferencia estadísticas significativas ($p>0.05$).

Cuadro 4. Conversión alimenticia semanal hasta la sexta semana de crianza

Tratamiento	Semana de crianza					
	1	2	3	4	5	6
T1	1.00	1.20	1.29	1.32	1.33	1.36
T2	1.00	1.19	1.27	1.32	1.34	1.37
T3	1.06	1.20	1.26	1.32	1.33	1.36

T1: tratamiento control con 100% de vitamina E; T2: tratamiento con 50% *annato extrac* (150 ppm) y 50% de vitamina E; T3: 100% de *annato extract* (200 ppm).

4.5 Porcentaje de Mortalidad

Los resultados de mortalidad total al finalizar la campaña se muestran en las Figuras 4 y 5. La mortalidad no se vio afectada por agentes patógenos conocidos; sin embargo en la Figura 4, se puede observar que el mayor % de mortalidad se presentó en la cuarta semana con 1.39% del total de la mortalidad acumulada.

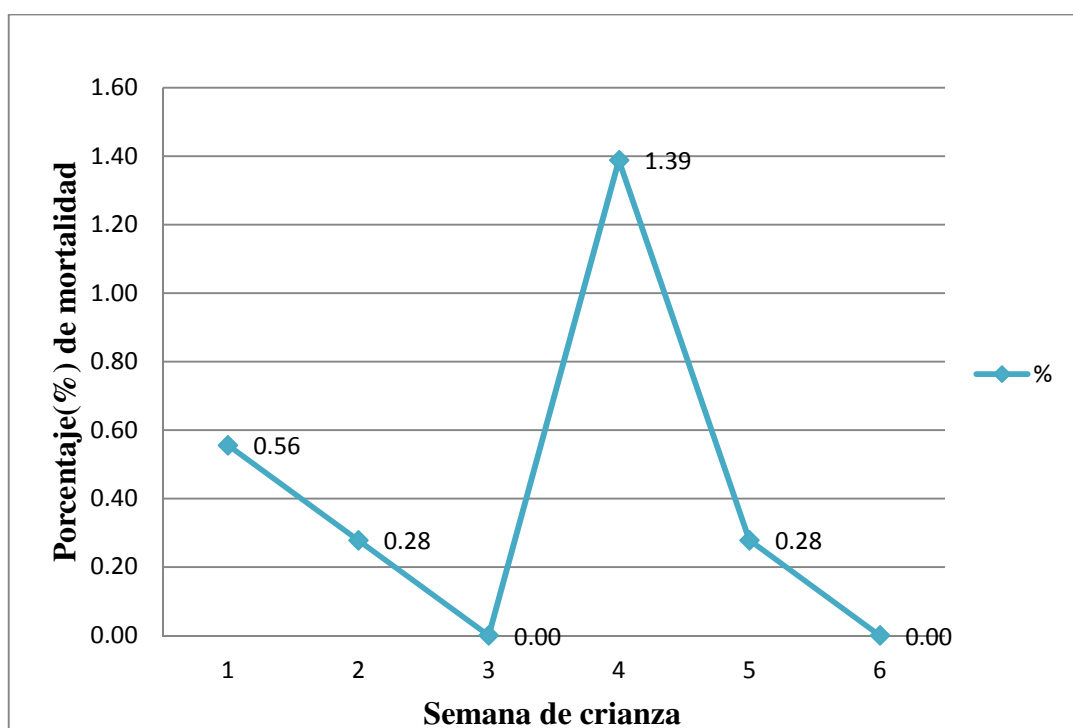


Figura 4. Mortalidad (%) promedio de los tratamientos medida semanalmente. T1: tratamiento control con 100% de vitamina E; T2: tratamiento con 50% *annato extract* (150 ppm) y 50% de vitamina E; T3: 100% de *annato extract* (200 ppm)

En la Figura 5, se puede observar que en la cuarta semana los T2 y T3 presentaron mayor % de mortalidad con respecto al T1, sin embargo en la quinta y sexta semana de crianza se puede observar una disminución.

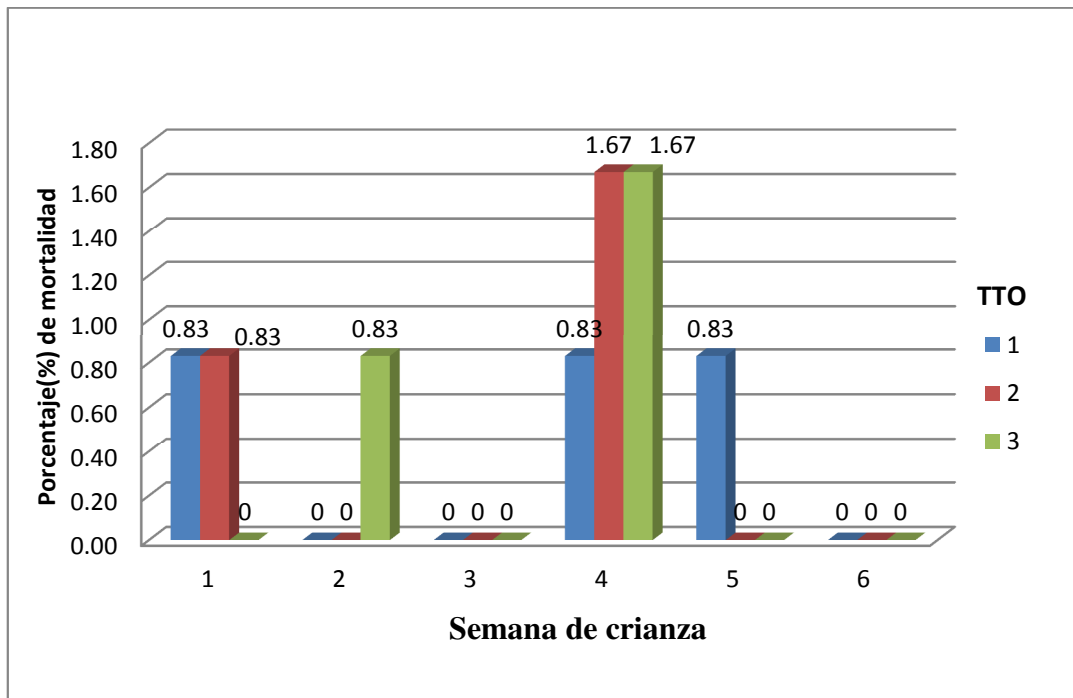


Figura 5. Mortalidad (%) por semana por tratamientos hasta la sexta semana de crianza. T1: tratamiento control con 100% de vitamina E; T2: tratamiento con 50% *annato extrac* (150 ppm) y 50% de vitamina E; T3: 100% de *annato extract* (200 ppm)

4.5 Índice de Eficiencia Productivo Europeo (IEPE)

Al finalizar la crianza se pudo observar que el mejor IEPE lo obtuvo el T3 con 2.66 y 7.44 puntos más que el T1 y T2 respectivamente. Sin embargo, no se encontró diferencia estadísticas significativas ($p < 0.05$) entre los tres tratamientos.

V. DISCUSIÓN

El crecimiento en el consumo de productos avícolas en el mundo ha superado al ritmo de crecimiento de la población humana, el desarrollo de la avicultura se ha dado por una serie de factores, siendo los más importantes una mejor y balanceada nutrición que implica un mayor conocimiento de las materias primas, mejores técnicas analíticas para el establecimiento de los valores nutricionales y mejoras en las técnicas de formulación debido a que se describen mejor los requerimientos nutricionales de los lotes en uso, por lo tanto en los últimos años se ha incrementado el uso de aditivos modernos como vitaminas, minerales, aminoácidos, probióticos, enzimas, coccidiostatos, promotores de crecimiento, etc. (Mann *et al.*, 2002).

El principal objetivo de la terapéutica y profilaxis vitamínica consiste en proporcionar a los animales cantidades suficientes de estos metabolitos esenciales para que puedan realizar adecuadamente las funciones vitales del organismo (Booth, 1992).

El requerimiento básico actual de vitamina E para pollos de engorde es de 10 a 15 mg/Kg (Ross suplemento de nutrición del Pollo de engorde, 2009). A fin de lograr el máximo potencial de las funciones de la vitamina E, a nivel comercial se establecen

comúnmente entre 5-10 veces los requerimientos fijados por National Research Council (NRC). Por consiguiente, la vitamina E se ha convertido en la vitamina de mayor costo en la dieta avícola. Esto contribuye aproximadamente al 24% del total del costo de la premezcla vitamínica y es el cuarto ingrediente más costoso de las dietas para las aves (Tuoying, 2011).

Mediante este estudio se evaluó el efecto del reemplazo de la vitamina E por el extracto de un antioxidante natural sobre los parámetros productivos en pollos de engorde. Este producto antioxidante natural es comúnmente conocido en nuestro país como “achiote”.

Al realizar la comparación de medias del peso corporal promedio, los resultados del estudio mostraron que el peso promedio del T3 al primer día, primera y segunda semana de crianza fue más bajo con respecto al peso promedio de los T1 y T2. Sin embargo, a la sexta semana de crianza el T3 con un peso promedio de 2877.7 g (SD 95% \pm 134.7) presentó 10.4 g más de peso corporal que el T1 y 18.7 g más que el T2, sin observarse diferencia estadística significativa entre estos tres tratamientos durante las seis semanas de crianza. Estos resultados son contrarios a lo esperado y reportado en diversos estudios (Halevy 2000, Moore 2005, Vallns 2014) que señalan que existe una correlación entre el peso de la primera semana y el peso de sacrificio, teniendo una importancia significativa en la producción final del lote.

Del mismo modo, en la ganancia de peso acumulado se observó que en la tercera, quinta y sexta semana de crianza la ganancia de peso acumulada del T3 fue mayor con respecto a la ganancia de peso acumulada de los T1 y T2. En la sexta semana de crianza, el T3 logró una ganancia de peso acumulada de 2833.98 g equivalente a 11.07 g más que del T1 y 19.33 g más que el T2; sin embargo no se encontró diferencia estadísticas significativas ($p > 0.05$) entre los tres tratamientos desde el inicio hasta el término del experimento.

El T3, el cual contiene 100% *annato extract (200 ppm)*, producto que proviene de la extracción de las semillas de achiote y contiene carotenoides expresados en forma de provitamina A (1 000 -2 000 U.I./g de semilla seca), entre los que destacan: bixina, betabixina, metilbixina, norbixina, orelina, zeaxantina, β -caroteno, luteína y criptoxantina; también contienen bixinato de sodio, achiotina, ácido tomentósico, pectinas, proteínas, taninos, y un hidrocarburo sesquiterpénico, ishwarane (Encizo et al., 2009). Es conocido que la etapa de mayor estrés de toda índole en pollos de engorde comienza a la tercera semana de vida, siendo posible que los carotenoides presentes en el producto hayan ejercido un mecanismo anti estrés en las aves logrando superar el peso corporal de los otros dos tratamientos.

Existen varios estudios de evaluación del producto *annato extract* como pigmentante pero muy pocos como antioxidante. Los resultados de un bioensayo en codornices realizado por Rueda y Niño (2004), demostraron una mayor pigmentación de la yema de los huevos de las codornices de prueba, pero además se obtuvo un mayor tamaño de las aves, de los huevos y sus yemas, con una diferencia significativa, de 2 y 4 mm más de tamaño en los huevos de las codornices de prueba en comparación al control. Esto sugiere al igual que en nuestro estudio una actividad antioxidante del producto capaz de estimular el rendimiento productivo de las aves.

Los carotenoides son de gran interés económico en la piel y tejido graso de pollos en crecimiento para la producción de carne, ya que las especies aviarias lo convierten eficientemente en su organismo en vitamina A (Toledo *et al.*, 2004). La vitamina A se encarga de la formación de la matriz cartilaginosa, osteoclastico/osteoblastico reduciendo la reabsorción ósea y evitando malformaciones del esqueleto, de este modo daría un soporte adecuado para la masa muscular en crecimiento (CTS, 2006).

La carne de pollo es rica en ácidos grasos insaturados y contiene pocos antioxidantes (Cortinas et al., 2005). El *annato extract* actúa como un antioxidante, liberando un hidrógeno de su grupo hidroxilo (-OH), para neutralizar al radical lipídico y formar un complejo radical libre-radical aceptor (Percival, 1996). De este modo proporciona mayor

reactividad de esas moléculas frente a agentes oxidantes de las células de los músculos, la disminución de concentración de oxígeno en el medio reduce la cantidad de radical peróxido formada y por consiguiente inhibe la auto-oxidación previniendo el envejecimiento celular (Kiokias *et al.*, 2003)

Con respecto al consumo de alimento acumulado, se puede observar que en la sexta semana de crianza el T3 consumió 6.95 g y 8.56 g más con respecto al consumo de alimento acumulado de los T1 y T 2 respectivamente. Estos resultados coinciden con los resultados obtenidos por Vilar da Silva *et.*, al (2006) en donde se usaron residuos de achiote como colorante de la yema de huevos, piel, pico y ovario de ponedoras observándose mayor consumo de alimento en ponedoras que recibieron el alimento con residuos de achiote.

El mayor consumo de alimento durante las dos últimas semanas de crianza pudo haber sido provocado por una mayor palatabilidad y mejor pigmentación de la ración, causando mayor atracción en los pollos e incentivándolos al consumo. Sin embargo, no se encontró en la literatura trabajos que avalen esta hipótesis. Otro factor pudo ser la baja de energía debido a un aumento en la proporción de fibra en la dieta, por esta razón para compensar el bajo aprovechamiento energético los pollos tuvieron que consumir más alimento.

La conversión alimenticia a la sexta semana de crianza mostró resultados similares que no presentaron diferencias estadísticas significativas ($p>0.05$) entre los tres grupos. Si bien al finalizar la crianza el tratamiento 3 presentó mayor peso corporal acumulado con respecto al tratamiento 1 y 2, el consumo de alimento acumulado fue ligeramente mayor con respecto a los otros dos tratamientos, incrementado la conversión alimenticia.

Respecto al IEPE las aves del T3 lograron al final de la campaña una ligera mejor eficiencia productiva (492.98) que las aves del T1 (490.32) y que las del T2 (485.54), obteniendo 2.66 y 7.44 puntos más que los T1 y T2 respectivamente. Sin embargo, no se encontró diferencia estadísticas significativas ($p<0.05$) entre los tres tratamientos. El T3

presentó mayor índice de eficiencia productiva, esto implica que las variables de producción como peso corporal promedio, viabilidad, conversión alimenticia y edad de los pollos fueron analizados en conjunto para concluir que este grupo de pollos fue más eficiente económicamente con respecto a los T1 y T2

La mortalidad no se vio afectada por patógenos conocidos; durante las tres primeras semanas de crianza la mortalidad acumulada fue menor a 0.6%, elevándose a 1.39% en la cuarta semana y descendiendo menor a 0.3% en la quinta y sexta semana, no encontrándose diferencia estadísticas significativas ($p>0.05$) entre los tres tratamientos desde el inicio hasta el término del experimento. A partir de la cuarta semana de crianza se presentó un leve incremento de la mortalidad lo cual podría estar relacionado al incremento de la velocidad de crecimiento a esta edad. Múltiples estudios han demostrado que los machos por la velocidad de crecimiento y mayor peso corporal tienen mayor mortalidad que las hembras (Dallorso, 2008).

El porcentaje de mortalidad para los tres grupos (2.5%) al finalizar la crianza fue bajo y estuvo por debajo de los valores ideales para este parámetro. Los manuales de crianza para la línea Ross 308 señalan que un porcentaje de mortalidad óptima en una buena campaña de crianza de pollos de engorde es de 3 a 5% .El % de mortalidad final del T2 yT3 se observó dentro de lo esperado indicando que el *annato extract* es inocuo para los pollos.

Estudios realizados han demostrado la inocuidad del *annato extract* (Paumgarten et al 2002), quienes demostraron que el consumo de achiote deshidratado conteniendo 28% de bixina en ratas preñadas no produjo ningún efecto adverso en las ratas o en los fetos, sugiriendo que el achiote consumido vía oral hasta 500 mg/Kg de masa corporal al día no ocasiona toxicidad o embriotoxicidad en estas condiciones. Igualmente otro estudio (Agner et al., 2005) en ratas machos sometidas a una alimentación formulada con 20, 200 y 1000 ppm por 15 semanas demostró que el extracto de achiote conteniendo 5% de bixina no produjo indicios de daños celulares.

VI. CONCLUSIONES

- Se obtuvieron similares parámetros productivos entre el T1 (Vitamina E al 100%), T2 (Vitamina E al 50% y 150 ppm de *annato extract*) y el T3 (200 ppm de *annato extract*).
- Estos resultados demuestran de que la efectividad del *annato extract* como antioxidante natural fue similar a lo que se obtiene con el uso de la vitamina E. Por lo cual se puede concluir que el *annato extract* puede reemplazar eficientemente a la vitamina E en la alimentación de las aves.

VII. LITERATURA CITADA

1. Agner AR, Barbisan LF, Scolastici C, Salvadori DM. 2004. Absence of Carcinogenic and Anticarcinogenic Effects of Annatto in the Rat Liver Medium-Term Assay. *Food Chem Toxicol* 42(10): 1687-1693.
2. Agro y Veterinaria. 2013. Uruguay: VET-UY. [Internet], [23 abril 2013]. Disponible en: <http://www.vet-uy.com/articulos/avicultura/050/005/avic005.htm>
3. Arango MC. 2006. Plantas Medicinales: botánica de interés médico. 1^a ed. Colombia: Manizales. 27-30 p.
4. Avello M, Suwalsky M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea* 494: 161-172.
5. Baelmans R, Deharo E, Bourdy G, Muñoz V, Quenevo C, Sauvain M. 2000. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach Part IV. Is a new haem polymerisation inhibition test pertinent for the detection of antimalarial natural products?. *J Ethnopharmacol* 73:271-275.
6. Barroeta A, Calsamiglia S, Cepero R, Lopez BC, Hernández JM. 2002. Óptima nutrición vitamínica de los animales para la producción de alimentos de calidad: avances en la nutrición vitamínica de broilers y pavos. ed. España: Pulso. 208p.

7. Beltrão P, Stringheta P, Sandi D. 2002. Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos 20 (2): 203-220.
8. Bertani S, Bourdy G, Landau I, Robinson JC, Esterre P, Deharo E. 2005. Evaluation of French Guiana traditional antimalarial remedies. *J Ethnopharmacol* 98:45-54.
9. Benítez R, Lenis LA, Paz J. 2010. Incremento de la estabilidad de bixina, norbixina y geraniol por acomplejamiento con B-cyclodextrina . *El Hombre y la Máquina* 34: 94-99.
10. Berg G. 2010. Vitamina E: un tema siempre presente, nunca concluido. *Revista Argentina de Cardiología* 78(5): 391-392.
11. Booth NH, Mc Donald LE. 1992. *Farmacología y terapéutica veterinaria*. 1era ed. Zaragoza: Editorial Acribia. 705-707, 715-717 p.
12. Braga FG, Bouzada ML, Fabri RL, Matos M, Moreira FO, Scio E, et al. 2007. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *J Ethnopharmacol* 111:396-402
13. Brigelius-Flohé R, Kluth D, Landes N, Pflugger P, Birringer M. 2002. Mechanisms of Vitamin E Metabolism. *AOCS Press* : 171-179.
14. Carrera I. 2004. Influencia de la suplementación de los antioxidantes y de la administración de la enrofloxacin en la calidad y seguridad de la carne del ave. Tesis de Licenciada en Bioquímica. España: Universidad de Girona. 38 p.
15. Cortinas L, Barroeta A, Villaverde C, Galobart J, Guardiola F, Baucells MD. 2005. Influence of the dietary polyinsaturation level on chicken meat quality: lipid oxidation. *Poult. Sci.* (84): 48-55.
16. [CTS]. Chemical and Tecnical Assessment. 2006. Annatto Extract. Roma: FAO. Series de informes técnicos.1-22 p.
17. Cordero J, Boshier D, CATIE. 2003. Árboles de Centroamérica: un manual para extensionistas. 1ª ed. Costa Rica: Bib. Orton IICA/CATIE. 395-396 p.
18. Camps D. 2010. Bioquímica del estrés oxidativo. 1ª ed. Argentina. Univ. de Córdoba. 42 p.
19. Cadenas S, Rojas C, Méndez J, Herrero A, Barja G. 1996. Vitamin E decreases urine lipid peroxidation products in young healthy humans under normal conditions. *Pharmacol Toxicol* 79: 247-253

20. Cahoon E, Hall S, Ripp K, Ganzke T, Hitz W, Coughlan S. 2003. Metabolic redesign of vitamin E Biosynthesis in plants for tocotrienol production and increased antioxidant content. *Nat. Biotech* 21: 1082-1087.
21. Codoceo R, Muñoz R.A. 1999. Vitaminas liposolubles: vitaminas A, E y K, en Hernández M, Sastre A. (Ed.) *Tratado de Nutrición*, 177-202. Díaz de Santos, Madrid.
22. Coscojuela P, López R. 2013. La vitamina E natural y sintética. PV albéitar [Internet], [25 agosto 2013]. Disponible en: [http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/9553/ARTICULOS NUTRICION/La-vitamina-E-natural-y-la-sintetica.html](http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/9553/ARTICULOS_NUTRICION/La-vitamina-E-natural-y-la-sintetica.html)
23. Cordero J, Boshier D, CATIE. 2003. Árboles de Centroamérica: un manual para extensionistas. 1ª ed. Costa Rica: Bib. Orton IICA/CATIE. 395-396 p.
24. Dallorso ME. 2008. Discondroplasia tibial en pollos parrilleros. *Revista de investigación avícola* 31: 99-120.
25. Departamento de Agricultura. 2013. Roma: FAO. [Internet], [25 agosto 2013]. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s0f.htm>
26. Dutta-Roy AK, Gordon MJ, Campbell FM, Duthie GG, James WPT. 1994. Vitamin E requirements, transport, and metabolism: role of a-tocopherol-binding protein. *J. Nutl'.Biochem* 5: 562-570.
27. Enciso GJ, Amiel PJ, Guija PE, Fukusaki YA, Reátegui AO, Amiel PD, Enciso BN, Valdivia E, Rodríguez BR, Neyra LK. 2009. Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de cuatro plantas medicinales y estimulación de la proliferación de fibroblastos. *Rev Soc Quím Perú* 76(1):73-79.
28. Febles FC, Soto FC, Saldaña BA, García TB. 2002. Funciones de la vitamina E. Actualización. *Rev. Cubana Estomatol* 39: 28-32.
29. Fleischer TC, Ameade EP, Mensah ML, Sawyer IK. 2003. Antimicrobial activity of the leaves and seeds of *Bixa orellana*. *Fitoterapia* 74:136-138.
30. Galli F, Azzi A. 2010. Present trends in vitamin E research. *Biofactors* 36: 33-42.
31. García JA, Salvaneschi JP. 2011. Herbert McLean Evans (1882-1971). *Revista Argentina de Endocrinología y metabolismo* 48 (1): 1.
32. Gerald F, Combs JR. 1992. The Vitamins Fundamental Aspects in Nutrition and Health. *Equine Veterinary Journal* 24: 164.

33. Giulano G, Rosati C, Branley P. 2003. To dye or not dye: biochemistry of annatto unveiled. *TRENDS in Biotechnology* 21(12): 513-516.
34. Gonzales CA. 1992. Colección y mantenimiento de germoplasma de achiote (*Bixa orellana L.*) en la amazonia peruana. *Folia amazónica* 4(1): 49-63.
35. Gould MN, Haag JD, Kennan WS, Tanner MA, Elson CE. 1991. A comparison of tocopherol and tocotrienol for the chemoprevention and chemically induced rat mammary tumours. *Am. J. Clin. Nutr.* 53: 1068-1070.
36. Halevy O. 2000. Early posthatch starvation decreases satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in chicks. *J. of Nutr.* 130: 858-864
37. Huamán O, Sandoval M, Arnao I, Béjar E. 2009. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de BIXA ORELLANA (achiote), en ratas. *AnFacmed* 70(2): 97-102.
38. Huerta JM, Ortega CME, Cobos PM, Herrera HJG, Díaz CA, Guinzberg PR. 2005. Estrés oxidativo y el uso de antioxidantes en animales domésticos. *Interciencia* año 30 (12): 728-734.
39. Kiokias S, Gordon MH. 2003. Antioxidant properties of annatto carotenoids. *Food Chemistry* 83: 523-529p.
40. Lourido H, Martinez G. 2010. La *Bixa Orellana L.* en el tratamiento de afecciones estomatológicas, un tema aún por estudiar. *Revista cubana de farmacia* 44(2): 231-244.
41. Mc Donald P, Edwards RA, Greenhalgh JF, Morgan CA. 1999. *Nutrición animal*. 6a ed. Zaragoza: Editorial Acribia. 63-66, 73-76 p.
42. Mann H, Aguirre V. 2002. Avances en el mejoramiento de la producción avícola. En: XI Congreso Venezolano PIA. Trujillo: Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal.
43. Marcus R, Coulston A. 1999. Vitaminas Liposolubles Vitaminas A, D, K y E. En: Hardman J, Limbird L, Molinoff P, Ruddon R, eds. Goodman y Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica* 10^a ed. México: McGraw-Hill- Interamericana. p 1689-1692.
44. Martínez AS. 2009. Revisión de los requerimientos vitamínicos para las estirpes actuales de aves. *Selecciones Avícolas*: 19-22.

45. Mataix J, Ochoa J.2002. Vitaminas, en MataixVerdú J. (Ed.) *Nutrición y Alimentación Humana*, 137-203. Ergon, Majadahonda (Madrid).
46. Mireles RH. 2000. Fotoprotección sistémica con antioxidantes: Efecto de la terapia oral con d-&-tocoferol y ácido ascórbico sobre la dosis de eritema mínimo. Tesis de Maestro en Ciencias Médicas. Colima: Univ. De Colima. 16 p.
47. Nguyen PJ, Tran H, Phan TA, Dolecek C, Farrar J. 2007. Antimalarial and cytotoxic activities of ethnopharmacologically selected medicinal plants from South Vietnam. *J Ethnopharmacol* 109: 417-427.
48. Moore D. 2005. The effect of early nutrition on satellite cells dynamics in the young turkey. *Poultry Sci.* 84: 748-756
49. National Research Council. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9^a ed. Washington, D.C. : National Academy of Sciences. 27 p.
50. Otero R, Fonnegra R, Jiménez S. 2000a. Plantas utilizadas contra mordedura de serpientes en Antioquia y Choco, Colombia. 1^{era} ed. Medellín: Otero, Fonnegra y Jiménez Editores. 402 p.
51. Otero R, Núñez V, Barona J, Saldarriaga M, Fonnegra R, Osorio RG. 2000b. Neutralization of edema-forming and defrinating effects of *Bothropsatroxasper* venom by extracts of plants used by healers in Antioquia and Choco, Colombia. En: XV Congreso Internacional TMM. Bogotá: Congreso Internacional para la Medicina Tropical y Malaria.
52. Palacios EV, González W. 2007. Evaluación del comportamiento del Achiote en etapa de vivero bajo tres tratamientos pregerminativos en agua (30, 45 y 60 grados) en el kilómetro 1 salida a apartado parte posterior de la alcaldía municipal, municipio de Turbo departamento de Antioquia. Trabajo de Profesional en Manejo de Forestal. Huarochiri: Univ. Nac. Abierta y Adistancia. 15-18 p.
53. Pardo AV. 2004. La importancia de las vitaminas en la nutrición de personas que realizan actividad físicodeportiva. *Rev.Int. Med.cien.act.fís.deporte* Vol. 4 (n16): 233-242.
54. Parrotta JA. 2001. Usos de achiote. *Healing plants of peninsular India*. CAB International, Wallingford: 944 p.

55. Plant Finder.2014. E.E.U.U: Missouri Botanical Garden. [Internet], [25 agosto 2014].Disponible en <http://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderComments.aspx?kempercode=e852>
56. Paumgartten FJ, De-Carvalho RR, Araujo IB, Pinto FM, Borges OO, Souza CA, Kuriyama SN. 2002. Evaluation of the Developmental Toxicity of Annatto in the Rat. *Food Chem Toxicol* 40 (11): 1595-1601.
57. Percival, M.1996.Antioxidants. *Am. J. Clin. Nutr.* 1:1-4.
58. Pereira AV, Arika J, Kishibe R, Loddi MM. 2001. Deposição de pigmentos em frangos de corte alimentados com ração à base de sorgo e bixina. *Revista Brasileira de Ciencia Avícola* 3 (Supl.1): 3
59. Peris V. 2009. La oxidación y sus efectos en la alimentación animal. *ANTIOXIDANTES: criterios para una adecuada elección. Actualidad Avipecuaria* 15:18-22.
60. Pita G. 1997. Funciones de la Vitamina E en la Nutrición Humana. *Rev. Cubana Aliment. Nutr.*11: 46-57
61. Portal Agrario.2012. Lima: Ministerio de Agricultura. [Internet], [26 Setiembre 2012]. Disponible en: www.minag.gob.pe/
62. Rivera UJ, Llaque CM. 2014. Importancia de Vitaminas en Avicultura. *Actualidad Avipecuaria* 44(8): 8-16.
63. Rocha GC, Bolognesi V, Gaspari J, Gomes O, Klocker C. 2012. Carotenoides bixina e norbixina extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) como antioxidante em produtos cárneos. *Ciencia rural, Santa María* 42(8): 1510-1517.
64. Rodríguez MD. 2013. Insectos plaga en el cultivo de Achiote (*Bixa Orellana*). Monografía de investigación de Tecnólogo Agrícola. Guayaquil: Univ. Agraria del Ecuador.9-11p.
65. Ross suplemento de nutrición del Pollo de engorde. 2012. E.E.U.U: Aviagen. [Internet], [12 febrero 2012]. Disponible en: http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Spanish_Tech_Docs/Ross-Suplemento-Nutricin-Pollo-Engorde-2009.pdf

66. Rooyen V, Lynne M. 1999. The effect of combined vitamin E succinate and ascorbic acid supplementation on growth and cyclooxygenase expression in murine melanoma (BL6) cells. Tesis de Master of Science. Grahamstown: Rhodes University. 9 p.
67. Rueda VL, Niño ZM. 2004. Diseño de una planta piloto para la producción de Bixina a partir de Achiote. Tesis de Ingeniero Químico.: Uni. Industrial de Santander. 18-24, 26-27 p.
68. Sayago A, Marín M.I, Aparicio R, Morales M.T. 2007. Vitamina E y aceites vegetales. *Grasas y aceites* 58: 74-86.
69. Selecciones Avícolas. 2013. Barcelona: Real escuela de avicultura. [Internet], [18 Setiembre 2013]. Disponible en: <http://seleccionesavicolas.com/>
70. Silva B, Silva EL, Filho JJ. 2005. Efeitos da inclusão do resíduo da semente de urucum (*bixa orellana* L.) na dieta para frangos de corte: desempenho e características de carcaça. *Revista Brasileira de Zootecnia* 34(5): 1606-1613.
71. Sitio Web APA. 2012. Lima: Asociación Peruana de Avicultura. [Internet], [26 julio 2012]. Disponible en: <http://www.apa.org.pe/index2.asp>
72. Tavernari F, Salguero S, Albino L, Rostagno H. 2008. Nutrición, patología y fisiología digestiva en pollos: aspectos prácticos. En XXIV Curso de especialización FEDNA. Madrid: Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.
73. Tibodeau J, Isham C, Bible K. 2010. Annatto constituent cis-bixin has selective antimyeloma effects mediated by oxidative stress and associated with inhibition of thioredoxin and thioredoxin reductase. *Antioxid Redox Signal* 13:987-997.
74. Thompkinson DK, Kharb S. 2007. Aspects of infant food formulation. *FoodScience and Safety* 6: 79-102.
75. Toledo de Oliveira T, Nagem TJ, Rocha da Costa M, Marciano da Costa L, Magalhaes NM, Stringheta PC, Queiroga de Lima E, Kling de Moraes GH, Da Silva VH. 2004. Propiedades biológicas de los tintes naturales. *Ars. Pharmaceutica* 45 (Suppl.1): 5-20
76. Tuoying A. 2011. Reemplazo de vitamina E con un producto antioxidante en dietas para aves. *Industria Avícola*: 22-23.
77. Vaca AL. 2003. Producción avícola. 1era ed. San José: Editorial Universidad Estatal a Distancia. 197-198 p.

78. Villalobos L. 2006. Manual de plantas medicinales para curar animales domésticos en la comunidad de Pacora. 1^{era} ed. Lima: Universidad Agraria La Molina. 8-9 p.
79. Valls GJL. 2014. Las primeras semanas y las últimas 24 horas: dos momentos críticos en la crianza de pollos de engorde. En: XIII Seminario Internacional de Patología y Producción Aviar. AMEVEA. Athens: Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Aves.