

USO POTENCIAL DE SUBPRODUCTOS BIORREFINADOS DE *Moringa oleifera* EN LA ALIMENTACIÓN DE CODORNICES JAPONESAS

POTENTIAL USE OF *Moringa oleifera* BIOREFINING BYPRODUCTS IN THE DIET OF JAPANESE QUAILS

Raimundo Pérez-Ángel, J. José Portillo-Loera, Carlos Castro-Tamayo, K. Anais Urias-Ramos, Ignacio Contreras-Andrade*

Universidad Autónoma de Sinaloa (rpangel61@hotmail.com, castrotamayo@uas.edu.mx, castrotamayo@uas.edu.mx, anaicurias1991@hotmail.com, ica@uas.edu.mx).

RESUMEN

Con el fin de evaluar la pasta desgrasada por prensado de semilla (SMOD) y una harina de residuo de hojas fermentadas por *Mucor circinelloides-Saccharomyces cerevisiae* (HMHF), subproductos biorrefinados de los procesos de producción de biodiesel y bioetanol a partir de *Moringa oleifera* (MO), se probó el efecto de su inclusión en dietas de iniciación y finalización para codornices japonesas, midiéndose parámetros de desarrollo y rendimientos de canal. Los resultados se compararon con dietas conteniendo hoja de MO no fermentada (HMNT) y una convencional (TEST). Para ello, se alimentaron 180 codornices durante 35 días con las dietas formuladas. Durante la etapa de iniciación la dieta con HMNT mostró la menor ganancia de peso y la mayor mortalidad. SMOD obtuvo el mayor promedio de peso vivo final, ganancia de peso y menor conversión alimenticia. SMOD presentó los pesos más altos y HMNT los mayores porcentajes de canal caliente y fría. Se concluye que las pastas de semilla desgrasada por prensado y la harina de hoja fermentada de MO pueden usarse a los niveles de inclusión probados, en dietas para alimentar codornices japonesas sin efectos negativos en su crecimiento.

Palabras clave: alimentación animal, bioproceso consolidado (BPC), biorrefinería, *Coturnix japonica*, *Mucor circinelloides*, *Saccharomyces cerevisiae*.

INTRODUCCIÓN

La producción avícola es la de mayor crecimiento y la más flexible de todos los sectores de la ganadería en México. La carne y huevos de ave proporcionan no sólo proteínas de alta calidad, sino también vitaminas y minerales importantes. Sin embargo, en los trópicos, la productividad de las aves de

ABSTRACT

With the aim of evaluating the degreased paste from seed pressing (SMOD) and a residue flour from leaves fermented by *Mucor circinelloides-Saccharomyces cerevisiae* (HMHF), biorefining byproducts from the processes of biodiesel and bioethanol production from *Moringa oleifera* (MO), the effect of their inclusion was tested in fattening Japanese quails, measuring productive response parameters and carcass yields. The results were compared to diets containing unfermented MO leaf (HMNT) and a conventional one (TEST). For this purpose, 180 quails were fed during 35 days with the formulated diets. The diet with HMNT showed the lowest weight gain and the highest mortality. SMOD obtained the highest average of final live weight, weight gain and the lowest food conversion. SMOD presented the highest weights and HMNT the highest percentages of warm and cold carcass. It is concluded that the degreased pastes from seed pressing and the flour from fermented MO can be used at the inclusion levels tested in diets to feed Japanese quails, without negative effects on their growth.

Key words: biorefining, consolidated bioprocessing (CBP), *Coturnix coturnix japonica*, *Mucor circinelloides*, *Saccharomyces cerevisiae*, animal diet.

INTRODUCTION

Poultry production is the most flexible of all the livestock production sectors in Mexico and the one of greatest growth. Bird meat and eggs provide not only high-quality proteins, but also important vitamins and minerals. However, in the Tropics, the productivity of poultry is limited by scarcity and high prices of conventional foods rich in protein and energy (Oghenebrohie and Oghenesuvwe, 2016), which is why it is necessary to seek local alternatives for these nutrients. Some

* Autor responsable ✦ Author for correspondence.

Recibido: marzo, 2019. Aprobado: abril, 2020.

Publicado como ARTÍCULO en ASyD 18: 413-429. 2021.

corral está limitada por la escasez y altos precios de las alimentos convencionales ricos en proteína y energía (Ogheneborhie y Oghenesuvwe, 2016), por lo que hay la necesidad de buscar localmente alternativas para estos nutrientes. Algunas fuentes baratas son las harinas de hoja de algunas legumbres y plantas tropicales (Iheukwumere *et al.*, 2008), así como los residuos industriales y la vegetación perenne de rápido crecimiento. *Moringa oleifera* es una planta que ha sido utilizada para la alimentación animal y humana por su alto contenido de proteína digerible, calcio, hierro, vitamina C y carotenoides en hojas (Makkar y Becker, 1996; Makkar *et al.*, 2007). Los análisis proximales indican que las hojas deshidratadas de *M. oleifera* contienen 28.65% de proteína (Teixeira *et al.*, 2014). Por su parte, Ogunsina *et al.* (2010) reportan que las semillas de *M. oleifera* contienen 34.8% de lípidos y 31.6% de proteína. El aceite extraído de la semilla de MO se ha estudiado como alternativa para la producción de biodiesel (Azad *et al.*, 2015). Por otro lado, las hojas de esta planta son una fuente atractiva para la producción de alimentos para humanos (Boateng *et al.*, 2017), animales y productos farmacéuticos (Saini *et al.*, 2014). De la biomasa lignocelulósica se pueden obtener biocombustibles sólidos y bioetanol (Ali y Kemat, 2017). Por todo ello, y por su adaptabilidad a condiciones de clima y suelos desfavorables, *M. oleifera* es una opción prometedora para el desarrollo de biorrefinerías en regiones tropicales del mundo (Raman *et al.*, 2017). En la Figura 1 se muestra un modelo simplificado de biorrefinería a partir de la semilla y lignocelulosa de MO. Como se ve en dicha figura, como subproducto de la extracción de aceite de las semillas de moringa destinado para la producción de biodiésel se obtiene un residuo, el cual puede destinarse a la alimentación animal.

Así mismo, durante el bioproceso consolidado de la hidrólisis y la fermentación se consumen principalmente carbohidratos de la lignocelulosa produciendo etanol como producto primario, generándose secundariamente residuos que contienen mayormente proteínas y lignina (Chen, 2014; Anasontzis *et al.*, 2016).

Mucor circinelloides ha sido estudiado por su capacidad de producción de etanol en cultivo sumergido (Lübbenhüsen *et al.*, 2004). En investigaciones realizadas por este equipo de trabajo (datos en proceso de publicación), se evaluaron 5 cepas autóctonas de hongos etanolgénicos en consorcio con *Saccharomyces cerevisiae*

inexpensive sources are flours from the leaves of some legumes and tropical plants (Iheukwumere *et al.*, 2008), as well as industrial residues and fast-growth perennial vegetation. *Moringa oleifera* is a plant that has been used for animal and human diets due to its high content of digestible protein, calcium, iron, vitamin C and carotenoids in its leaves (Makkar and Becker, 1996; Makkar *et al.*, 2007). Proximal analyses indicate that the dehydrated leaves of *M. oleifera* contain 28.65% of protein (Teixeira *et al.*, 2014). For their part, Ogunsina *et al.* (2010) report that the seeds of *M. oleifera* contain 34.8% of lipids and 31.6% of protein. The oil extracted from the MO seed has been studied as alternative for biodiesel production (Azad *et al.*, 2015). On the other hand, the leaves of this plant are an attractive source for the production of foods for humans (Boateng *et al.*, 2017), animals, and for pharmaceutical products (Saini *et al.*, 2014). Solid biofuels and bioethanol can be obtained from the lignocellulose biomass (Ali and Kemat, 2017). Because of all this, and due to its adaptability to climate conditions and unfavorable soils, *M. oleifera* is a promising option for the development of biorefineries in tropical regions of the world (Raman *et al.*, 2017). Figure 1 shows a simplified model of biorefining from the seed and lignocellulose of MO. As can be seen in the figure, a residue is obtained as byproduct of the extraction of oil from the moringa seeds destined

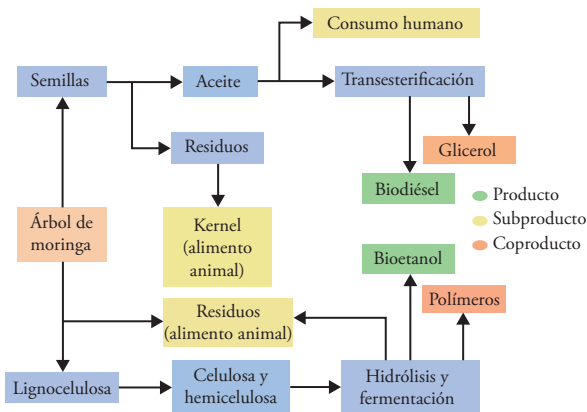


Figura 1. Modelo de una posible biorrefinería de *Moringa oleifera*, donde se señalan los productos y subproductos obtenidos de las semillas y lignocelulosa.

Figure 1. Model of a possible biorefining of *Moringa oleifera*, showing the products and byproducts obtained from the seeds and lignocellulose.

(ATCC 200062), utilizando biomasa lignocelulósica de MO como sustrato. La cepa C1502 identificada molecularmente como *Mucor circinelloides* (No. de acceso a GenBank MN128960) mostró el mayor rendimiento y productividad de etanol de todas las estudiadas (Fonseca-Peralta, 2017). Como subproducto del bioproceso consolidado desarrollado, se obtiene un aproximadamente 65% de subproducto proteico, el cual podría aprovecharse en la alimentación animal. Por otro lado, se han realizado diversos ensayos para determinar el efecto de hoja y semilla de moringa en la dieta sobre parámetros de crecimiento en aves. Oghenebrorhie y Oghenesuvwe (2016) encontraron que la inclusión de hasta 10% de harina de hoja de *M. oleifera* en la dieta de pollos de engorde no tuvo efecto negativo sobre la ganancia de peso, conversión alimenticia (CA) y el peso vivo final. Castillo *et al.* (2018) observaron que la inclusión de la hoja de *M. oleifera* en la etapa inicial en codornices japonesas inhibió la ganancia de peso (GP) y aumentó la CA; sin embargo, en el período de engorde no se vieron afectados estos parámetros.

Asimismo, Abbas y Ahmed (2012) reportaron que durante el período de iniciación, el uso de 1.5% de harina de semilla de *M. oleifera* limitó significativamente la GP, el peso corporal y la CA de pollos de engorda. Durante la etapa de finalización (22-35 días) y en el global (8-35 días), los niveles de suplementación con 0.37%, 0.75% y 1.5% de HSMO no produjeron ningún efecto negativo.

El propósito del presente trabajo fue evaluar dos subproductos biorrefinados de MO: 1) pasta de semilla desgrasada por prensado; y 2) hojas de moringa fermentadas por *Mucor circinelloides-Saccharomyces cerevisiae*. En los resultados se compararon los obtenidos de hojas de moringa sin fermentar y una dieta convencional (testigo) en la alimentación de codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) en engorda, midiendo parámetros productivos y de rendimiento en canal.

METODOLOGÍA

Material vegetal

Las materias primas utilizadas para la formulación de las dietas (maíz, soya, sal, caliza, aceite de soya, azúcar, metionina, fosfato dicálcico y las premezclas

for the production of biodiesel, which can be destined to the animal diet.

Likewise, during the consolidated bioprocess of hydrolysis and fermentation, carbohydrates are consumed mainly from the lignocellulose producing ethanol as primary product, generating secondary residues that contain mostly proteins and lignin (Chen, 2014; Anasontzis *et al.*, 2016).

Mucor circinelloides has been studied for its capacity of ethanol production in submerged cultivation (Lübbehüsen *et al.*, 2004). In studies conducted by this team (data in process of being published), 5 native strains of ethanologenic fungi in consortium with *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 200062) were evaluated, using lignocellulosic MO biomass as substrate. The C1502 strain identified molecularly as *Mucor circinelloides* (Access No. to GenBank MN128960) showed the highest yield and productivity of ethanol from all those studied (Fonseca-Peralta, 2017). As byproduct of the consolidated bioprocessing developed, approximately 65% of the protein byproduct is obtained, which could be used in animal feed. On the other hand, various trials have been carried out to determine the effect of the moringa leaf and seed on bird growth parameters. Oghenebrorhie and Oghenesuvwe (2016) found that the inclusion of up to 10% of the *M. oleifera* leaf flour in the diet of broiler chickens did not have a negative effect on weight gain, feed conversion rate (FCR) and final live weight. Castillo *et al.* (2018) observed that the inclusion of the *M. oleifera* leaf in the initial stage in Japanese quails inhibited weight gain (WG) and increased FC; however, during the fattening period these parameters were not affected.

Likewise, Abbas and Ahmed (2012) reported that during the initiation period, the use of 1.5% of flour of *M. oleifera* seed significantly limited the WG, body weight and the FCR of broiler chickens. During the finishing stage (22-35 days) and globally (8-35 days), the levels of supplementation with 0.37%, 0.75% and 1.5% of HSMO did not produce any negative effect.

The purpose of this study was to evaluate two biorefining byproducts of MO: 1) degreased paste from pressed seed; and 2) moringa leaves fermented by *Mucor circinelloides-Saccharomyces cerevisiae*. The results will be compared to those obtained from moringa leaves without fermenting and a

de vitaminas y minerales) fueron adquiridas localmente. Las hoja y semillas de moringa (Variedad "Guerrero") se obtuvieron de una plantación ubicada en las coordenadas 24° 59' 06" N y 107° 22' 44" O a 95 m sobre el nivel del mar, en el municipio de Culiacán, Sinaloa. Las hojas se cosecharon incluyendo raquis; las semillas secas se recogieron con su cápsula. Ambos materiales se llevaron al laboratorio donde se secaron en un horno eléctrico con circulación de aire a 60°C durante 24 horas.

Las semillas se extrajeron de la cápsula manualmente, la cascarilla se eliminó mecánicamente en descascarilladora modelo HD-11 (Reinmac, MX); para la extracción del aceite en frío se utilizó una prensa EPS-01 (EPS Group Surat, IN), a una temperatura promedio de prensado de 120°C.

Elaboración de harina hidrolizada y fermentada de biomasa de moringa

Se prepararon 2 litros de inóculo de cepas seleccionadas de *Mucor circinelloides* (C1502) y *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 200062) haciéndolos crecer respectivamente en caldo YPD (glucosa 20 g/l, peptona 20 g/l y extracto de levadura 10 g/l) a 28°C, sin agitación durante 7 días (d). Por otro lado, en 5 biorreactores de vidrio de 19 l (diseño propio) se prepararon caldos conteniendo 750 g de harina de MO en 15 l de agua, esterilizando en autoclave la mezcla a 121°C/25 min. Cada biorreactor se inoculó con 250 ml de cada inóculo y se mantuvo a 28°C por 48 h con agitación a 200 rpm y condiciones aerobias seguido de 72 h sin agitación en condiciones anaerobias, lo cual se consiguió colocando una esclusa de aire tipo S en la salida del biorreactor. Una vez terminada la fermentación se filtró por completo el contenido de los biorreactores utilizando una manta de polipropileno y el sólido obtenido se inactivó en autoclave (SK110c, Yamato, JP), a 121°C/15 min, seguido de secado en horno a 60°C durante 24 h. Tanto las hojas secas, el residuo hidrolizado, como la pasta de semilla desgrasada por prensado fueron trituradas por separado en un molino modelo 200 (Pulvex, MX) utilizando cedazo con orificios de 1 mm.

Análisis proximales

Se determinaron los parámetros proximales de humedad, proteínas, lípidos, fibra cruda y carbohidratos

conventional diet (control) in the diet of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) in fattening, measuring productive parameters, and of carcass yield.

METHODOLOGY

Plant material

Prime materials used for the formulation of diets (maize, soy, salt, limestone, soy oil, sugar, methionine, dicalcium phosphate, and pre-mixtures of vitamins and minerals) were acquired locally. The moringa leaf and seeds ("Guerrero" variety) were obtained from a plantation located in coordinates 24° 59' 06" N and 107° 22' 44" W at 95 m above sea level, in the municipality of Culiacán, Sinaloa. The leaves were harvested including rachis; the dry seeds were collected with their capsule. Both materials were taken to the laboratory where they were dried in an electric oven with air circulation at 60 °C during 24 hours.

The seeds were extracted from the capsule manually, the husk was eliminated mechanically in a dehusking machine model HD-11 (Reinmac, MX); for the cold-pressed oil extraction, an EPS-01 press was used (EPS Group Surat, IN), at an average pressing temperature of 120°C.

Elaboration of hydrolyzed and fermented flour from moringa biomass

Two liters of strain inoculum selected from *Mucor circinelloides* (C1502) and *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 200062) were prepared, growing them respectively in YPD culture liquid (glucose 20 g/l, peptone 20 g/l and yeast extract 10 g/l) at 28°C, without agitation during 7 days (d). On the other hand, culture liquids were prepared in 5 glass bioreactors of 19 l (own design), containing 750 g of MO flour in 15 l of water, sterilized the mixture in autoclave at 121°C/25 min. Each bioreactor was inoculated with 250 ml of each inoculum and kept at 28 °C for 48 h with agitation at 200 rpm and aerobic conditions, followed by 72 h without agitation in anaerobic conditions, which was attained by placing a S-type air sluiceway on the bioreactor's exit. Once the fermentation was finished, the content of the bioreactors was filtered completely using a polypropylene blanket and the solid obtained was

de la harina de hoja (HMNT), harina de hoja fermentada (HMHF), de semilla sin desgrasar (SMOC) y desgrasada (SMOD) de moringa, empleando la metodología de la AOAC (2005). Para la determinación de humedad se utilizó el método 930.04; para cenizas, 930.05; para lípidos, 920.39; para fibra cruda, 962.09; para proteínas, 960.52, con un factor de conversión de 6.25. Los carbohidratos se calcularon como extracto libre de nitrógeno (ELN) restando de 100 %, los valores de cenizas, proteínas, lípidos y fibra cruda.

Formulación de dietas

Considerando la información del análisis se formularon respectivamente las siguientes dietas de iniciación (1 a 14 d) y finalización (15 a 35 d): harina de hoja de *M. oleifera* no tratada al 10% (HMNT1, HMNT2), harina de hoja de *M. oleifera* hidrolizada y fermentada al 10% (HMHF1, HMHF2), harina de semilla de *M. oleifera* desgrasada a 5% (SMOD1 y SMOD2) y testigos (TEST1 y TEST2). Para las materias primas como maíz y soya, los cálculos nutrimentales están basados en las tablas de la NRC (1994) mientras que los perfiles de minerales, contenido de ácidos grasos y aminoácidos de la hoja y semilla de moringa se calcularon a partir de los datos publicados por Al-Juhaimi *et al.* (2017).

Medición de respuesta productiva

Se realizó en la Unidad Avícola Experimental de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Para la determinación del crecimiento de las aves se seleccionaron aleatoriamente 180 codornices japonesas no sexadas de un día de edad, 15 codornices se asignaron al azar a cada jaula metálica marcada con uno de los siguientes tratamientos: HMNT, dieta conteniendo 10% de harina de hoja de *Moringa oleifera* cruda; HMHF, dieta conteniendo 10% de harina de hoja de *M. oleifera* fermentada; SMOD, dieta conteniendo 5% de pasta de semilla de *M. oleifera* desgrasada y TEST, testigo. Las jaulas se colocaron dentro de una caseta avícola tipo convencional (9×9 m); el micro clima al interior de la caseta fue 25.6 a 32.3 °C y 51 a 77% de HR. Cada jaula metálica de 90×90×60 cm, colocada sobre piso de cemento con cama de heno de Sudán

inactivated in an autoclave (SK110c, Yamato, JP), at 121 °C/15 min, followed by drying in oven at 60 °C for 24 h. The dry leaves, the hydrolyzed residue, and the degreased paste from pressed seed were ground separately in a mill model 200 (Pulvex, MX) using a sieve with holes of 1 mm.

Proximal analyses

The proximal parameters of moisture, proteins, lipids, raw fiber and carbohydrates (HMNT), fermented leaf flour (HMHF) of moringa seed without degreasing (SMOC) and degreased (SMOD) were determined, using the methodology by AOAC (2005). For moisture determination, the 930.04 method was used; for ashes, 930.05; for lipids, 920.39; for raw fiber, 962.09; for proteins, 960.52, with a conversion factor of 6.25. The carbohydrates were calculated as nitrogen free extract (ELN) subtracting the values of ashes, proteins, lipids and raw fiber from 100%.

Formulation of diets

Considering the information of the analysis, the following starting (1 to 14 d) and finishing (15 to 35 d) diets were formulated, respectively: untreated *M. oleifera* leaf flour at 10% (HMNT1, HMNT2), hydrolyzed and fermented *M. oleifera* leaf flour at 10% (HMHF1, HMHF2), degreased *M. oleifera* seed flour at 5% (SMOD1 and SMOD2) and controls (TEST1 and TEST2). For prime materials such as maize and soy, the nutritional calculations are based on the NRC (1994) tables while the mineral profiles, content of fatty acids and amino acids of the moringa leaf and seed were calculated from the data published by Al-Juhaimi *et al.* (2017).

Measurement of productive response

It was carried out in the Experimental Unit of Aviculture of the Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia of the Universidad Autónoma de Sinaloa. To determine the growth of the birds, 180 Japanese non-sexed quails of one day of age were selected; 15 quails were assigned randomly to each metallic cage marked with one of the following treatments: HMNT, diet containing 10% raw *Moringa oleifera* leaf flour; HMHF, diet containing 10% fermented

(*Sorghum vulgare* var. Sudanensi) se equipó con comederos de charola metálica rectangular (20×30 cm) y bebederos de 1 litro durante la etapa de iniciación y comederos tipo tolva semiautomático de piso de 25×17.5×25 cm y un bebedero vitrolero de 3.8 l en la etapa de finalización. Al agua se le agregó 1 g/10 l de un complejo de vitaminas (Carosen® concentrado) y 10 g/20 l de electrólitos orales (Electrólitos®, Riverfarma) durante la primera semana. Las aves se alimentaron *ad libitum*, pesándose diariamente el alimento servido y semanalmente, el alimento no consumido. Se midieron los pesos corporales de todas las codornices al inicio y a los días 7, 14, 21, 28 y 35.

Diseño experimental

El diseño experimental fue de un solo factor, con cuatro tratamientos y tres repeticiones (jaulas) por tratamiento. Las variables de respuesta consideradas son peso vivo (PV), ganancia de peso (GP), conversión alimentaria (CA) y porcentaje de mortalidad (MORT). Se consideraron dos medidas repetidas en el tiempo, correspondientes a las etapas de iniciación (día 14) y finalización (día 35). Los resultados fueron analizados con el paquete estadístico Minitab® 17. Se realizó comparación entre medias por la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Rendimientos en canal

En el día 35 del experimento, se tomaron al azar tres codornices macho de cada jaula, las cuales fueron sometidas a 12 h de ayuno de alimento. El sacrificio que fue realizado por decapitación (SAGARPA, 2014) y se desangraron por 4 minutos. En el proceso de faenado se separó la piel y plumas manualmente, se realizó el corte de las articulaciones radio-carpiana y tibio-tarsiana, extracción de los órganos digestivos y respiratorios, a excepción del corazón y riñones (Tserveni-Gousi *et al.*, 1999; Oliveira *et al.*, 2005). Las canales fueron pesadas (peso de canal caliente); enseguida se enfriaron sumergiéndolas por 10 min en agua (-4 °C) con hielo y escurridas para medir el peso de la canal fría (Tserveni-Gousi *et al.*, 1999). Los rendimientos en canal caliente y en canal fría se calculan según la siguiente ecuación (Cori *et al.*, 2009):

M. oleifera leaf flour; SMOD, diet containing 5% of degreased *M. oleifera* seed paste and TEST, the control. The cages were placed inside a conventional-type poultry shed (9×9 m); the micro climate inside the shed was 25.6 to 32.3 °C and 51 to 77% of RH. Each metallic cage of 90×90×60 cm, placed on the cement floor with a Sudan hay bed (*Sorghum vulgare* var. Sudanensi), was equipped with bird feeders on a rectangular metallic tray (20×30 cm) and drinking troughs of 1 liter during the starting stage, and semi-automatic floor chute feed troughs of 25×17.5×25 cm and a glass container water trough of 3.8 l in the finishing stage. To the water, 1 g/10 l of a vitamin complex (Carosen® concentrate) and 10 g/20 l of oral electrolytes (Electrólitos®, Riverfarma) were added during the first week. The birds were fed *ad libitum*, and the food served was weighed daily and weekly, as well as the food not consumed. The body weights of all the quails were measured at the beginning and on days 7, 14, 21, 28 and 35.

Experimental design

The experimental design was of a single factor, with four treatments and three repetitions (cages) per treatment. The response variables considered are live weight (LW), weight gain (WG), feed conversion rate (FCR), and mortality percentage (MORT). Two means repeated in time were considered, corresponding to the starting (day 14) and finishing (day 35) stages. The results were analyzed with the statistical package Minitab® 17. A means comparison was carried out with Tukey's test ($p < 0.05$).

Carcass yields.

On day 35 of the experiment, three male quails were taken randomly from each cage, which were subjected to 12 h of food fast. The sacrifice was performed by decapitation (SAGARPA, 2014) and they were bled for 4 minutes. In the butchering process, the skin and feathers were separated manually, and the cut from the radius-carpus and tibia-tarsus articulations, as well as the extractions of digestive and respiratory organs, except the heart and kidneys, was performed (Tserveni-Gousi *et al.*, 1999; Oliveira *et al.*, 2005). The carcasses were weighed (hot carcass weights); then, they

$$\text{Rendimiento de cana} = \frac{\text{Peso canal}}{\text{Peso vivo}} \times 100\% \quad (1)$$

El porcentaje de absorción de agua de la canal se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Absorción agua de canal} = \frac{\text{Peso canal} - \text{Peso canal caliente}}{\text{Pesos canal caliente}} \times 100\% \quad (2)$$

Diseño experimental

La unidad experimental correspondió al conjunto de tres aves de las quince colocadas en cada jaula, evaluándose las siguientes variables: a) Peso de canal caliente; b) Peso de canal fría; c) Porcentaje de canal caliente; d) Porcentaje de canal fría; e) Porcentaje de absorción de agua de la canal. Los resultados fueron analizados con el paquete estadístico Minitab® 17. Se realizó comparación entre medias por la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimientos de harina desgrasada de semilla de moringa

Por cada 100 g de semilla descascarada de *M. oleifera* se obtuvieron durante el prensado 25.5 g de aceite y 74.5 g de pasta desgrasada. Como se muestra en el Cuadro 1, el aceite extraído por prensado sólo representa una fracción del total contenido en la semilla cruda (SMOC), de allí que la pasta desgrasada

were cooled by submerging them for 10 min in water (-4°C) with ice and strained to measure the weight of the cold carcass (Tserveni-Gousi *et al.*, 1999). The yields in hot carcass and cold carcass are calculated according to the following equation (Cori *et al.*, 2009):

$$\text{Rendimiento de cana} = \frac{\text{Peso canal}}{\text{Peso vivo}} \times 100\% \quad (1)$$

The percentage of water absorption of the carcass was calculated with the following formula:

$$\text{Absorción agua de canal} = \frac{\text{Peso canal} - \text{Peso canal caliente}}{\text{Pesos canal caliente}} \times 100\% \quad (2)$$

Experimental design

The experimental unit corresponded to the set of three birds from the fifteen placed in each cage, evaluating the following variables: a) Warm carcass weight; b) Cold carcass weight; c) Percentage of warm carcass; d) Percentage of cold carcass; e) Percentage of water absorption of the carcass. The results were analyzed with the statistical package Minitab® 17. A means comparison was performed with Tukey's test ($p < 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Yields of degreased moringa seed flour

For each 100 g of *M. oleifera* husked seed, 25.5 g of oil and 74.5 g of degreased paste were obtained

Cuadro 1. Composición proximal de biomasa lignocelulósica y semilla de *M. oleifera*, antes y después de ser procesadas.

Table 1. Proximal composition of *M. oleifera* lignocellulose biomass and seed, before and after being processed.

Nutriente	HMNT ¹	HMHF ²	SMOC ³	SMOD ⁴
Humedad	6.42	4.44	3.88	5.70
Minerales %	7.60	4.18	3.34	4.42
Proteínas %	17.78	20.81	40.62	48.51
Lípidos %	7.64	7.35	32.77	11.14
Fibra cruda %	13.30	30.06	1.35	2.76
Carbohidratos	47.26	33.16	21.93	27.47

¹HMNT, hoja y raquis de moringa no tratados (sin fermentar); ²HMHF, hoja y raquis de moringa hidrolizada y fermentada; ³SMOC, semilla de moringa cruda; ⁴SMOD, semilla de moringa desgrasada. ♦ ¹HMNT, untreated moringa leaf and rachis (without fermentation); ²HMHF, hydrolyzed and fermented moringa leaf and rachis; ³SMOC, raw moringa seed; ⁴SMOD, degreased moringa seed.

(SMOD) reste con un porcentaje no despreciable del mismo.

Rendimientos del fermentado de biomasa de moringa

Para los cinco fermentadores utilizados, el balance de materia general se resume la Figura 2 donde se muestra que a partir de 3.75 kg de hoja y raquis de moringa se obtuvieron 2.5 kg de residuo. Aunque no se cuantificó, teóricamente, se obtendrían también 625 g de etanol y 625 g de dióxido de carbono. Por lo tanto, el residuo fermentado representa 66.67% de la biomasa empleada en el proceso, de allí la importancia de encontrarle utilidad.

Análisis proximales

Los resultados de los análisis proximales de las materias primas y residuos de los procesos de prensado de la semilla y biomasa de moringa reportados en el Cuadro 1 muestran que la harina de hoja de moringa tuvo valores similares a los reportados por Castillo *et al.* (2018), excepto para el contenido de proteínas que es más bajo. Esto puede atribuirse a que en el presente trabajo se utilizó hoja de moringa más pobre en proteínas y rica en fibra, ya que se usó la hoja completa, que incluye tanto folíolos como raquis.

En la hoja fermentada en cambio, el contenido de carbohidratos disminuyó respecto a la hoja cruda, debido probablemente al uso por parte del hongo y la levadura como fuente de energía y para la construcción de sus estructuras celulares. Lo anterior se pudo reflejar también en el aumento del contenido de fibra cruda, ya que *M. circinelloides*,

during pressing. As shown in Table 1, the oil extracted from pressing only represents a fraction of the total contained in the raw seed (SMOC), from this that the degreased paste (SMOD) presents a non-negligible percentage of it.

Yields of the moringa biomass ferment

For the five fermenters used, the balance of general material is summarized in Figure 2 which shows that from 3.75 kg of leaf and rachis of moringa, 2.5 kg of residue were obtained. Although it was not quantified, theoretically, 625 g of ethanol and 625 g of carbon dioxide would also be obtained. Therefore, the fermented residue represents 66.67% of the biomass used in the process, and from this, the importance of finding them useful.

Proximal analyses

The results from the proximal analyses of the prime materials and residues of the processes of moringa seed and biomass pressing reported in Table 1 show that the flour of moringa leaf had similar values to those reported by Castillo *et al.* (2018), except for the protein content that is lower. This could be attributed to the fact that the moringa leaf used in this study was poorer in protein and richer in fiber, since the complete leaf was used, which includes both folioles and rachis.

In the fermented leaf, instead, the carbohydrate content decreased with regard to the raw leaf, probably due to its use by the fungus and the yeast as energy source and for the construction of their cell structures. This could also be reflected in the increase of raw fiber content, since *M.*

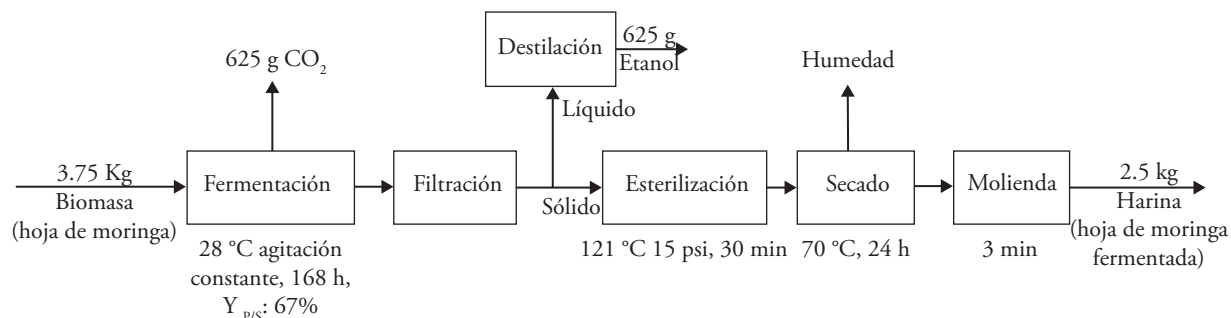


Figura 2. Balance de materia para la producción del residuo fermentado.
Figure 2. Balance of material for the production of the fermented residue.

como la mayoría de los hongos producen el carbohidrato quitina para la construcción de su pared celular (Fai *et al.*, 2011). El contenido de proteínas presentó un leve aumento, ya que el balance general del proceso de fermentación se inclinó más hacia un descenso del contenido de carbohidratos, transformados en alcohol y dióxido de carbono, que a la degradación de las proteínas en otro tipo de compuestos.

Para la SMOD, el contenido de proteínas fue inferior al reportado por Ogunsina *et al.* (2010), quienes encontraron 62.76% de proteína y 0.08% de lípidos. Lo anterior se debe a que en este trabajo se empleó pasta desgrasada por prensado, con una mayor proporción de lípidos (11.14%), mientras que los autores citados utilizaron pasta de semilla desgrasada por solventes.

Composición de las dietas de iniciación y finalización

El Cuadro 2 presenta los datos de las formulaciones para las dietas de iniciación (1) y finalización (2) que fueron proporcionados a las codornices. Estas dietas fueron diseñadas para proporcionar cantidades equivalentes de nutrientes y calorías.

En el Cuadro 3 se presenta el contenido nutricional calculado de las dietas utilizadas en el experimento.

Peso vivo

El Cuadro 4 muestra que hubo diferencias significativas desde el día 7 y hasta el día 35 ($p < 0.05$) en los pesos de las codornices alimentadas con las diferentes dietas de crecimiento, siendo claro el bajo peso relativo en las dietas con hoja no fermentada de moringa (HMNT1 y HMNT2), lo cual no fue observado con la hoja fermentada (HMHF1 y HMHF2). Lo anterior concuerda también con lo reportado por Castillo *et al.* (2018), quienes encontraron que niveles de inclusión de harina de hoja de *M. oleifera* mayores de 10% en las dietas de iniciación codornices japonesas, están relacionados a menores pesos vivos. Estos resultados parecen indicar que el hidrolizado de la hoja de moringa pudiera tener un efecto favorable en el desarrollo de las codornices, posiblemente debido a la inactivación de factores antinutricionales y al aumento en la disponibilidad de proteínas, aminoácidos esenciales

circinelloides produces the chitin carbohydrate for the construction of its cell wall, as most fungi (Fai *et al.*, 2011). The protein content presented a slight increase, since the general balance of the fermentation process was inclined more towards a decrease of carbohydrate content, transformed into alcohol and carbon dioxide, than towards the degradation of proteins in another type of compound.

For SMOD, the protein content was lower than what was reported by Ogunsina *et al.* (2010), who found 62.76% of protein and 0.08% of lipids. This is because degreased paste by pressing was used in this study, with a higher proportion of lipids (11.14%), while the cited authors used seed paste degreased by solvents.

Composition of the starting and finishing diets

Table 2 presents the data of the formulations for the starting (1) and finishing (2) diets that were provided to the quails. These diets were designed to supply equivalent amounts of nutrients and calories.

Table 3 presents the nutritional content calculated from the diets used in the experiment.

Live weight

Table 4 shows that there were significant differences since day 7 and until day 35 ($p < 0.05$) in the weights of the quails fed with different growth diets, with a clear relative low weight in the unfermented moringa leaf diets (HMNT1 and HMNT2), which was not observed with the fermented leaf (HMHF1 and HMHF2). This also agrees with what was reported by Castillo *et al.* (2018), who found that levels of inclusion of *M. oleifera* leaf flour higher than 10% in the starting diets of Japanese quails are related to lower live weights. These results seem to indicate that the moringa leaf hydrolysate could have a favorable effect on the development of quails, possibly due to the inactivation of anti-nutritional factors and the increase in availability of proteins, essential amino acids and carbohydrates. This phenomenon has already been tested in many fermented foods, and specifically in the moringa seed (Ijarotimi *et al.*, 2013). The treatments that contained degreased seed paste (SMOD) and moringa leaf ferment

Cuadro 2. Composición de las dietas de iniciación (1) y finalización (2) (g/100g).

Table 2. Composition of the starting (1) and finishing (2) diets (g/100g).

Ingrediente	Iniciación				Finalización			
	HMNT1	HMHF1	SMOD12	TEST1	HMNT2	HMHF2	SMOD2	TEST2
Maíz molido	26.90	19.00	36.45	36.70	40.36	41.15	49.42	48.55
Pasta de Soya	53.30	58.80	50.10	55.60	42.85	41.90	39.88	44.63
Hoja de MO no fermentada	10.00	0.00	0.00	0.00	10.00	0.00	0.00	0.00
Hoja de MO fermentada	0.00	10.00	0.00	0.00	0.00	10.00	0.00	0.00
Pasta desgrasada de semilla MO	0.00	0.00	5.00	0.00	0.00	0.00	5.00	0.00
Aceite de Soya	4.30	5.00	3.10	4.30	2.95	3.11	1.75	3.05
Azúcar	2.10	3.80	1.95	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Sal	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
L-Lisina	0.00	0.00	0.00	0.00	0.22	0.22	0.30	0.15
DL-Metionina	0.20	0.20	0.20	0.20	0.25	0.25	0.13	0.22
L-Treonina	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12	0.12	0.22	0.15
Piedra caliza fina	1.30	1.30	1.30	1.30	1.25	1.25	1.25	1.30
Fosfato dicálcico	0.90	0.90	0.90	0.90	1.00	1.00	1.05	0.95
Premezcla de vitaminas ¹	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Premezcla de minerales ²	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Prebiótico (S. cerevisiae)	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Adsorbente de micotoxinas ³	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Fitasa ⁴	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

¹ Premezcla de vitaminas que proveen lo siguiente por kg de dieta: 12 500 IU (retinol); 4480 IU (coleciferol); 30 IU (acetato de tocoferol); 3 mg de menadiona bisulfuro de sodio; 1.5 mg de tiamina; 6 mg de riboflavina; 3 mg piridoxina; 15 mg cianocobalamina; 1.5 mg de ácido fólico; 55 mg de niacina; 15 mg pantotenato de calcio; 180 µg de biotina; 600 mg de colina; 120 mg de Banox (BHA+BHT).

² Premezcla de minerales que proveen lo siguiente por kg de dietar: 75 mg de Mn; 75 mg de Zn; 75 mg de Fe; 900 mg de Mo; 750 µg de Co; 105 mg de Se. ³ Aluminosilicato, Zeolex. ⁴ Natuphos* 5000 GP Fitasa, Basf Mexicana, S.A. de C.V. ♦ ¹Pre-mixture of vitamins that supply the following per kg of diet: 12 500 IU (retinol); 4480 IU (cholecalciferol); 30 IU (tocopherol acetate); 3 mg of menadione sodium bisulfite; 1.5 mg thiamine; 6 mg riboflavin; 3 mg pyridoxine; 15 mg cyanocobalamin; 1.5 mg folic acid; 55 mg niacin; 15 mg calcium pantothenate; 180 µg biotin; 600 mg colin; 120 mg Banox (BHA+BHT). ²Pre-mixture of minerals that supply the following per kg of diet: 75 mg Mn; 75 mg Zn; 75 mg Fe; 900 mg Mo; 750 µg Co; 105 mg Se. ³Aluminosilicate, Zeolex. ⁴Natuphos* 5000 GP Fitasa, Basf Mexicana, S.A. de C.V.

y carbohidratos. Este fenómeno, ya ha sido comprobado en muchos alimentos fermentados, y específicamente en la semilla de moringa (Ijarotimi *et al.*, 2013). Los tratamientos conteniendo pasta de semilla desgrasada (SMOD) y fermentado de hoja de moringa (HMHF) no presentaron diferencias respecto al testigo (p<0.05).

Ganancia de peso

El Cuadro 5 muestra que hubo diferencias significativas en las GP entre los tratamientos en la etapa de iniciación y acumulada, pero no entre los tratamientos de la etapa de crecimiento. Incluso, para ese período, la dieta HMNT2, que contiene hoja no tratada de moringa fue muy similar a las demás dietas. Esto coincide con lo señalado por Gadzirayi y Mupangwa (2013), quienes observaron

(HMHF) did not present differences compared to the control (p<0.05).

Weight gain

Table 5 shows that there were significant differences in the WG between treatments in the starting and accumulated stage, but not between the treatments of the growth stage. In fact, for this period, the HMNT2 diet, which contains untreated moringa was very similar to the other diets. This agrees with what was pointed out by Gadzirayi and Mupangwa (2013), who observed lower WG in the starting stage in Japanese quails fed partially with moringa leaf, while in the growth stage this effect was not significant. Mateos *et al.* (2012) observed the same behavior in chickens and attribute it to the high content of raw fiber

Cuadro 3. Contenido nutrimental calculado de las dietas de iniciación y finalización.**Table 3.** Nutritional content calculated from the starting and finishing diets.

Nutriente	HMNT1	HMHF1	SMOD1	TEST1	HMNT2	HMHF2	SMOD2	TEST2
EM Kcal/kg	2886.59	2853.97	2893.17	2857.48	2903.13	2902.05	2899.61	2900.12
Humedad %	9.62	9.17	9.96	10.29	9.94	9.72	10.20	10.40
Proteína cruda %	27.49	27.50	27.50	27.51	24.00	23.94	24.01	23.64
Fibra cruda %	4.66	6.48	3.29	3.57	4.43	5.99	3.20	3.28
Extracto etéreo %	2.23	1.94	1.88	1.80	2.65	2.61	2.49	2.15
Ácido linoleico %	2.92	3.17	2.44	3.09	2.40	2.49	1.92	2.60
Ácido linolénico %	0.16	0.19	0.12	0.37	0.12	0.12	0.08	0.28
Lisina %	1.69	1.86	1.36	1.50	1.66	1.68	1.41	1.39
Metionina %	0.59	0.63	0.62	0.53	0.59	0.60	0.51	0.49
Cistina %	0.43	0.47	0.31	0.41	0.38	0.38	0.33	0.35
Treonina %	1.21	1.31	0.99	1.05	1.16	1.18	1.02	1.01
Triptófano %	0.50	0.55	0.39	0.44	0.44	0.44	0.33	0.36
Calcio %	0.83	0.84	0.85	0.83	0.80	0.79	0.83	0.81
Fósforo%	0.36	0.37	0.35	0.36	0.36	0.35	0.36	0.35

¹HMNT1, dieta de iniciación con hoja de moringa no fermentada; ²HMHF1, dieta de iniciación con hoja de MO fermentada; ³SMOD1, dieta de iniciación con pasta de semilla de MO desgrasada; TEST1, dieta de iniciación convencional; ¹HMNT2, dieta de finalización con hoja de MO no fermentada; ²HMHF2, dieta de finalización con hoja de MO fermentada; ³SMOD2, dieta de finalización con pasta desgrasada de semilla de MO; TEST2, dieta de finalización convencional. ♦ ¹HMNT1, starting diet with unfermented moringa leaf; ²HMHF1, starting diet with fermented MO leaf; ³SMOD1, starting diet with degreased MO paste; TEST1, conventional starting diet; ¹HMNT2, finishing diet with unfermented MO leaf; ²HMHF2, finishing diet with fermented MO leaf; ³SMOD2, finishing diet with degreased MO seed paste; TEST2, conventional finishing diet.

menor GP en la etapa de iniciación en codornices japonesas alimentadas parcialmente con de hoja de moringa, mientras que en la etapa de crecimiento este efecto no fue significativo. Mateos *et al.* (2012) observaron el mismo comportamiento en pollos y lo atribuyen al alto contenido de fibra cruda de las dietas con hoja de moringa, que provoca, en el periodo de iniciación, una menor retención y asimilación de los alimentos en el tracto digestivo aún inmaduro de las aves. Este efecto no se observó en el tratamiento con hoja fermentada, a pesar de su mayor contenido de fibra cruda. Aunque no fue analizado el contenido de quitina en la harina hidrolizada de moringa, se sabe que *Mucor circinelloides*, al igual

of the diets with moringa leaf, which causes lower retention and assimilation of the foods in the still-immature digestive tract of birds during the starting period. This effect was not observed in the treatment with fermented leaf, despite its higher content of raw fiber. Although the content of chitin in the hydrolyzed moringa flour was not analyzed, it is known that *Mucor circinelloides*, as most fungi, transform carbohydrates into chitin, an important component of its cell wall (Fai *et al.*, 2011). Chitin is quantifiable in the proximal analysis as part of the fiber (Cheung, 2013). On the other hand, it has been reported that poultry have the ability to partially digest chitin, because they synthesize the

Cuadro 4. Pesos vivos individuales por semana de codornices alimentadas con diferentes dietas conteniendo *M. oleifera*.**Table 4.** Individual live weights per week of quails fed with different diets containing *M. oleifera*.

Tratamiento	Estadístico	Inicio	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28	Día 35
SMOD	Media	12.21 ^a	52.30 ^a	109.56 ^a	166.75 ^a	216.05 ^a	244.42 ^a
HMHF	Media	12.14 ^a	50.82 ^a	105.51 ^a	162.78 ^{ab}	211.43 ^{ab}	235.99 ^{ab}
HMNT	Media	12.04 ^a	45.66 ^b	97.05 ^b	154.70 ^b	204.16 ^b	229.16 ^b
TEST	Media	11.97 ^a	51.40 ^a	109.64 ^a	167.86 ^a	216.56 ^a	233.87 ^{ab}

Las medias que no comparten una letra en la misma columna son significativamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$). ♦ The means that do not share a letter in the same column are significantly different (Tukey, $p < 0.05$).

Cuadro 5. Ganancia de peso, alimento consumido, conversión alimentaria y mortalidad durante las etapas de iniciación, finalización y acumuladas de codornices japonesas.

Table 5. Weight gain, feed intake, feed conversion rate and mortality during the stages of starting, finishing and accumulated of Japanese quails.

Trat.	Iniciación				Finalización				Acumuladas			
	GP	AC	CA	Mort	GP	AC	CA	Mort	GP	AC	CA	Mort
SMOD	96.28 ^a	151.51 ^{ab}	1.574 ^{ab}	0.00 ^a	135.23 ^a	533.29 ^a	3.951 ^a	0.00 ^a	231.58 ^a	684.80 ^a	2.95 ^a	0.00 ^a
HMHF	93.37 ^a	153.87 ^a	1.659 ^b	0.00 ^a	123.51 ^a	519.10 ^a	4.214 ^a	2.22 ^{ab}	217.10 ^{ab}	673.73 ^a	3.17 ^{ab}	2.22 ^{ab}
HMNT	84.14 ^b	154.63 ^a	1.8335 ^c	0.00 ^a	122.65 ^a	512.05 ^a	4.185 ^a	2.96 ^b	206.92 ^b	665.92 ^a	3.38 ^b	2.96 ^b
TEST	97.67 ^a	139.88 ^b	1.4323 ^a	0.00 ^a	125.16 ^a	510.25 ^a	4.095 ^a	0.74 ^{ab}	223.11 ^{ab}	650.14 ^a	2.96 ^a	0.74 ^{ab}

Las medias que no comparten una letra en la misma columna son significativamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$). ♦ The means that do not share a letter in the same column are significantly different (Tukey, $p < 0.05$).

que la mayoría de los hongos transforman carbohidratos en quitina, un componente importante de su pared celular (Fai *et al.*, 2011). La quitina es cuantificable en el análisis proximal como parte de la fibra (Cheung, 2013). Por otro lado, se ha reportado que las aves de corral tienen capacidad de digerir parcialmente la quitina, gracias a que sintetizan la enzima quitinasa (Veldkamp *et al.*, 2012), lo que podría explicar en parte la mejor respuesta de las codornices a este subproducto que a la harina cruda.

En contraparte, con las dietas de conteniendo 5% de SMOD se obtuvieron las más altas GP. Lo anterior es contrario a lo señalado por Ochi *et al.* (2015) quien indica menores GP en aves alimentadas con semilla entera de *M. oleifera* a niveles de inclusión tan bajos como 1.5%. Esto hace suponer un efecto benéfico del proceso de prensado del aceite sobre las cualidades nutricionales de la harina de semilla, lo cual es común en los alimentos extrudidos, donde, la combinación de presión y temperatura elevadas vuelven por lo general más asimilables los alimentos sometidos a dichas condiciones físicas (Nouman *et al.*, 2014). Sería de gran interés probar en trabajos posteriores, mayores proporciones de SMOD en las dietas, para determinar sus niveles óptimos y máximos de inclusión.

Conversión alimenticia.

El comportamiento de la CA fue similar a la observada para la GP, encontrándose que, en el periodo de iniciación, los más altos índices de CA se presentaron en las codornices alimentadas con HMNT y los más bajos en las dietas conteniendo SMOD, lo que significa que éstas últimas fueron mejor asimiladas.

chitinase enzyme (Veldkamp *et al.*, 2012), which could explain in part the better response of the quails to this byproduct than to the raw flour.

In contrast, the highest WG were obtained with the diets containing 5% of SMOD. This is contrary to what was reported by Ochi *et al.* (2015) who indicates lower WG in birds fed with whole seeds of *M. oleifera* at levels of inclusion as low as 1.5%. This suggests a beneficial effect of the oil pressing process on the nutritional qualities of the seed flour, which is common in extruded foods, where the combination of high pressure and temperature generally make the foods subjected to those physical conditions more assimilable (Nouman *et al.*, 2014). It would be of great interest to test higher proportions of SMOD in the diets in future studies, in order to determine their optimal and maximum levels of inclusion.

Feed conversion rate

The behavior of the FCR was similar to the one observed for WG, finding that the highest indexes of FCR in the quails fed with HMNT were found during the starting period, and the lowest with the diets containing SMOD, which means that the latter were better assimilated.

Mortality

The mortality of the birds began to happen after the third week and it was higher ($p < 0.05$) in the treatments with HMNT. This effect could be because of accidental situations during the development of the experiment, although a damaging effect in

Mortalidad. La mortalidad de las aves se empezó a presentar después de la tercera semana y fue mayor ($p < 0.05$) en los tratamientos con HMNT. Este efecto podría deberse a situaciones accidentales durante el desarrollo del experimento, pero no se descarta un efecto nocivo en las aves por la acumulación tisular de metabolitos presentes en la hoja de moringa. Un grupo probable son los carotenoides, a juzgar por lo observado durante el sacrificio de las aves, donde los órganos internos, la carne y grasa de las codornices alimentadas con hoja no tratada de moringa presentaban un color amarillento (Figura 3).

Saini *et al.* (2013) mostraron que el nivel de carotenoides totales en la hoja seca de *M. oleifera* es de alrededor de 160 mg/100 g. Si consideramos que en las dietas HMNT el nivel de inclusión de hoja fue de 10%, la dieta contendría 0.16 mg/g de alimento y durante los 35 días de alimentación cada codorniz ingiere en total 106.7 mg de retinol. Ésto equivale a 465.6 mg/kg de peso de ave, lo cual es inferior, pero no muy lejano al DL_{50} del retinol que es de 2000 mg/kg de peso corporal (rata), habiendo la posibilidad de que efectivamente haya una acción tóxica en algunas de las aves. Se requiere de más estudios para poder corroborar lo anterior. En cuanto al alimento con HMHF, no se encontraron mortalidades superiores al testigo ($p < 0.05$). Si bien se ha reportado que *Mucor circinelloides* es patógeno en organismos inmunodeprimidos de diferentes especies de animales y humanos, se ha encontrado que es de baja citotoxicidad (Hollmann *et al.*, 2008). Esto explica el hecho de que las codornices alimentadas con residuos de fermentación, donde había microorganismos de esta especie no se presentaron mortalidades por encima de la media. Hay que señalar que el fermentado utilizado para las dietas fue inactivado microbiológicamente por esterilización antes de su uso. En cuanto a las aves alimentadas con dietas conteniendo pasta de semilla desgrasada de moringa por prensado (SMOD) no se observó mortalidad.

Pesos de canal caliente y fría

Los mayores pesos de canales calientes y frías se obtuvieron en las aves alimentadas con las dietas que contenían SMOD, siendo superiores al testigo ($p < 0.05$). Lo anterior es contrario a lo reportado por Ochi *et al.* (2015), quienes obtuvieron pesos bajos en

birds from the tissue assimilation of metabolites present in the moringa leaf is not dismissed. A probable group are carotenoids, judging by what was observed during the birds' slaughter, where the internal organs, the meat and the fat of quails fed with untreated moringa leaf presented a yellowish color (Figure 3).

Saini *et al.* (2013) showed that the level of total carotenoids in the dry leaf of *M. oleifera* is around 160 mg/100 g. If we consider that in the HMNT diets the level of leaf inclusion was 10%, the diet would contain 0.16 mg/g of feed and each quail ingests a total of 106.7 mg retinol during the 35 days of feeding. This is equivalent to 465.6 mg/kg of live weight, which is lower but not very far from the DL_{50} from retinol which is 2,000 mg/kg of body weight (rat), having the possibility of a real toxic action in some of the birds. More studies are required to be able to corroborate this. When it comes to the feed with HMHF, mortalities higher than the control ($p < 0.05$) were not found. Although it has been reported that *Mucor circinelloides* is a pathogen in immunosuppressed organisms of different animal species and humans, it has been found that it is of low cytotoxicity (Hollmann *et al.*, 2008). This explains

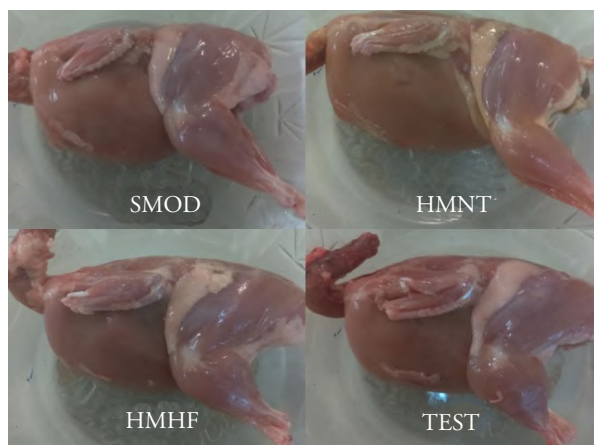


Figura 3. Canales de codorniz alimentadas con dietas conteniendo pasta de semilla desgrasada por prensado de *M. oleifera* (SMOD), harina de *M. oleifera* no fermentada (HMNT), harina de *M. oleifera* hidrolizada y fermentada (HMHF) y testigo (TEST).

Figure 3. Carcasses of quails fed with diets containing degreased pressed seed paste of *M. oleifera* (SMOD), unfermented *M. oleifera* flour (HMNT), hydrolyzed and fermented *M. oleifera* flour (HMHF), and control (TEST).

las canales de pollos alimentados con semilla entera de moringa a niveles de inclusión de 1.5% en la dieta. En el presente experimento, a pesar de que se utilizó 5% de SMOD, no se presentaron pesos bajos en las canales, sino todo lo contrario. Una explicación a este comportamiento podría estar en los efectos benéficos del tratamiento de prensado por extrusión al que fue sometido la semilla, donde se alcanzaron temperaturas de 160 °C y presiones altas (no determinadas). El proceso de extrusión ya ha sido utilizado en MO para mejorar la biodisponibilidad de nutrientes, tales como aminoácidos, carbohidratos, minerales y antioxidantes (Liu *et al.*, 2011) y para la eliminación de antinutrientes (Devisetti *et al.*, 2016).

Rendimientos de canal

Como se puede deducir de los datos mostrados en el Cuadro 6, el tipo de dieta tuvo un efecto en los rendimientos de canal caliente, los cuales fueron mayores ($p < 0.05$) para HMNT y menores para HMHF y SMOD. De manera similar, para la canal fría se observó un mayor rendimiento ($p < 0.05$) en el tratamiento HMNT y menor para HMHF. Esto es debido a que las codornices alimentadas con HMNT, a pesar de tener pesos vivos más bajos, los pesos de las canales fueron muy cercanos a los del resto de los demás tratamientos, excepto SMOD. Esto sugiere que la parte no aprovechada de la canal de las aves alimentadas con HMNT es menor, probablemente debido a la presencia de menos grasa en piel y vísceras. Lo anterior se apoya en los hallazgos de Moustafa *et al.* (2015), quienes encontraron contenidos menores de grasa abdominal y de lípidos y triglicéridos en sangre en las carcasas de codornices alimentadas con más

the fact that the quails fed with residues from fermentation, where there were microorganisms of this species, did not present mortalities above the mean. It should be mentioned that the ferment used for the diets was microbiologically inactivated by sterilization before its use. Regarding the quails fed with diets containing degreased pressed seed paste (SMOD), no mortality was observed.

Hot and cold carcass weights

The highest hot and cold carcass weights were obtained in birds fed with the diets that contained SMOD, being higher than the control ($p < 0.05$). This is opposite to what was reported by Ochi *et al.* (2015), who obtained low weights in the carcasses of chickens fed with whole moringa seed at levels of inclusion of 1.5% in the diet. In this experiment, low weights in the carcasses were not found, despite 5% of SMOD being used, but rather the contrary. One explanation for this behavior could be in the beneficial effects of the extrusion by pressing treatment to which the seed was subjected, where temperatures of 160 °C were reached and high pressures (undetermined). The extrusion process has already been used with MO to improve the bioavailability of nutrients, such as amino acids, carbohydrates, minerals and antioxidants (Liu *et al.*, 2011) and for the elimination of anti-nutrients (Devisetti *et al.*, 2016).

Carcass yields

As can be deduced from the data shown in Table 6, the type of diet had an effect on the yields of

Cuadro 6. Peso y rendimiento de canal fría y caliente y absorción de agua de codornices japonesas alimentadas con diferentes dietas conteniendo *M. oleifera*.

Table 6. Weight and yield of the cold and hot carcasses and water absorption of Japanese quails fed with different diets containing *M. oleifera*.

Tratamiento	Peso canal caliente (g)	Peso de canal fría (g)	Rend. canal caliente (%)	Rend. canal fría (%)	Absorción de agua (%)
SMOD	146.29 ^a	159.31 ^a	59.85 ^b	65.18 ^{ab}	8.17 ^a
HMHF	141.03 ^b	153.06 ^b	59.76 ^b	64.86 ^b	7.85 ^a
HMNT	143.68 ^b	155.14 ^b	62.70 ^a	67.70 ^a	7.37 ^a
TEST	143.06 ^b	155.31 ^b	61.17 ^{ab}	66.41 ^{ab}	7.88 ^a

*Las medias que no comparten una letra en la misma columna son significativamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$). ♦ *The means that do not share a letter in the same column are significantly different (Tukey, $p < 0.05$).
 Rend.: rendimiento. ♦ Rend.: yield.

de 0.6% de hoja de MO. De igual forma, Castillo *et al.* (2018) reportaron que los niveles de triglicéridos y colesterol en la sangre de codornices disminuyeron al incrementar el contenido de hoja de *M. oleifera* en la dieta.

CONCLUSIONES

En la etapa de iniciación, las dietas conteniendo 10% de hoja no fermentada de moringa, presentaron los menores GP y pesos vivos finales, así como peor CA. La dieta conteniendo harina fermentada de hoja de *M. oleifera* y la que incluyó pasta de semilla desgrasada por prensado fueron superiores en todos esos parámetros a la harina no fermentada.

En la etapa de finalización, las dietas que contenían, ya sea, 5% pasta desgrasada de semilla de MO, 10% de harina de hoja no fermentada o 10% de hoja fermentada resultaron adecuadas para el desarrollo de codornices japonesas.

El tratamiento que incluyó 5% de harina de pasta de semilla desgrasada por prensado de MO fue superior en todos los parámetros de crecimiento y en los pesos de canal caliente y fría.

Las pasta de semilla de *Moringa oleifera* desgrasada por prensado, y la harina de hoja fermentada por *Mucor circinelloides-Saccharomyces cerevisiae* fueron bien toleradas por las codornices japonesas a lo largo de todo su desarrollo. Se requieren estudios posteriores para determinar los valores óptimos y máximos de inclusión de dichas pasta o harinas en las dietas, e investigación sobre la posible citotoxicidad en codornices en periodos de tiempo más prolongados.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo al Fondo Sectorial SAGARPA-CONACYT quien financió el proyecto 175519, del cual formó parte el presente trabajo de investigación.

LITERATURA CITADA

- Abbas, T. E., y M. E. Ahmed. 2012. Use of *Moringa oleifera* Seeds in Broilers Diet and its Effects on the Performance and Carcass Characteristics. International Journal of Applied Poultry Research, 1: 1-4.
- Al-Juhaimi, F., K. Ghafoor, E. E. Babiker, B. Matthäus, y M. M. Özcan. 2017. The biochemical composition of the leaves and seeds of moringa species as non-conventional sources of nutrients. Journal of Food Biochemistry 41: e12322.

the warm carcass, which were higher ($p < 0.05$) for HMNT and lower for HMHF and SMOD. Likewise, for the cold carcass a higher yield was observed ($p < 0.05$) in the HMNT treatment and lower in HMHF. This is because for the quails fed with HMNT, despite having lower live weights, the carcass weights were closer to the rest of the other treatments, except SMOD. This suggests that the unused part of the carcass of the birds fed with HMNT is lower, probably due to the presence of lower fat in skin and entrails. This is supported by the findings by Moustafa *et al.* (2015), who found lower contents of abdominal fat and lipids and triglycerides in blood in carcasses of quails fed with more than 0.6% of MO leaf. Likewise, Castillo *et al.* (2018) reported that the triglycerides and cholesterol levels in the blood of quails decreased by increasing the *M. oleifera* leaf content in the diet.

CONCLUSIONS

During the starting stage, the diets containing 10% of the unfermented moringa leaf presented the lowest GW and final live weights, as well as lower FCR. The diet containing fermented *M. oleifera* leaf flour and which included degreased pressed seed paste was superior in all of those parameters than unfermented flour.

In the finishing stage, the diets that contained whether 5% of degreased MO seed paste, 10% of unfermented leaf flour, or 10% of the fermented leaf were adequate for the productive response of Japanese quails.

The treatment that included 5% of degreased pressed MO seed paste flour was higher in all the growth parameters and in the hot and cold carcass weights.

The degreased *Moringa oleifera* seed paste from pressing and the leaf flour fermented by *Mucor circinelloides-Saccharomyces cerevisiae* were well tolerated by the Japanese quails fattening. Posterior studies are required to determine the optimal and maximum values of inclusion of those pastes or flours in the diets, and research about the possible cytotoxicity in quails in longer periods of time.

—End of the English version—



- Ali, E. N., y S. Z. Kemat. 2017. Bioethanol produced from *Moringa oleifera* seeds husk. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 206: 012019.
- Anasontzis, G., E. Kourtoglou, S. Villas-Bôas, D. Hatzinikolaou, y P. Christakopoulos. 2016. Metabolic Engineering of *Fusarium oxysporum* to Improve Its Ethanol-Producing Capability. *Frontiers in Microbiology* 7.
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Inc., Maryland, USA.
- Azad, K., M. Rasul, M. M. Khan, S. Sharma, y R. Islam. 2015. Prospect of *Moringa* Seed Oil as a Sustainable Biodiesel Fuel in Australia: A Review. *Procedia Engineering* 105: 601-606.
- Boateng, L., R. Nyarko, M. Asante, y M. Steiner-Asiedu. 2017. Acceptability of Complementary Foods That Incorporate *Moringa Oleifera* Leaf Powder Among Infants and Their Caregivers. *Food and Nutrition Bulletin* 39: 037957211770865.
- Castillo, L. R. I., L. J. J. Portillo, F. J. León, D. R. Gutiérrez, E. M. A. Angulo, M. D. Muy-Rangel, y J. Heredia. 2018. Inclusion of *Moringa* Leaf Powder (*Moringa oleifera*) in Fodder for Feeding Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 20: 15-26.
- Cori, M., V. Basilio, R. Ruiz, C. Michelangeli, R. Galíndez, y J. García. 2009. Efecto de la edad de la codorniz (*Coturnix coturnix japonica*) y del aturdimiento eléctrico al momento del beneficio sobre las características de la canal. *Zootecnia Tropical* 27: 175-185.
- Chen, H. 2014. *Biotechnology of Lignocellulose*. Springer, Dordrecht.
- Cheung, P. C. K. 2013. Mini-review on edible mushrooms as source of dietary fiber: Preparation and health benefits. *Food Science and Human Wellness* 2: 162-166.
- Devisetti, R., Y. N. Sreerama, y S. Bhattacharya. 2016. Processing effects on bioactive components and functional properties of moringa leaves: development of a snack and quality evaluation. *Journal of food science and technology* 53: 649-657.
- Fai, A. E., T. C. Stamford, T. M. Stamford-Arnaud, P. D. Santa-Cruz, M. C. da Silva, G. M. Campos-Takaki, y T. L. Stamford. 2011. Physico-chemical characteristics and functional properties of chitin and chitosan produced by *Mucor circinelloides* using yam bean as substrate. *Molecules* 16: 7143-7154.
- Fonseca-Peralta, H. M. 2017. Producción de Etanol a partir de Residuos de *Moringa oleifera* Utilizando un Bioproceso Consolidado. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Sinaloa - FCQB, Culiacán, México.
- Gadzirayi, C., y J. F. Mupangwa. 2013. Feed Intake and Growth Performance of Indigenous Chicks Fed Diets with *Moringa oleifera* Leaf Meal as a Protein Supplement During Early Brooding Stage. *International Journal of Poultry Science* 13.
- Hollmann, M., E. Razzazi-Fazeli, J. Grajewski, M. Twarużek, M. Sulyok, y J. Böhm. 2008. Detection of 3-nitropropionic acid and cytotoxicity in *Mucor circinelloides*. *Mycotoxin Research* 24: 140-150.
- Iheukwumere, F. C., E. C. Ndubuisi, E. A. Mazi, y M. U. Onyekwere. 2008. Performance, Nutrient Utilization and Organ Characteristics of Broilers Fed Cassava Leaf Meal (*Manihot esculenta* Crantz). *Pakistan Journal of Nutrition* 7: 13-16.
- Ijarotimi, S., O. Adeoti, y O. Ariyo. 2013. Comparative study on nutrient composition, phytochemical, and functional characteristics of raw, germinated, and fermented *Moringa oleifera* seed flour. *Food Science & Nutrition* 1: 452-463.
- Liu, S., S. Alavi, y M. Abughoush. 2011. Extruded *Moringa* Leaf-Oat Flour Snacks: Physical, Nutritional, and Sensory Properties. *International Journal of Food Properties* 14: 854-869.
- Lübbehüsen, T. L., J. Nielsen, y M. Workman. 2004. Aerobic and anaerobic ethanol production by *Mucor circinelloides* during submerged growth. *Applied microbiology and biotechnology* 63: 543-548.
- Makkar, H., y K. Becker. 1996. Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. *Animal Feed Science and Technology* 63: 211-228.
- Makkar, H. P., G. Francis, y K. Becker. 2007. Bioactivity of phytochemicals in some lesser-known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems. *Animal : an international journal of animal bioscience* 1: 1371-1391.
- Mateos, G., E. Jimenez Moreno, M. Serrano, y R. Lazaro. 2012. Poultry response to high levels of dietary fiber sources varying in physical and chemical characteristics. *The Journal of Applied Poultry Research* 21: 156-174.
- Moustafa, K. E., F. Riry, M. Mousa, A. Alghonimy, y S. Youssef. 2015. Effect of using *Moringa oleifera* leaf meal on performance of Japanese quail. *Egyptian Poultry Science* (35): 1095-1108.
- Nouman, W., S. M. A. Basra, M. T. Siddiqui, A. Yasmeen, T. Gull, y M. A. C. Alcayde. 2014. Potential of *Moringa oleifera* L. as livestock fodder crop: a review. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 38: 1-14.
- NRC. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th. revised ed. The National Academies Press, Washington, D.C.
- Ochi, E., A. Ismail, H. Abdalla, M. Fatur, y E. Me. 2015. Effect of *Moringa (Moringa oleifera* Lam) Seeds on the Performance and Carcass Characteristics of Broiler Chickens. 5.
- Oghenebrohie, O., y O. Oghenesuvwe. 2016. Performance and Haematological Characteristics of Broiler Finisher Fed *Moringa oleifera* Leaf Meal Diets. *Journal of Northeast Agricultural University (English Edition)* 23: 28-34.
- Ogunsina, B. S., C. Radha, y R. S. Govardhan Singh. 2010. Physicochemical and functional properties of full-fat and de-fatted *Moringa oleifera* kernel flour. *International Journal of Food Science & Technology* 45: 2433-2439.
- Oliveira, E. G., M. I. M. Almeida, y A. A. Mendes. 2005. Avaliação sensorial de carne de codornas para corte, abatidas aos 35, 56 e 77 dias de idade. *Vet. Zootec* 12: 61-68.
- Raman, K. J., C. Alves, y E. Gnansounou. 2017. A review on moringa tree and vetiver grass - Potential biorefinery feedstocks. *Bioresource technology* 249: 1044-1051.
- SAGARPA. 2014. Norma Oficial Mexicana NOM-033-SAG/ZOO-2014. Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres. *Diario Oficial de la Federación*.
- Saini, J. K., R. K. Anurag, A. Arya, B. K. Kumbhar, y L. Tewari. 2013. Optimization of saccharification of sweet sorghum bagasse using response surface methodology. *Industrial Crops and Products* 44: 211-219.
- Saini, R. K., N. Shetty, M. Prakash, y P. Giridhar. 2014. Effect of dehydration methods on retention of carotenoids, toco-

- pherols, ascorbic acid and antioxidant activity in *Moringa oleifera* leaves and preparation of a RTE product. *Journal of food science and technology* 51: 2176-2182.
- Teixeira, E. M., M. R. Carvalho, V. A. Neves, M. A. Silva, y L. Arantes-Pereira. 2014. Chemical characteristics and fractionation of proteins from *Moringa oleifera* Lam. leaves. *Food Chem* 147: 51-54.
- Tserveni-Gousi, A., M. Raj, y M. O'Callaghan. 1999. Evaluation of stunning/killing methods for quail (*Coturnix japonica*): Bird welfare and carcass quality. *British poultry science* 40: 35-39.
- Veldkamp, T., D. van, A. Huis, C. M. M. Lakemond, E. Ottevanger, G. Bosch, y B. van. 2012. Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets: a feasibility study. *Wageningen UR Livestock Research*: 40.