

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO ACADEMICO DE NUTRICIÓN



**DETERMINACIÓN DE LA ENERGÍA METABOLIZABLE
APARENTE CORREGIDA POR NITRÓGENO (EM_n) PARA AVES
DE LA HARINA DE PESCADO PRIME MEDIANTE DOS MÉTODOS**

Presentado por:

TATIANA GÁLVEZ SÁNCHEZ

Tesis para optar el Título de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

Lima – Perú
2014

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO ACADEMICO DE NUTRICIÓN

**DETERMINACIÓN DE LA ENERGIA METABOLIZABLE APARENTE
CORREGIDA POR NITRÓGENO (EMAn) PARA AVES DE LA HARINA DE
PESCADO PRIME MEDIANTE DOS MÉTODOS**

Presentado por:
TATIANA GÁLVEZ SÁNCHEZ

Tesis para optar el Título de:
INGENIERO ZOOTECNISTA
Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Dr. Víctor Guevara Carrasco
PRESIDENTE

Ing. Víctor Vergara Rubín
PATROCINADOR

Ing. Marcial Cumpa Gavidia
MIEMBRO

Dr. Carlos Vilchez Perales
MIEMBRO

LIMA - PERU

2014

A mis padres, Elizabeth y Cevero, con profundo cariño por su apoyo, consejos, comprensión, palabras de aliento y amor. Gracias por los valores que me han inculcado, por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación y ser parte importante de mi desarrollo profesional.

A mis hermanos por estar siempre presentes, por su apoyo incondicional durante mi desarrollo profesional. A Marco S., por brindarme la confianza, motivación, cariño, apoyo y haber compartido nuevos y muy gratos momentos de alegría promoviendo el desarrollo y la unión familiar en esta nuestra familia.

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Víctor Vergara Rubín, de manera especial por su apoyo, orientación continua y capacidad invaluable para guiar mis ideas, no solo en el desarrollo y culminación de la tesis, sino también en mi formación profesional.

A los miembros del jurado por sus sugerencias durante y después de la sustentación. Destacando su disponibilidad, paciencia y participación que ha enriquecido el trabajo realizado.

A los profesores de la facultad de Zootecnia, por todo el apoyo brindado lo largo de la carrera, por su disponibilidad y por los conocimientos que me transmitieron para mi formación profesional.

A Roberto Camacho, por el apoyo profesional brindado, por el tiempo dedicado para resolver mis dudas y por su colaboración durante la realización, culminación y presentación de la tesis.

A la Sra. Silvia Montoya, por su ayuda y colaboración en el laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos de la facultad de zootecnia. A todo el personal administrativo de la facultad por su colaboración en la realización, culminación y presentación de la tesis.

A mis queridos amigos, de manera especial a Milagros Serpa, Mary Espinoza, Néstor Soto y Roberto Camacho. Gracias por la amistad que me han brindado desde que nos conocemos, por llenar mi vida de grandes momentos que hemos compartido y hacer de nuestra etapa universitaria un camino de vivencias que siempre recordare con mucho cariño.

INDICE

	Pág
I. INTRODUCCION	1
· II. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1 HARINA DE PESCADO	2
2.1.1 Generalidades	2
2.1.2 Materia prima	3
2.1.3 Proceso de preparación	4
2.1.4 Diferencias entre harina de pescado standard y prime	4
2.1.5 Calidad de la harina de pescado	6
2.1.6 Valor nutritivo de la harina de pescado	8
2.1.7 Valor energético	10
2.1.8 Uso de la harina de pescado	10
2.2 ENERGÍA METABOLIZABLE DE LOS ALIMENTOS	12
2.2.1 Determinación de la energía metabolizable	14
2.2.1.1 Métodos directos	14
2.2.1.2 Métodos indirectos	14
2.2.2 Factores que afectan a los valores de energía metabolizable de los alimentos	16
III. MATERIALES Y METODOS	19
3.1 LUGAR Y EJECUCIÓN	19
3.2 INSTALACIONES Y EQUIPOS	19
3.3 ANIMALES EXPERIMENTALES	19
3.4 PRODUCTO EN EVALUACIÓN	20
3.5 CONTROLES REALIZADOS	20
3.6 SANIDAD	20
3.7 TRATAMIENTOS	20
3.8 ANÁLISIS QUÍMICOS	20
3.8.1 Análisis proximal	20
3.8.2 Humedad	21
3.8.3 Nitrógeno	21

3.8.4	Calor de combustión	21
3.8.5	Ceniza insoluble en ácido (CIA)	21
3.9	DETERMINACIÓN DE LA ENERGÍA METABOLIZABLE	21
3.9.1	Colección de la excreta	23
3.9.2	Cálculo de la energía metabolizable aparente corregida por nitrógeno (EMAn)	23
3.9.2.1	Técnica de Colección Total	24
3.9.2.2	Técnica de ceniza insoluble en ácido (CIA)	24
3.10	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	25
IV.	RESULTADOS Y DISCUSION	26
4.1	ENERGÍA METABOLIZABLE DE LA HARINA DE PESCADO PRIME DETERMINADA POR LA TÉCNICA DE COLECCIÓN TOTAL Y CENIZA INSOLUBLE EN ÁCIDO.	26
V.	CONCLUSIONES	32
VI.	RECOMENDACIONES	33
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	34
VIII.	ANEXOS	41

INDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Composición de harina Standard y especial	6
Cuadro 2. Composición porcentual y valor nutritivo calculado de las dietas.	22
Cuadro 3. Contenido de energía metabolizable de harina de pescado prime por dos métodos (base seca)	30
Cuadro 4. Resultado de l desviación estándar, coeficiente de variación y prueba de medias t-student ($\alpha > 0.05$)	31

INDICE DE ANEXOS

	Pág.
1. Energía bruta de dietas y excretas	42
2. Contenido de ceniza insoluble en ácido (CIA) en dietas y excretas	43
3. Humedad de dietas y excretas secas al aire	44
4. Relaciones excreta/consumo y ceniza insoluble en ácido (%CIA)	45
5. Colección de excretas	46
6. Consumo de alimento en la etapa de colección	47
7. Contenido de energía metabolizable de la harina de pescado prime	48
8. Análisis de varianza y prueba t-student de los métodos para la determinación de energía metabolizable	49

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar la energía metabolizable aparente con corrección nitrógeno (EMAn) de harina de pescado prime, mediante una prueba biológica con pollos de carne utilizando la técnica de colección total y ceniza insoluble en ácido. El ensayo biológico fue desarrollado durante 21 días en las instalaciones del Laboratorio de Investigación en Nutrición y Alimentación de Aves (LINAA) del Departamento Académico de Nutrición de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Se emplearon 60 pollos machos de carne, de un día, línea Cobb, distribuidos en lotes de 10 aves (unidad experimental). Se tuvo tres replicas y 30 pollos por cada dieta. Se empleó una dieta referencial con 50% de glucosa y otra dieta experimental donde 30% de glucosa fue sustituida con harina de pescado prime. El control del peso de los pollos fue al inicio, a los 7 y 21 días; así como el consumo de alimento y las excretas en los tres últimos días de evaluación. Las dietas y excretas fueron analizadas en el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA), determinando humedad, nitrógeno, energía bruta y ceniza insoluble en ácido. El valor de EMAn obtenido por método de colección total fue 2936 Kcal/kg y por el método de ceniza insoluble en ácido 2860 Kcal/kg, ambos en tal como ofrecido. No se encontraron diferencias significativas entre los métodos usados.

Palabras clave: Energía metabolizable aparente corregida por nitrógeno, harina de pescado prime, colección total, ceniza insoluble en ácido.

I. INTRODUCCION

Conocer la cantidad de energía disponible en la dieta es un factor determinante en el rendimiento productivo de los animales, ya que esta representa una parte importante del costo total del alimento. La Energía Metabolizable es la medida más adecuada para expresar el contenido energético del alimento destinado a las aves, siendo la fracción de la energía verdaderamente disponible para sus diferentes procesos metabólicos.

La harina de pescado es una fuente proteica empleada en la alimentación de las distintas especies de interés productivo, especialmente aves y peces. Algunas de las ventajas de este ingrediente para satisfacer los elevados requerimientos nutricionales son su alto contenido de proteínas de alta calidad, equilibrada composición de aminoácidos, altos niveles de energía, riqueza en vitaminas, contenido de minerales como el calcio, fósforo y ácidos grasos esenciales.

Debido al alto costo de este ingrediente, generado principalmente por el proceso que es diferente de la harina estándar, lo cual afecta considerablemente el costo de la dieta, es que las investigaciones actuales tienden a reducir al máximo su uso sustituyéndolo con proteínas alternativas más baratas, obtenidas de diferentes fuentes; sin embargo no se ha logrado, aún, prescindir de la harina de pescado en la formulación de dietas que logren sustituir ventajosamente a las preparadas con ella. En la alimentación de aves, conocer el aporte energético de harinas de pescado especiales como la prime y el método que facilite su determinación, permitirá formular dietas que expresen el máximo nivel productivo del animal. En la actualidad, la harina de pescado se produce a partir de diversas fuentes, manteniéndose aún la especie anchoveta. Si bien es cierto que se conoce el valor energético de la harina de pescado prime, el producto que se obtiene difiere en valor nutricional debido a las variaciones de la composición química relacionadas con la materia prima empleada. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue determinar la energía metabolizable aparente corregida por nitrógeno (EMAn) de la harina de pescado prime, mediante una prueba biológica con pollos de carne utilizando la técnica de colección total y ceniza insoluble en ácido.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.2 HARINA DE PESCADO

2.1.1 Generalidades

La industria de la harina y aceite de pescado se inició en Europa y EEUU a principios del último siglo usando especies de poco valor comercial, desechos de la industria conservera o de plantas de fileteo. El objeto principal era producir aceite y el desecho, rico en proteínas, se utilizaba como fertilizante (Farro, 2007).

En el Perú la actividad industrial pesquera se inicia en 1941, bajo la experiencia de la segunda guerra mundial. El “Boom pesquero peruano” empezó a producirse y la proliferación de plantas de harina de pescado a lo largo del litoral fue cada vez mayor. A partir de ese momento el Perú salta al plano internacional avanzando paulatinamente logrando colocarse como primer país pesquero del mundo por varios años (1956 a 1963) (Bellido, 2002). En 1970 se consolida el crecimiento de la industria de harina y aceite de pescado, basado principalmente en la extracción de la anchoveta (*Engraulis ringes*).

En 1972, debido a una gran sobrepesca y la presencia del fenómeno oceanográfico conocido como “El Niño” colapsa el recurso anchoveta, sumado a esto, en el año 1973 el Gobierno Peruano estatiza la flota y plantas de harina de pescado, frenándose bruscamente la renovación de nuevas tecnologías de la industria harinera (Málaga, 1997). A partir de 1974 debido al reemplazo parcial de la anchoveta por la sardina, toma nuevo auge la industria conservera tanto en la producción como en la ocupación de los mercados internacionales.

Pero en 1982 un nuevo Fenómeno del Niño, considerado el más intenso del siglo, deja el recurso anchoveta y aún el de la sardina a extremos de una pobreza que se puede calificar de inexistentes (Bellido, 2002). Subsiguientemente en el año 1991 se inició el proceso de privatización de toda entidad pública (Málaga, 1997).

A principios de los años 80, en los países escandinavos iniciaron la fabricación de harinas llamadas “especiales” o “prime”. Así, se mejoraron los procesos de producción, seleccionando principalmente materia prima fresca y mejorando el control de concentración y secado, trabajando a temperaturas más bajas por tiempos más limitados en las etapas de concentración de cola. De esta forma se consiguió proteína de mejor calidad, manteniendo la composición de aminoácidos esenciales, logrando digestibilidad y permitiendo un mejor aprovechamiento de los alimentos (Donoso, 1993).

La calidad del pescado puede ser variable por factores como la descomposición parcial antes del procesamiento o el sobrecalentamiento durante la preparación. El exceso de aceite puede enranciar la harina y el secado inadecuado permite la formación de hongos (Church et al., 2009). El secado es una de las fases más importantes del proceso, pues de éste depende la buena calidad con la máxima retención de nutrientes y las correctas propiedades físicas (color, consistencia y olor). Pueden conseguirse diversas clases de harina de pescado, las cuales varían en el valor nutritivo y, por tanto, en la calidad (Agudelo, 2001).

Los avances en nutrición animal, particularmente pollos y cerdos, son veloces y es ahí donde surge el reconocimiento del valor que la harina de pescado tiene en las dietas para animales monogástricos. Esto motivó a los países productores de harina de pescado a una producción cada vez mayor de este producto con demanda creciente día a día (Bellido, 2002).

2.1.2 Materia prima

Las materias primas utilizadas para la obtención de harina de pescado se pueden dividir en tres categorías: Subproductos y vísceras procedentes de la industria de consumo humano (harinas de pescado blanco) presentando un bajo contenido en proteína, grasa y un alto contenido en cenizas. Subproductos de otras industrias de pescado y en consecuencia son muy variables en su composición. Pesca a escala industrial, en donde se utiliza pescado entero. Estas tienen mayor contenido en grasa, pero existe gran variación en el contenido de proteínas y cenizas, según la procedencia. (Sandbol, 1993). Se puede diferenciar, de manera común en las materias primas, una fracción sólida (materia seca libre de grasa), lípidos o aceites y agua (Fenucci, 2007).

De acuerdo con el origen de la materia prima, la composición de la harina de pescado varía ampliamente en cuanto a su composición proximal, valor energético, ácidos grasos, etc. Se considera harina mono específica cuando la materia prima utilizada contiene más de cincuenta por ciento de una determinada especie.

En la mayoría de los casos se prefiere fabricar harina con peces enteros ya que cuando se utiliza como materia prima los desechos de la industria, en especial del fileteado que se encuentra constituido por huesos, espinas, vísceras, recortes, etc., se obtienen harinas con una alta cantidad de cenizas y fósforo (Fenucci, 2007). Wong, 1997 señala que la especie anchoveta es utilizada como materia prima en la producción de harina de pescado convencional y que posteriormente se incrementó la producción orientada al uso de sardina fresca. En Farro, 2007 se menciona a la anchoveta, especie de menor valor comercial, como fuente para la elaboración de harina de pescado en el Perú.

El pescado es considerado un recurso muy alterable por varias razones. En primer lugar, la acción bacteriana de la que son responsables los microorganismos presentes en el intestino y en la superficie externa del pescado. En segundo lugar, lo constituyen las enzimas que causan la ruptura de la cavidad abdominal sobre todo en las especies pequeñas. En tercer lugar, consiste en la oxidación del aceite que provoca su enranciamiento que no constituye una alteración importante porque solo se produce en presencia del oxígeno y como el pescado viene a granel, el oxígeno se halla ausente. La conservación del pescado es de vital importancia, ya que si no se evita su alteración, se producen importantes pérdidas en el rendimiento de la harina y en la cantidad y calidad del aceite (Farro, 2007).

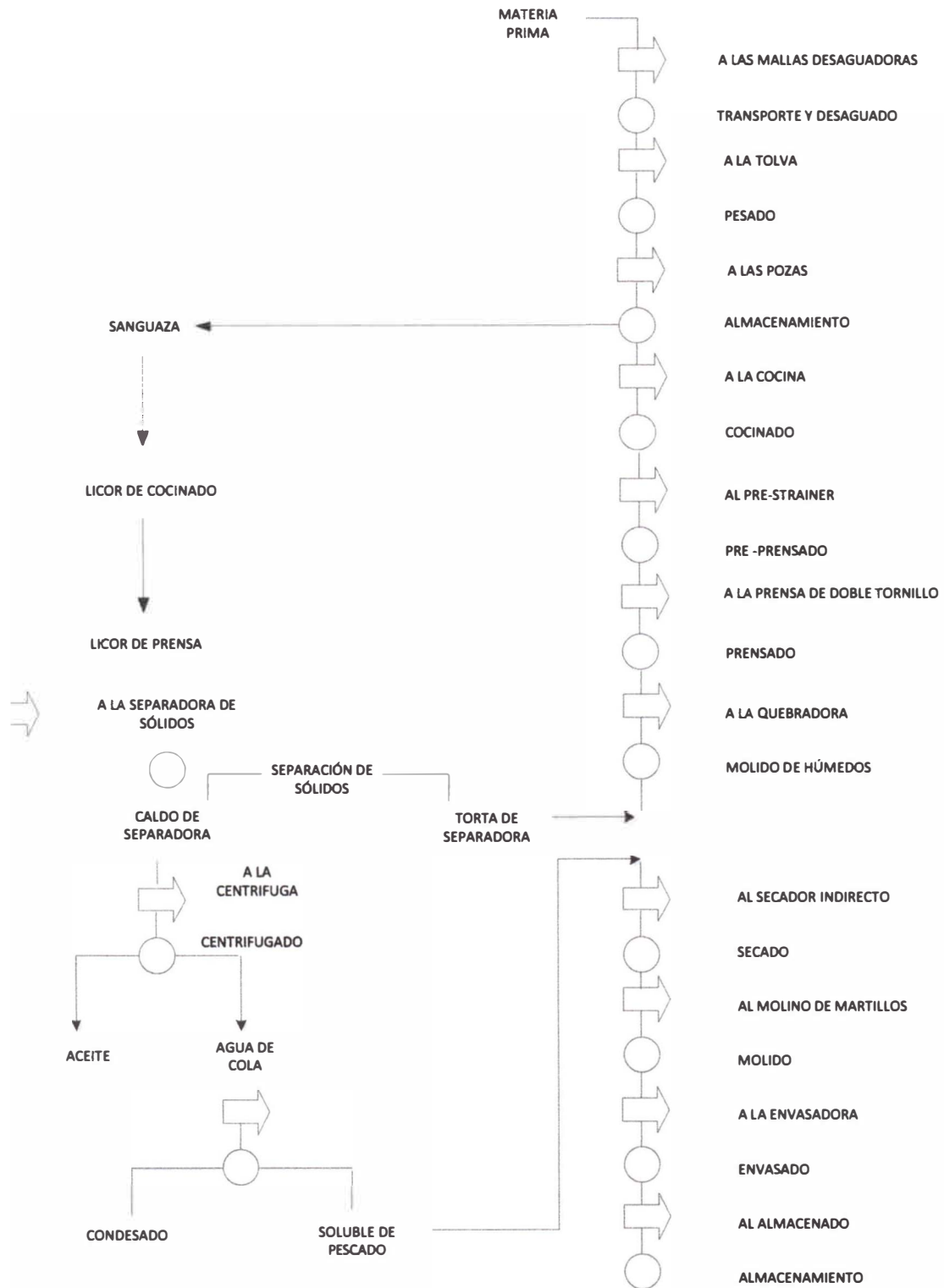
2.1.4 Proceso de preparación

El proceso de elaboración de la harina de pescado se describe en el Diagrama de Operaciones de Proceso (DOP).

2.1.4 Diferencias entre harina de pescado standard y prime

Harina standard, es la harina de pescado graso a la que se ha incorporado el total de solubles provenientes de esa materia prima. La FAQ (Fair Average Quality) o harina de

DIAGRAMA DE OPERACIÓN DE PROCESO



FUENTE: Wong, 1997

Cuadro 1: Composición de harina standard y especial

Característica	Harina standard (FAQ)	Harina especial
Proteínas (%)	64/66	67
Grasa (%)	10/12	10
Humedad (%)	12	10
Cenizas (%)	13/18	13/18
Sal (%)	3	3.50
Arena (%)	2	1
Antioxidante (ppm)	100	150
Salmonella	Negativo	Negativo

FUENTE: Bellido, 2002

calidad promedio, se obtiene principalmente de la anchoveta, el cual es sometido a procesos industriales con todos sus órganos, incluyendo vísceras y contenido intestinal (Rojas 1979).

Harina especial o “prime” se obtiene a partir de materia fresca y teniendo un mejor control de cocción y secado, manteniendo durante estas etapas bajas temperaturas y por tiempos más limitados. El tipo de secado determinará el tipo de harina prime a elaborar (Grados, 1996). El Cuadro 01 describe la composición de harina standard y harina especial.

2.1.5 Calidad de la harina de pescado

Los aspectos generales que deben tenerse en cuenta para determinar la calidad de la harina de pescado son: tipo de materia prima, frescura de la materia prima, temperatura de procesamiento y calidad de las grasas (Fenucci, 2007). Para controlar la calidad de la harina de pescado durante el análisis sensorial debe verificarse su color verde oscuro, el olor a pescado fresco, y que esté libre de hongos, insectos, espinas y escamas; su humedad no debe pasar el 10 por ciento y en el análisis microbiológico no debe presentar *Salmonella* (Agudelo, 2001).

La descomposición de los peces se inicia desde su captura. Las proteínas son reducidas a polipéptidos y aminoácidos. En la etapa siguiente los aminoácidos son transformados parcialmente en amoniaco, metano, ácido sulfhídrico y las aminas biogénicas como agmatita, histamina, cadaverina, putrescina, tiramina (Zaldivar, 1992), algunas de las aminas son volátiles (Fenucci, 2007).

Las grasas sufren hidrólisis parcial generando ácidos grasos y posteriormente peróxidos, hidroperóxidos y otros compuestos de cadena corta que inciden en la calidad nutritiva del alimento por oxidación enranciante.

El contenido total de nitrógeno volátil (TVN) es tradicionalmente usado como indicador de la frescura de la materia prima (Fenucci, 2007). El TVN aumenta en la medida en que aumenta la degradación (Sandbol, 1993). Los estándares para pescado fresco están entre los 80mg N/100g de muestra para peces de aguas templadas y 50mg N/100g de muestra en peces de aguas cálidas (IFFO 1997, citado por Fenucci 2007). Dado que parte de ese N se pierde en el secado, en la harina de pescado el TVN no es un buen indicador de la frescura original de la materia prima. Un buen indicador de la frescura de pescado es la cantidad de aminas no volátiles: histamina, putrescina, cadaverina y tiramina. (Fenucci, 2005), aunque están principalmente en función de la fracción insoluble, por lo tanto no desaparecen durante la evaporación o el secado normal (Sandbol, 1993). La suma de las aminas biogénicas debería variar entre 0-10.000ppm. Un producto muy deteriorado sobrepasará este rango (Zaldivar, 1992).

Se ha demostrado que el incremento de temperatura desfavorece la digestibilidad de la proteína. Durante el secado, aunque la temperatura nunca pasa de 100°C, las partículas en contacto con la superficie de los cilindros estarán a mayor temperatura afectando la digestibilidad de la proteína; esto ocurre más fácilmente en los secadores de contacto directo. Una harina de buena calidad debe tener una digestibilidad por pepsina de más de 90%. El valor de la harina depende en cierta manera de su aporte de lisina; la determinación de la cantidad de lisina asimilable es un indicador de la calidad proteica de las harinas. Debido a su estructura lábil la lisina es muy susceptible a los tratamientos calóricos inadecuados que bloquean al grupo épsilon-amino, perdiendo su valor nutritivo (Fenucci, 2007).

A fin de evitar un rápido proceso de oxidación de la harina de pescado se agrega un antioxidante que ejerce una acción dilatoria de la acción oxidante del oxígeno contenido en el aire.

El antioxidante es una sustancia que añadida a la harina en pequeñas proporciones, inhibe la velocidad de reacción de los ácidos grasos fuertemente insaturados de la grasa remanente en la harina, y que por su afección por el oxígeno, rápidamente deterioran la harina, e inclusive por tratarse de una reacción exotérmica puede llegarse a la ignición de ella. Esa sustancia actúa bloqueando desde el comienzo los radicales libres que se producen desde el inicio de la elaboración de la harina provocando una reacción de estos con el oxígeno sumamente lenta que no permiten ni el deterioro de la harina ni su autocombustión (Bellido, 2002).

La contaminación por salmonella en harina de pescado necesariamente es transmitida por un vector (ambiente, animal o el hombre). La contaminación consiste en una determinada cantidad de Salmonella que debido a las condiciones del medio, la cantidad depositada por el vector contaminante es la que sobrevivirá y que eventualmente se encontrará en un muestreo y análisis (Bellido, 2002). En cuanto a los hongos que producen aflatoxinas, dado que la harina de pescado tiene pocos carbohidratos, es difícil que se desarrollen, aunque las bolsas pueden ser un factor de contaminación (Fenucci, 2005).

2.1.6 Valor nutritivo de la harina de pescado

La calidad de la proteína de la harina de pescado es alta, aunque muy variable. Probablemente, el principal determinante de la calidad proteica guarda relación con el grado y duración del tratamiento térmico. El contenido de proteína de las distintas harinas de pescado varía entre los 500 y 750 g/kg, pero la composición de la proteína es relativamente constante (Mc Donald et al., 2002). El contenido proteínico es alto y es muy digerible (Church et al., 2009). La digestibilidad del nitrógeno y de los aminoácidos más importantes es de aproximadamente 89 % para cerdos y 85% para pollos. Estos resultados se basan en experimentos, pero puede ocurrir que ciertos aminoácidos no estén disponibles aunque el animal los esté absorbiendo. (Cañas, 1998).

Es rica en aminoácidos esenciales, especialmente lisina, cistina, metionina y triptófano, por lo que resulta un valioso suplemento en raciones que incluyen grandes cantidades de cereales, especialmente las que contienen gran cantidad de maíz (Mc Donald et al., 2002).

Siendo los dos primeros además de cistina, limitantes sobre todo en monogástricos. Esta proporción de aminoácidos esenciales son altamente digeribles, además es una muy buena fuente de lisina, leucina, arginina y valina.

El contenido en minerales es alto (100 a 220 g/kg), lo que resulta muy importante desde el punto de vista de la nutrición , ya que aporta buenas cantidades de calcio y fósforo, así como una serie de microelementos como hierro, yodo y manganeso (Mc Donald et al., 2002). Por otra parte también están presentes el magnesio y potasio como minerales además cobre, cobalto, selenio y flúor como microelementos (García et al., 2007). La ceniza de la harina de pescado contiene principalmente calcio y fósforo y se considera que la disponibilidad de este último es de aproximadamente un 90 por ciento tal y como ocurre con el fósforo presente en cualquier proteína animal de buena calidad (Leeson et al., 2000).

Son buena fuente de vitaminas del complejo B, especialmente colina, B12 y riboflavina, teniendo un valor nutritivo especial, debido a su contenido en factores de crecimiento que se engloban bajo la denominación de Factor Proteína Animal (Mc Donald et al., 2002).

Contienen gran cantidad de ácidos grasos poliinsaturados, siendo especialmente deseable la relación existente entre los omega-3 y los más abundantes omega-6; además, contienen cantidades importantes de los ácidos eicosapentanoico y docosahexanoico (Mc Donald et al., 2002). Por lo general los lípidos que permanecen en la harina son más ricos en ácidos grasos insaturados de la familia linolénica (n-3) que los que se encuentran en el aceite; este hecho se refleja en la cantidad de fosfolípidos que permanecen en la harina (Fenucci, 2007).

2.1.7 Valor energético

La energía de las harinas de pescado se encuentran totalmente en forma de grasa y proteína, y guarda relación con su contenido en aceite (Mc Donald et al., 2002). Agudelo (2001), señala que tiene un gran valor energético a causa de su alto nivel de grasa, lo cual exige que sea suplementada con antioxidantes para su preservación.

La energía de la harina de pescado proviene de la proteína y los lípidos que tienen un alto nivel de ácidos grasos poli-insaturados de cadena larga, con 20 o más carbonos. La cantidad y calidad de los lípidos varía con la especie de peces, la estación del año en que se produce la captura, su alimentación, los métodos de procesamiento utilizados y el uso de antioxidantes. En promedio la energía metabolizable para aves y cerdos es 3200 kcal/kg. (Cañas 1998), otros valores de 2804 kcal/kg (NRC, 1994), 3280 kcal/kg (Matterson, 1968).

Estudios realizados midieron los verdaderos valores de la energía metabolizable de los principales ingredientes de piensos para pollos empleados en Bangladesh. Dentro de este grupo se incluyó a la harina de pescado, ya que representa la mayor fuente de proteína en las dietas. El valor de la energía metabolizable verdadera (TME) determinado fue de 2640 Kcal/Kg para la harina de pescado con 50.62 por ciento de nivel de proteína (Huque y Kosaka, 1996).

Los resultados obtenidos por Arroyo (2003) señalan que el valor de la energía metabolizable corregida por nitrógeno de la harina de pescado prime es de 3588 Kcal/kg en base seca y 3233 Kcal/kg en base fresca. En el trabajo realizado por Pichillingue (2003) se determinó que la energía metabolizable de la harina de pescado standard secada mediante aire Caliente (calor seco) en base seca fue 3421.8 kcal/kg en 3080 kcal/kg en base a 90 % de materia seca.

2.1.8 Uso de la harina de pescado

Hasta hace unos años la harina de pescado era importante como fertilizante, pero en la actualidad se utiliza principalmente en alimentación animal, especialmente para aves, porcinos, visones, cultivo de peces, camarones y mantenimiento de mascotas

(Fenucci,2007). La tendencia actual va dirigida a los productos especiales fabricados para ajustarse a las distintas especies. Por ejemplo, se producen harinas especiales a baja temperatura para la acuicultura y para los lechones de destete precoz, así como productos con destino a los rumiantes con niveles de nitrógeno soluble estrictamente controlados (Mc Donald et al., 2002).

Las harinas de pescado encuentran su mayor utilidad en las raciones de los animales monogástricos. Se utilizan fundamentalmente, en las raciones destinadas a los animales jóvenes, cuyas necesidades en proteína y aminoácidos esenciales son altas y para los cuales resultan de gran valor los efectos estimulantes del crecimiento del APF. Dichas raciones, pueden incluir hasta 150 kg/tonelada de harina de pescado. En cuanto a los animales de más edad, cuyas necesidades en proteína son menores, el nivel de harina de pescado en la ración puede rebajarse hasta 50 kg/tonelada, pudiendo eliminarse en las raciones destinadas a las últimas fases del cebo. Este hecho, se debe, en parte, a razones económicas, ya que las necesidades proteicas de esos animales son bajas y, en parte, para evitar el posible sabor a pescado de la carne (Mc Donald et al., 2002).

A pesar de su alto valor nutritivo, su uso en raciones para aves debe limitarse debido al olor y sabor a pescado que se transmite a la carne y al huevo, cuando es usada en grandes cantidades. Otros resultados obtenidos indican la harina de anchoveta en niveles hasta 8 por ciento no produjo olor o sabor a pescado a la carne; en cambio a niveles de 10, 15 y 20% y contribuyendo a la dieta con 0.88, 1.32 y 1.76 % respectivamente de aceite, estuvo asociada con olor y sabor a pescado en la carne(Cuca, 1978). Cuando la harina de pescado es de buena calidad, los niveles que se utilizan en las dietas no deben exceder el 5% en pollos ni 10% en ponedoras; niveles mayores producen mal sabor a los productos avícolas (Agudelo, 2001).

Debido a su elevado costo, rara vez se emplea la harina de pescado para los rumiantes. Los resultados de algunos experimentos han indicado que la respuesta a la harina de pescado es mayor que a la de otras fuentes de proteína. Sin embargo, en la mayoría de los casos, no resulta económico suministrar harina de pescado a los rumiantes. Para los cerdos y aves de corral, la harina de pescado se ha convertido en el ingrediente corriente para compensar las deficiencias de aminoácidos esenciales (FAO, 2010).

2.2 ENERGÍA METABOLIZABLE DE LOS ALIMENTOS

Los alimentos tienen diferente composición y por lo tanto distinto contenido energético (Chang, 2010). La energía bruta (EB) del alimento no es totalmente disponible para las necesidades del ave. En primer lugar una parte de la energía del alimento no es digerida y se excreta directamente en las heces.

Otra parte es degradada por procesos de fermentación productores de gas, aunque en aves no representa una fracción importante. En la orina hay pérdidas de energía ligadas al metabolismo proteico y finalmente, la utilización metabólica de la energía del alimento va acompañada de unas pérdidas en forma de calor. En la partición de energía ingerida en el ave presentada por Sibbald (1982) el valor energético de un alimento puede expresarse en términos de energía digestible (ED), energía metabolizable (EM) y energía neta (EN). En aves, el sistema más ampliamente utilizado es el de EM, debido a la fisiología del ave (excreción conjunta de heces y orina en la cloaca) se determina muy raramente la ED (Francesh, 2001).

La energía metabolizable de un alimento es la energía digestible, menos la energía que se pierde en la orina y los gases combustibles (Mc Donald et al., 2002). Esta representa aquella fracción de la energía de la dieta que los tejidos del organismo pueden usar para mantener los procesos metabólicos (Ramírez, 2000).

La EM se evalúa directamente mediante ensayos de balance y requiere la determinación de los calores de combustión de una muestra representativa de excreta y alimento y la medida cuantitativa de la cantidad de excreta con respecto a la ingesta (Francesh, 2001).

La energía metabolizable aparente (EMA) considera que la pérdida energética que se encuentra en las excretas proviene únicamente del insumo consumido después de su pasaje por el tracto digestivo del ave. La energía metabolizable verdadera (EMV), desarrollada por Sibbald (1976), corrige los resultados por la pérdida endógena, es decir considera la energía fecal metabólica (EFM) y energía urinaria endógena (EUE) (Ramírez, 2000).

En el trabajo realizado por Francesh (2001) se menciona que existen discrepancias sobre la idoneidad de utilizar la forma EMV con corrección de las pérdidas endógenas o la forma aparente (EMA) sin corrección. Además señala que la energía metabolizable se puede expresar con o sin corrección para una retención de nitrógeno nula (EMVn y EMAn).

De la energía urinaria excretada, se deben restar 7.45 Kcal por cada gramo de nitrógeno perdido del organismo (representado por un balance negativo de N) y sumar 7.45 Kcal por cada gramo de nitrógeno que se almacena (representado por un balance positivo de N); la cifra que resulta de este cálculo se llama *Energía metabolizable corregida por Nitrógeno*. Estos factores son usados en mamíferos. Para las determinaciones de energía metabolizable en aves se ha utilizado el factor 8.7 Kcal, que representa aproximadamente el contenido energético de la orina por gramo de nitrógeno urinario, o de 8.22 Kcal basado en el contenido de ácido úrico de la orina (Maynard, 1981). La energía metabolizable corregida en cuanto al nitrógeno es la energía metabolizable ajustada en cuanto al nitrógeno total retenido por los tejidos corporales o que se pierde de los mismos (Church et al., 2009).

En aves en crecimiento el nitrógeno es retenido para la síntesis de proteína por lo tanto se habla de energía metabolizable corregida por nitrógeno (EMAn), cuando se adiciona a la energía de excreta (heces y orina) la energía de la pérdida urinaria, la cual se produciría si la proteína equivalente al nitrógeno retenido se hubiera oxidado para propósitos de energía. Hill y Anderson (1958) usaron un valor de corrección de 8.22 Kcal/g de nitrógeno, lo cual simplifica la oxidación del tejido proteico que produciría 3 unidades de ácido úrico como único producto de excreción (Ramírez, 2000). En la determinación de la EM, la prueba de Hill y Anderson (1958) propone una dieta basal con 50% de glucosa y una dieta experimental en la cual una proporción de glucosa se reemplaza por el insumo problema.

2.2.1 Determinación de la energía metabolizable

2.2.1.1 Métodos directos

El método de Colección Total, se basa en que la excreta que se elimina durante un determinado periodo de tiempo y requiere la medición del consumo de alimento, cantidad de excreta y la energía total por unidad de peso del alimento y excreta. Se encuentran errores inherentes, debido a que las tasas de consumo y excreción varían (Sibbald y Morse 1983). Sin embargo con el periodo de colección de excretas de tres días a más, el error es bajo (Miller, 1974). Las limitantes del método consisten en la dificultad de medir ingestión y excreción lo cual conduciría a obtener resultados errados. El desperdicio de alimento, sobretodo en animales jóvenes, las plumas, el plumón característico en la edad de colección así como las escamas desprendidas que caen sobre las excretas dificultan estimar con precisión la cantidad y composición (Sibbald, 1978).

En el Método del Indicador una cantidad conocida de un compuesto inerte es incorporado a la dieta y la cantidad de alimento a partir de la cual se deriva una cantidad de excreta, puede ser calculado basándose en las concentraciones relativas del indicador tanto en dieta como excreta. Con este método se evita medir el consumo de alimento y excreta, permitiendo una valores aceptables de energía biodisponible, aun cuando el alimento es derramado y parte de las excretas no son recuperadas (Sibbald, 1982).

Un indicador debe ser digerible e inabsorbible de fácil determinación y no debe de afectar ninguno de los procesos de digestión, fácil aplicación, sin causar alteración excesiva en el alimento y no debe de provocar la alteración en los hábitos de alimentación o incitar a los animales. El indicador puede ser componente natural de los alimentos (indicador interno) como cenizas insolubles en ácido, fibra cruda, etc. o sustancias agregadas (indicador externo) como el óxido crómico, óxido férrico (Bondi, 1988).

2.2.1.2 Métodos indirectos

La prueba biológica se basa en la comparación del crecimiento entre los pollos que reciben una dieta básica del insumo evaluado versus el crecimiento de los pollos que reciben la dieta básica con niveles graduales de otro material con energía conocida. Estas pruebas arrojan valores de energía, sin embargo los animales son capaces de identificar materiales dañinos o no palatables muy variables. Aunque este tipo de pruebas arrojan valores muy variables, las aves son capaces de identificar sustancias dañinas o no palatables, difíciles de ser detectados en los análisis químicos.

Los métodos físicos basan su estimación en la densidad del insumo y se aplican principalmente a los granos. Ensayos realizados con distintas especies y cereales han demostrado que no siempre se cumple la relación directa entre la densidad y el valor nutricional (Hochstetler y Scott, 1975).

Los métodos químicos estiman la energía metabolizable a partir de la composición química del insumo y coeficientes teóricos. Así, Atwater citado por Fisher (1982) determinó los factores 4.9 y 4 Kcal/g. para calcular la energía biodisponible de la proteína, grasa y carbohidratos, respectivamente.

Se han publicado diversas ecuaciones de predicción para estimar la energía metabolizable aparente de los alimentos. Quiroz (1991) menciona que la ecuación de Moir et al., (1980) presenta un error de 7.29 % y solo es aceptada para dietas prácticas. Propuso, por ello un nuevo modelo de predicción de dietas para aves, en la que se incluyó la metabolicidad (EM/EB) en función de la relación de extracto a carbohidratos totales (EE/CHO_f) o el EE como componente cuadrático, obteniendo como resultado la reducción del error en el modelo experimental en 1.024 % al incluir el EE como variable de predicción.

2.2.2 Factores que afectan a los valores de energía metabolizable de los alimentos

El valor de la energía metabolizable puede ser alterado por diversos factores relacionados con el tipo animal, edad, composición de la dieta, consumo de alimento, tipo de proceso y almacenamiento, medio ambiente.

Se encontraron diferencias de un 3% de la energía metabolizable aparente medidas en diferentes líneas, aunque otros trabajos no han encontrado diferencias significativas (Sibbald y Slinger, 1963). Los valores de EMA pueden variar con el tipo de ave usada. Aunque esta variación sea pequeña cuando se utilizan los resultados con pollitos en la formulación de raciones para otras clases de aves podría afectar el rendimiento de las aves. Las pérdidas metabólicas y endógenas de la materia seca, la energía y el nitrógeno están relacionados con el peso de las aves, aquellas más pesadas tienen una mayor pérdida de estos elementos (Sibbald, et al., citado por Ramos, 2006).

También los valores de energía metabolizable de los alimentos varían de acuerdo con la especie que los consume, o más específicamente, con el tipo de digestión a que son sometidos. De modo que los alimentos digeridos casi en el mismo grado por los animales rumiantes y los no rumiantes, tienen mayores valores de energía metabolizable para estos últimos (Mc Donald et al., 2002).

La edad debe ser considerada porque las aves más jóvenes tienen menos capacidad de digerir y absorber nutrientes ya que su sistema digestivo no está totalmente desarrollado. El efecto de la edad es particularmente notable en los alimentos que contienen sustancias anti-nutricionales, porque generalmente esos efectos comienzan a disminuir después de la tercera semana de edad, coincidiendo con la maduración del tracto digestivo (Marzo et al., citado por Ramos, 2006).

El efecto del medio ambiente en los valores de energía metabolizable aparente no ha sido concluyente. Con el aumento de la temperatura ambiente, las necesidades energéticas y de consumo disminuyen. Sin embargo, los valores de energía metabolizable aparente aumentan. Posiblemente la explicación está en el hecho de que las pérdidas endógenas disminuyen con el aumento de temperatura (Terrones, 2009).

La composición de las dietas es la fuente de variación más importante en los ensayos de energía metabolizable aparente. El uso de ingredientes poco palatables durante pruebas prolongadas puede ocasionar deficiencias nutricionales. Estos efectos propician usar dietas mezcladas, pero en la práctica únicamente la dieta referencial está balanceada para sus nutrientes (Sibbald, 1982). La composición química de los componentes influye directamente en la cantidad de energía metabolizable. El contenido de cenizas y el tipo de grasa en el alimento son los principales factores que influyen en los valores de energía metabolizable. Estos aumentaban de valor con el incremento en el contenido de aceite de maíz (Parson et al., citado por Ramos, 2006).

Hill y Anderson (1960) reportaron la disminución en el consumo, el cual no cambió los valores de EMA de las dietas. Sin embargo diversos estudios han reportado que la variación de EM está relacionada con el nivel de consumo del alimento. La precisión de los valores de EM fueron afectados por el consumo de alimento y por la retención de nitrógeno y el aumento de consumo proporcionó menor variación en estos valores. Diferentes estudios revelan que las variaciones en la cantidad de energía de los alimentos obtenidos por el sistema de EMA están directamente relacionadas con el consumo de alimento, existiendo a la posibilidad de subestimar los valores de EMA en alimentos con tendencia a causar depresión en el consumo (Wolynetz et al., citado por Ramos, 2006).

El procesamiento y almacenamiento de los alimentos pueden interferir con la digestibilidad de sus nutrientes, alterando su valor energético. Los principales factores que afectan a los valores de energía metabolizable de los alimentos, son los que afectan a la digestibilidad (Mac Donald et al., 2002). El efecto del procesado, permite incrementar el consumo de las dietas causando incrementos significativos en los valores de energía metabolizable aparente. Las aves tienden a comer más alimento en forma de gránulos que en harina (Dolz, 1991).

Los valores en energía metabolizable de los alimentos pueden variar según que los aminoácidos que aportan sean retenidos para la síntesis proteica de los animales, o sean desaminados y el nitrógeno excretado en la orina en forma de urea. Por esta razón, los valores suelen corregirse para ajustarlos a un balance de nitrógeno cero.

Si los animales excretan en la orina más cantidad de nitrógeno que la absorbida de los alimentos es decir se encuentra en balance negativo de nitrógeno), parte del nitrógeno urinario no procede de los alimentos; en este caso, los valores de energía metabolizable deben someterse a una corrección positiva (Mc Donald et al., 2002).

En ocasiones, la preparación de los alimentos puede afectar a los valores de energía metabolizable. En el caso de los rumiantes, la molienda y granulado de los alimentos groseros, determina un incremento en las pérdidas fecales de energía, aunque puede compensarse, en parte, por la menor producción de metano. En cuanto a las aves, la molienda de los cereales, no parece afectar de forma constante a los valores de energía metabolizable (Mc Donald et al., 2002).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 LUGAR Y EJECUCIÓN

La investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Investigación en Nutrición y Alimentación de Aves (LINAA) del Departamento Académico de Nutrición de la Universidad Agraria la Molina. Las dietas se prepararon en la Planta de Alimentos del Programa de Investigación y Proyección Social en Alimentos de la facultad de Zootecnia en la UNALM. Los análisis químicos se realizaron en el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA). La duración del trabajo fue de 45 días, correspondiendo 21 días al ensayo biológico.

3.2 INSTALACIONES Y EQUIPOS

En la ejecución de la prueba se empleó una batería metálica de cinco pisos, provista de dos divisiones por piso, mallas de alambre galvanizado y calefacción eléctrica controlada por termostato. Cada división estuvo acondicionada con dos comederos, un bebedero y una bandeja metálica para la colección de excretas. En el control de peso de los animales así como el consumo de alimento se empleó una balanza eléctrica.

3.3 ANIMALES EXPERIMENTALES

Se utilizaron inicialmente 70 pollos de carne, de un día de edad, todos machos, los que fueron pesados individualmente y distribuidos en lotes de 10 pollos, buscando que el peso promedio sea uniforme, para lo cual se descartaron 10 de ellos, que conformaron los extremos muy pesados y livianos. Los 60 pollos restantes fueron distribuidos a dos tratamientos con tres repeticiones cada uno. La unidad experimental lo constituyó el lote de 10 pollos.

3.4 PRODUCTO EN EVALUACIÓN

El ingrediente evaluado es la harina de pescado prime producida con anchoveta integral y secado utilizando calor de vapor. El análisis proximal obtenido fue 91.86 % materia seca, 8.14% humedad, 64.67 % proteína, 9.46% grasa, 14.85 % cenizas y 2.88 % ELN, con nivel de histamina de 50ppm.

3.8 CONTROLES REALIZADOS

El peso de los pollos fue controlado al inicio del ensayo en forma individual para uniformizar por lotes de diez, a los siete días, al comienzo y al final de la fase de colección. Se registró el consumo semanal de alimento, durante el periodo pre-experimental y experimental.

3.9 SANIDAD

Antes de iniciar el ensayo biológico se realizó una adecuada desinfección del ambiente de baterías de las unidades experimentales. Diariamente fue observado el estado de salud de las aves.

3.10 TRATAMIENTOS

Las dietas fueron asignadas en los siguientes tratamientos:

Tratamiento 1: Dieta referencial con glucosa

Tratamiento 2: Dieta experimental con harina de pescado prime

3.8 ANÁLISIS QUÍMICOS

Se tomaron muestras del insumo, dietas y excretas para realizar los siguientes análisis:

3.8.1 Análisis proximal

El análisis proximal realizado a la harina de pescado prime de acuerdo a los métodos de la A.O.A.C (1990).

3.8.2 Humedad

La humedad de las muestras de alimento y excretas se determinó según el método de la A.O.A.C (1990).

3.8.3 Nitrógeno

El análisis de nitrógeno para las muestras de alimento y excretas fue determinada por el método Micro Kjeldhal, según A.O.A.C (1990), que permite conocer la cantidad de nitrógeno total de la muestra el que se multiplica por 6.25 para ser expresado como proteína total.

3.8.4 Calor de combustión

El calor de combustión o energía bruta de las dietas y sus respectivas excretas fue determinado en la bomba calorimétrica.

3.8.5 Ceniza insoluble en ácido (CIA)

El contenido en ceniza de dietas y excretas fueron analizadas por el método de cenizas insoluble en ácido HCl 4N, siguiendo la técnica descrita por Vogtman et al., (1975).

3.9 DETERMINACIÓN DE LA ENERGÍA METABOLIZABLE

La energía metabolizable por gramo de materia seca fue determinada mediante dos métodos: Técnica de Colección Total propuesta por Hill y Anderson (1960) y Ceniza Insoluble en Acido desarrollado por Vogtman et al., (1975).

Se evaluaron dos dietas, una referencial y otra experimental. La referencial fue una variación de la dieta empleada por Hill et al., (1960) teniendo como componente un 50% de glucosa, formulado de tal modo que aporte las cantidades necesarias de todos los nutrientes requeridos por el ave. La experimental tuvo una inclusión de 30% de harina de pescado prime en reemplazo de glucosa, manteniendo el resto de ingredientes en niveles constantes, la composición de las dietas es mostrada en el Cuadro 02. Durante los primeros 7 días todas las unidades experimentales fueron alimentadas con la dieta referencia, a partir de la segunda semana se asignó la dieta experimental solo a tres unidades experimentales.

Cuadro 2: Composición porcentual y valor nutritivo calculado de las dietas experimentales

Ingredientes	Dieta	Dieta
	Referencial (%)	Experimental (%)
Glucosa	50.00	20.00
Harina de pescado Prime	-	30.00
Torta de soya, 47	33.75	33.75
Harina de pescado, 64	8.00	8.00
Maíz amarillo	3.80	3.80
Carbonato de calcio	1.30	1.30
Aceite vegetal	1.25	1.25
Fosfato dicálcico	1.10	1.10
DL-metionina	0.30	0.30
Sal	0.25	0.25
Cloruro de colina 60%	0.13	0.13
Premezcla de Vit -min	0.10	0.10
Antioxidantes	0.02	0.02
Total	100.00	100.00
EM (Kcal/kg)	3100.00	3101.68
Proteína total (%)	21.07	40.27
Lisina (%)	1.43	2.95
Metionina (%)	0.68	1.27
Met +Cis (%)	0.96	1.71
Calcio (%)	1.09	2.21
Fósforo disponible	0.47	1.20
Ácido linoléico	0.99	1.05

Durante los tres primeros días del ensayo se proporcionó electrolitos en el agua. Los bebederos fueron lavados diariamente para renovar el agua. El suministro de alimento y agua fue ad libitum a lo largo de todo el experimento.

3.9.1 Colección de la excreta

La colección total de la excreta se realizó durante los tres últimos días de la fase experimental, empleando plástico impermeables, los cuales se colocaron en cada bandeja metálica tomándose muestras de cada lote para los análisis posteriores. Durante la recolección se eliminaron restos de escamas, plumones, desperdicios de alimento u otras impurezas. Se pesaron las muestras completas en bolsas identificadas y se guardaron en refrigeración. Al finalizar la etapa de colección se juntaron las excretas de los tres días, de cada unidad experimental, para formar una muestra representativa, la cual se homogenizó y se secó en una estufa con aire circulante entre 60 a 70 °C. Posteriormente fueron dejadas al medio ambiente por unas horas, para establecer el equilibrio con la humedad del medio ambiente para luego colocarlas en bolsas de plástico selladas. Consecutivamente se llevó a un molino y conservadas en frascos de vidrio herméticamente cerrados y codificados para su posterior análisis.

3.9.2 Cálculo de la energía metabolizable aparente corregida por nitrógeno (EMAn)

La determinación de la energía metabolizable aparente por nitrógeno de la harina de pescado prime, fue calculada por el método de colección total y ceniza insoluble en ácido. Los valores de los análisis químicos y las cantidades de alimento y excreta fueron expresadas en base materia seca (MS).

Con los resultados de los análisis de laboratorio tanto de la dieta referencial y dieta experimental así como de excretas, se calculó la energía metabolizable aparente con corrección de nitrógeno del ingrediente en estudio usando la fórmula propuesta por Hill et al., (1960).

3.9.2.1 Técnica de Colección Total

Para el cálculo de la energía metabolizable por el método de colección total se restó de la energía bruta por gramo de dieta, la energía de la excreta por gramo de dieta y se corrigieron los valores hallados a un balance de nitrógeno igual a cero. Para ello fue necesario medir el consumo de alimento y la cantidad de excretas durante los tres días de colección. Para la determinación de la energía metabolizable aparente corregida por nitrógeno calculada de acuerdo a Hill et al., (1960), se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{EM/g de ingrediente} = 3.65 - \frac{\text{EM/g dieta referencial} - \text{EM/g dieta experimental}}{\text{Porcentaje de sustitución}}$$

Donde:

3.65 : EM en Kilocalorías por g de glucosa en M. S.

EM/g dieta : EB/g dieta - EB/g excreta/g dieta - 8.22 x Nretenido/g dieta.

g de N retenido/g. dieta: N/g dieta- N/g excreta x (g excreta/g. dieta).

EB/g dieta y EB/g de excreta: determinado en la bomba calorimétrica.

8.22: Representa el equivalente de energía en kilocalorías del ácido úrico por g de nitrógeno (Church et al., 2009).

N: nitrógeno

3.9.2.2 Técnica de ceniza insoluble en ácido (CIA)

Las dietas y excretas fueron analizadas por el método de ceniza insoluble en ácido (HCL 4N) según indica la metodología descrita por Vogtman et al., (1975). Para la determinación de la energía metabolizable se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{EM/g de insumo} = 3.64 - \frac{\text{EM/g dieta referencial} - \text{EM/g dieta experimental}}{\text{proporción de sustitución}}$$

Donde:

3.64 : EM expresado en Kilocalorías por gramo de glucosa.

EM/g dieta : EB /g dieta–Energía Excretada/g dieta -8.22 x g N retenido /g dieta.

Energía excretada/gdieta: EB exc x (%ceniza dieta) / (% ceniza excreta).

g N ret/g Dieta : N / g dieta – N / exc x (% ceniza dieta) / (%cenizaexc).

EB (Kcal/g): determinada en bomba calorimétrica.

N: Nitrógeno

3.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el Diseño Completamente al Azar con dos métodos de colección y 3 repeticiones por método. El modelo aditivo lineal fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : Observación en la unidad experimental

μ : Media poblacional

t_i : Efecto del i-ésimo método de determinación

e_{ij} : Efecto del error que se comete al aplicar a la j-ésima unidad experimental aplicado el i-ésimo tratamiento.

Se utilizó el análisis de varianza y la prueba t-student para determinar diferencias entre los métodos de determinación de energía metabolizable aparente por colección total y ceniza insoluble en ácido.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 ENERGÍA METABOLIZABLE DE LA HARINA DE PESCADO PRIME DETERMINADA POR LA TÉCNICA DE COLECCIÓN TOTAL Y CENIZA INSOLUBLE EN ÁCIDO.

Los resultados de la energía metabolizable aparente corregida por nitrógeno (EMAn) determinados por los métodos de colección total y ceniza insoluble en ácido (CIA) en base seca y tal como ofrecidos para la harina de pescado prime, son mostrados en el Anexo 7. En el análisis de varianza, observado en el Anexo 8, no hubo diferencias significativas entre los métodos evaluados. Los valores de energía metabolizable de la harina de pescado prime determinados mediante la técnica de colección total y ceniza insoluble en ácido no mostraron diferencias estadísticas significativas ($\alpha > 0.05$) a la prueba T-student.

La Energía Metabolizable Aparente Corregida por nitrógeno (EMAn) obtenida por los dos métodos con un nivel de sustitución del insumo de 30%, obtuvo valores de 3196 Kcal/kg en base seca con una desviación estándar de ± 0.067 y coeficiente de variabilidad de 2.09 % mediante el método de colección total. Por el método de Ceniza Insoluble en Acido (CIA) se determinó el valor de 3113 Kcal/kg en base seca con una desviación estándar de ± 0.12 y coeficiente de variabilidad de 3.87 %.

Las variaciones halladas en los valores de energía metabolizable para ambas técnicas fueron similares, siendo ligeramente mayores con la técnica de ceniza insoluble en acido en comparación a la técnica de colección total. El coeficiente de variación promedio de ambas técnicas es 2.43 %, valor que mostraría precisión y confiabilidad de los valores obtenidos.

Arroyo (2003), al evaluar la harina de pescado prime determinó mediante el método de colección total el valor de 3589 Kcal/kg en base seca como valor de la EMAn y mediante el método de fibra cruda determinó el valor de 3586 Kcal/kg en base seca como valor de la EMAn. El resultado obtenido por la técnica de Fibra cruda por Arroyo fue de

3586 Kcal/Kg y por medio de la técnica de ceniza insoluble en ácido, evaluada en el presente trabajo, la EMAn determinada fue de 3113 Kcal/Kg.

Comparando estos resultados con el determinado por el presente trabajo existe una diferencia de 393 Kcal/Kg para el método de colección total y 473 Kcal/Kg al comparar los métodos no comunes en ambos trabajos. La composición proximal de la harina de pescado en base fresca evaluada por Arroyo (2003) presentó valores de 68.37 % de proteína, 7.77 % de grasa y 13.80 % de ceniza. El porcentaje de grasa sugeriría que la harina de pescado evaluada tendría mayor nivel de energía, sin embargo la cantidad de energía obtenida es menor. Este resultado se explica observando las diferencias en los niveles de proteína y ceniza, ya que el porcentaje del primero es menor en 3.7 % y el segundo es mayor en 1.05 %. Altos niveles de ceniza disminuyen la materia orgánica, mermando el contenido de energía. Constituyendo un factor considerable en el resultado de la energía metabolizable obtenida. La energía de la harina de pescado proviene de la proteína y los lípidos que tienen un alto nivel de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga. De manera integral puede suceder que aunque la harina de pescado tenga menor nivel de grasa, el resto de nutrientes pudieron haber quedado sin modificar o más aprovechables.

El alto contenido de ácidos grasos no saturados de la harina de pescado la hace muy susceptible a la auto-oxidación. Debido a esta característica se observa que el contenido de energía metabolizable de las diferentes harinas de pescado es bastante variable. El uso de antioxidantes es importante no solo porque garantiza la conservación de la energía metabolizable del producto, sino también porque evita la disminución en la digestibilidad de las proteínas y otros nutrientes. Los lípidos peroxidados forman películas no atacables por las enzimas impidiendo que los nutrientes estén libres y en consecuencia absorbidos.

Teóricamente se espera un menor valor de energía metabolizable para la harina de pescado evaluada. El valor estimado a partir de la ecuación propuesta por Jansen (1989) donde usa los datos del análisis proximal para calcular la energía metabolizable para la harina de anchoveta, reportado por NRC (1994) da como resultado el valor de 3177 Kcal/kg en base seca con 16.17% de ceniza y 10.3 % de grasa. Este valor es menor al calculado por Arroyo (2003), quien usando la misma fórmula, estimó en 3428 Kcal/kg en

base seca como valor de energía metabolizable para la harina de pescado prime que evaluó.

$$EMn = 35.87 \times MS - 34.08 \times \text{Ceniza} + 42.09 \times EE$$

La frescura de la materia prima es importante en la calidad del producto final mediante las operaciones de extracción y almacenamiento adecuado en las diferentes etapas de producción de harinas de pescado. La calidad de la harina de pescado puede variar por factores como degradación parcial antes del procesamiento, sobrecalentamiento durante las etapas de producción, condiciones y tiempo de almacenamiento, el exceso de aceite puede enranciar la harina y el secado inadecuado permite la formación de hongos.

En la determinación de la energía metabolizable para harina de pescado prime el resultado obtenido del análisis de varianza y de medias no se encontraron diferencias significativas empleando la técnica de ceniza insoluble en ácido respecto del método de colección total. Este resultado fue comparado con los trabajos realizados por: Quijano (1997) quien evaluó harina del alga *Chara globularis*. García (1999) al evaluar maíz amarillo nacional. Talavera (1999) al evaluar maíz amarillo argentino. Bernuy (1999) evaluando Hominy Feed. Navarro (2000) al analizar pasta de algodón. Valenzuela (2000) evaluando margarina. Miranda (2001) al analizar aceite compuesto y aceite residual de frituras de pollos. Terrones (2009) evaluando aceite de maracuyá. En estas evaluaciones realizadas para diversos ingredientes, no se encontraron diferencias significativas en la determinación de la energía metabolizable empleando la técnica de ceniza insoluble en ácido respecto de los otros métodos evaluados.

Considerando este resultado se podría extender que la ceniza insoluble en ácido es un buen indicador natural en la determinación de la energía metabolizable en las dietas de pollos de carne. Además no precisa obtener una completa medición del consumo de alimento y excreta, necesitando solamente una cantidad mínima representativa tanto del alimento ingerido como las excretas. Debido a la dificultad que puede representar el medir la ingestión y excreción del alimento en el método de colección total, así mismo el desperdicio de alimento, sobre todo en animales jóvenes, presencia de plumas así como

escamas desprendidas que caen sobre las excretas, los que representan factores que podrían conducir a obtener resultados errados y no estimar con precisión el verdadero valor de la energía metabolizable aparente del ingrediente. Por lo tanto se puede afirmar que la Técnica de Ceniza Insoluble en Acido puede ser empleada en la determinación de energía metabolizable de diferentes insumos alimenticios en pollos de carne. También estaría en concordancia con los trabajos de Vogtmann et al., (1975) donde se indicó que ambas técnicas pueden ser utilizadas para evaluar los valores de energía metabolizable, ya que se obtienen resultados semejantes y con diferencias no significativas.

Cuadro 3: Contenido de energía metabolizable de harina de pescado prime por dos métodos (base seca)

Repeticiones	Colección total		Ceniza insoluble en acido (CIA)	
	Dieta referencial	Dieta experimental	Dieta referencial	Dieta experimental
EB dieta (kcal/g)	4.199	4.620	4.199	4.620
EB excreta (kcal/g)	4.165	4.062	4.165	4.062
Excreta (g)	17.770	31.769		
% CIA excreta			1.575	1.547
Consumo(g)	84.033	93.693		
%CIA dieta			0.387	0.581
Excreta / consumo	0.211	0.339		
% CIA dieta/% CIA excreta			0.246	0.376
Corrección por nitrógeno	0.161	0.249	0.139	0.217
EMAn de dietas (kcal/g)	3.158	3.025	3.034	2.876
EMAn de harina de pescado prime(kcal/Kg)		3196		3113

Cuadro 4 : Resultado de la desviación estándar, coeficiente de variación y prueba de medias t-student ($\alpha > 0.05$)

Repetición	Colección total (Kcal/kg)	Ceniza insoluble en ácido (Kcal/kg)
1	3160	3083
2	3155	3246
3	3273	3011
Promedio	3196(a)	3113(a)
Desviación estándar	0.067	0120
coeficiente de variación	2.088	3.867

(a) En la misma fila expresan igualdad estadística, con prueba de comparación de medias t-student ($\alpha > 0.05$)

V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las que se realizó el presente trabajo de investigación de determinación de la energía metabolizable aparente corregida por nitrógeno (EMAn), mediante la aplicación de los métodos de colección total y ceniza insoluble en ácido, se ha llegado a las siguientes conclusiones:

1. El valor de la EMAn de la harina de pescado prime por el método de colección total fue de 3196 Kcal/kg en base seca y de 2936 Kcal/kg en base fresca.
2. El valor de la EMAn de la harina de pescado prime por el método de Ceniza Insoluble en Acido fue de 3113 Kcal/kg en base seca y de 2860 Kcal/kg en base fresca.
3. Los valores de energía metabolizable aparente corregida por nitrógeno (EMAn) de la harina prime de pescado en base seca determinados por los métodos de colección y ceniza insoluble en ácido, son estadísticamente similares.

VI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda usar el valor de la EMAn de la harina de pescado prime de 2.936 Kcal/kg en la formulación de alimentos para aves.
2. Se recomienda utilizar el método del indicador Ceniza Insoluble en Acido (CIA) como alternativa para determinar la EMAn de la harina de pescado.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ACUACHI, R; ARÉSTEGUI, V; FLOR, R; GUERRINI, O. 1999. Elaboración de un manual de aseguramiento de la calidad y un sistema de control de procesos en la producción de harina de pescado PRIME para la empresa Oquendo S.A. Trabajo de investigación no experimental para Ing. Pesquero. Lima- Perú, Universidad Nacional Agraria la Molina.

AGUDELO, G. 2001. Fundamentos de Nutrición Animal. Colombia. Editorial Universidad de Antioquía. p. 49-52.

ARROYO, W.R 2003. Determinación de la energía metabolizable de tres harinas especiales de pescado en pollos de carne por el método de colección total y fibra cruda. Tesis Ing. Zootecnista. Lima-Perú, Universidad Nacional Agraria la Molina.

BELLIDO, A. 2002. Breve Manual de Tecnología Pesquera. Perú. p. 10-11, 154.

BERNUY, E. 1999. Determinación de la energía metabolizable aparente corregido por nitrógeno (EMAn) para pollos de carne del hominyfeed por dos métodos. Tesis Ing. Zootecnista. Lima-Perú, Universidad Nacional Agraria la Molina.

BONDI, A.I. 1988. Nutrición Animal. Editorial Acribia S.S. Zaragoza-España

CALZADA, B. 1982. Métodos Estadísticos para la Investigación. Lima, Editorial Jurídica.

CAÑAS, R. 1998. Alimentación y Nutrición Animal. 2 ed. Pontificia Universidad de Chile. p. 269-271.

CHANG, R. 2010. Química. 10 ed. México, DF, McGraw-Hill. p. 251.

CHILE PESQUERO. Santiago de Chile, CL., (136).

CHURCH, DC; POND, WG; POND, KR. 2009. Fundamentos de Nutrición y Alimentación de animales. 2 ed. México, Limusa. 353 p.

CIP (Colegio de Ingenieros del Perú). 1995. Conferencia Nacional: El sector pesquero 1995-2005.

CUCA, GM; Ávila GM. 1978. Fuentes de energía y proteínas para la alimentación de las aves. Ciencia Veterinaria. Consultado 4 ene. 2011. Disponible en <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol2/CVv2c12.pdf>

DIAZ, G. 2002. Determinación de la energía metabolizable aparente corregida por un método rápido utilizando pollos en crecimiento. Tesis Mag. Sc. Lima- Perú, Universidad Nacional Agraria la Molina.

DONOSO, J. 1993. Harinas Especiales “Prime”: Un mercado con grandes proyecciones. Chile Pesquero n° 73: 31-34.

ENERCOM (Equipamiento para la Industria Pesquera y Minera) 2004. Como elegir el mejor secado para la harina de pescado. Chile Pesquero 27(137): 14-15.

FAO (Organización de las Naciones unidas para la Agricultura y la Alimentación,IT). s.f. Sistema de información sobre recursos de piensos (en línea). Consultado 4 dic. 2010. Disponible en <http://www.fao.org/ag/aga/agap/frg/afri/es/Data/332.HTM>.

FARRO, H. 1996. Industria Pesquera. Perú. Editorial Industrial. p. 189-193.

FENUCCI, J. 2007. Ingredientes de origen animal: harina de pescado. In Manual de ingredientes proteicos y aditivos empleados en la formulación de alimentos balanceados para camarones peneidos (en línea). Mar de Plata, AR. Editorial universitaria de Mar de Plata. Consultado 10 ene. 2011. Disponible en http://www.cibnor.org/biohelis/pdf/MANUAL_INGREDIENTES_PROTEICOS.pdf

FISHER, C. 1982. Energy values of compound poultry feeds. Proc. Ocasional publication nº2. Edinburgh Research Centre.

FRANCESH, M 2000. Sistemas para la valoración energética de los alimentos en aves [versión electrónica] Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA).35-41

GARCÍA, O. 1999. Determinación de la energía metabolizable de maíz amarillo nacional en pollos de carne por los métodos de colección total y ceniza insoluble en ácido. Tesis Ing. Zootecnista. Lima-Perú, Universidad Nacional Agraria la Molina.

GORDON, R.S., L.J. MACHLIN Y G.J. MARCO.1961. A realizable short growthtest for evaluation of relative caloric value of fats and other feedstuffs: the "chicalorie". Poultry Sci.40:1410.

GRADOS, R. 1996. El sistema HACCP y su Aplicación en la Industria de Harina de Pescado. Colegio de ingenieros de Perú. Capítulo de Ing. Pesquera, 104 p.

GUEVARA, J. 2002. Determinación de energía metabolizable aparente para aves de semilla despigmentada de achiote. Tesis Ing. Zootecnista. Lima-Perú, Universidad Nacional Agraria la Molina.

HILL, FW., ANDERSON D.L. 1958. Comparison of metabolizable energy and productive energy determinations with growingchicks. J. Nutrition 64: 587-603.

HUQUE, Q M E., KOSAKA, K. The true metabolizable energy values of some selected feedstuffs of Bangladesh. National Institute of Animal Industry. 1996, vol. 9, nº.5<<http://agris.fao.org/agrissearch/search/display.do?f=2000/KR/KR00004.xml;KR2000000177>> [consulta: 1 diciembre 2010].

LEESON, S; SUMMERS, J; DIAZ, G. 2000. Nutrición Aviar Comercial. Colombia. p. 55-56.

MALAGA, S. 1997. Perú. In XII Curso Internacional de Tecnología de Procesamiento de Productos Pesqueros. Trabajos Técnicos ITP. PE. P. 19-20.

MATTERSON, L.D. Y L.E. OUSTERHOUT.1968. The influence of a/o on the available energy of fish meals. Poultry Sci.47:1964.

MAYNARD, L., LOOSLI, B., HINTZ, H., y WARNER, R. 1981. Nutrición Animal. 4 ed. México, Mc Graw-Hill. p. 207-208

Mc DONALD, P; EDWARDS RA; GREENHALGH JFD y MORGAN CA. 2002.Nutrición Animal. 6 ed. Zaragoza, ES, Acribia S.A. p. 511-513.

MILLER, W.S. 1974. The determination of metabolizable energy. In T.R Morris and B.M. Freeman eds. Energy requirements of Poultry. Br. Poultry Sci. Ltd. Edinburgh.p.91-112.

MIRANDA, D. 2001.Determinación de energía metabolizable del aceite compuesto y aceite residual de fritura en pollos de carne por los métodos de colección total y ceniza insoluble en ácido. Tesis Mag. Sc. Lima-Perú, Universidad Nacional Agraria la Molina.

NAVARRO, D. 2000. Determinación de la Energía Metabolizable de pasta de algodón con alto contenido de proteico en pollos de carne por Colección Total y Ceniza Insoluble en Acido. Tesis Mag. Sc. Lima-Perú, Universidad Nacional Agraria la Molina.

NRC (NATIONAL RESERARCH COUNCIL). 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9 ed. Revised Edition National Academy of Sience. Washington, Dc. 120 p.

OPSTVEDT, J. 1985. Lípido de Pescado en Nutrición Animal IAFFMM Boletín Técnico n° 22

PICHILLINGUE, J. 2003. Contenido de energía metabolizable para aves en harinas de pescado con diferente proceso de secado directo. Tesis Ing. Zootecnista. Lima-Perú, Universidad Nacional Agraria la Molina.

QUIJANO, W.S. 1997. Energía metabolizable aparente de la harina del alga *Chara globularis* determinado en pollos de carne por colección total y ceniza insoluble en ácido. Tesis Ing. Zootecnista. Lima-Perú, Universidad Nacional Agraria la Molina.

RAMIREZ, M.N 2000. Determinación de la Energía Metabolizable para aves de harina integral de soya de tres procesos por el método de colección total. Tesis Ing. Zootecnista. Lima-Perú, Universidad Nacional Agraria la Molina.

RAMOS, R.A. 2006. Valores de energía metabolizable e de aminoácidos digestivos de alimentos para aves. Tesis Mag. Sc. Minas Gerais, BR. Universidade Federal de Vicosa. 48 p.

REMIGIO, R.I 2006. Energía Metabolizable de la harina de subproducto de calamar gigante y su evaluación productiva en reemplazo de la harina de pescado prime en dietas para pollos de carne. Tesis Mag. Sc en Nutrición). Lima: Universidad Nacional Agraria la Molina.

ROJAS, S. 1979. Nutrición Animal Aplicada: aves, porcinos y vacunos. Lima, PE, Universidad Nacional Agraria la Molina. 228 p.

RUIJTER, A. 1995. El pescado y los productos derivados de la pesca: composición, propiedades nutritivas y estabilidad. España. Acribia. 394 p.

SANDBOL, P. 1993. Nueva tecnología en la producción de harina de pescado para piensos: implicaciones sobre la evaluación de la calidad. Dinamarca. Consultado 14 mayo 2010]. Disponible en http://www1.etsia.upm.es/fedna/capitulos/93CAP_12.pdf

SIBBAD, I.R. 1982. Measurement of bioavailable energy in poultry feeding stuffs; A review. Can. J. Anim. Sci 62: 983-1048.

SIBBAD, I.R. 1976. A bioassay for true metabolizable energy in feeding stuffs. Poultry sci. 55:303-308.

SIBBAD, I.R. 1978. Effect of level of feed input, dilution of test material and method of excreta collection on true metabolizable energy values. Poultry Sci. 58: 1325-1329.

SIBBALD, I.R. Y P.M. MORSE. 1983. Effect of the nitrogen correction and of feed intake on true metabolizable energy values. Poultry Sci. 62: 138-142.

SIBBALD, I.R.; SLINGER S.J. 1963a. Nutritive values of ten samples of western canadian grains. Poultrysci. 42: 276-277.

TALAVERA, L. 1999. Determinación de la energía metabolizable aparente para aves del maíz amarillo (*Zea mays*) procedente de Argentina. Tesis Ing. Zootecnista. Lima-Perú, Universidad Nacional Agraria la Molina.

TARR, H.L. 1982. Effect of processing on the nutritive value of fish products used for animal feeding. Handbook of Nutritive Value of Processed Food. Volume II. Miloslav Recheigl, Jr. Editor. Agency for International Development CRC.

TERRONES, E. 2009. Determinación de la energía metabolizable aparente (EMA) para aves del aceite de semilla de maracuyá (*Passiflora edulis*) por dos técnicas. Tesis Ing. Zootecnista. Lima-Perú, Universidad Nacional Agraria la Molina.

TORNES, E; GEORGE, P. 1970. Algunos aspectos de la producción de harina y aceite de pescado. Proyecto de investigación y desarrollo pesquero MAC-PNUD-FAO n° 3: 1-25

VALENZUELA, G. 2000. Determinación de la energía metabolizable aparente para aves de la margarina. Tesis Ing. Zootecnista. Lima-Perú, Universidad Nacional Agraria la Molina.

VALLE-RIESTRA, J. 1974. Características nutricionales de la harina de pescado. In Simposio para usuarios latinoamericanos de harina de pescado. Lima, PE. p. 3-15.

VOGTMANN, H; PFIRTER, HP y PRABUCKI, AL. 1975. A new method of determining metabolisability of energy and digestibility of fatty acids in broiler diets PoultrySci. 16: 531-534.

WONG, J. 1997. Estudio técnico-económico para la instalación de una planta productora de harina de pescado tipo prime en Sechura. Tesis Ing. Agrícola. Lima-Perú, Universidad Nacional Agraria la Molina.

ZALDÍVAR, J. 1992. Criterios de Calificación de Harinas de Pescado. Chile Pesquero n° 71: 43-47.

VIII. ANEXOS

Anexo 1**Energía bruta de dietas y excretas*****Dietas***

Dieta	Base seca al aire	Base materia seca
	Al aire (kcal/kg.)	Materia seca (kcal/kg.)
Referencial	3905.14	4198.9
Experimental	4211.87	4619.8

EXCRETAS

Tratamiento	Repetición	Base seca	Base 100%
		Al aire (kcal/kg.)	Materia seca (kcal/kg.)
Referencial	1	3820.68	4165.0
	2	3868.79	4222.7
	3	3772.56	4107.4
	PROMEDIO	3820.68	4165.0
Experimental	1	3797.995	4050.5
	2	3807.332	4061.6
	3	3816.669	4072.6
	PROMEDIO	3807.33	4061.6

Anexo 2**Contenido de ceniza insoluble en acido (CIA) en dietas y excretas****Dietas**

Dieta	%CIA en base seca al aire	% CIA en base materia seca
Referencial	0.36	0.387
Experimental	0.53	0.581

Excretas

Tratamiento	Repetición	%CIA en base seca al aire	% CIA en base materia seca
Referencial	1	1.45	1.575
	2	1.38	1.506
	3	1.51	1.644
	Promedio	1.45	1.575
Experimental	1	1.43	1.525
	2	1.44	1.536
	3	1.48	1.579
	Promedio	1.45	1.547

Anexo 3**Humedad de dietas y excretas secas al Aire****DIETAS**

DIETA	% MATERIA SECA	% HUMEDAD
Referencial	93.00	7.00
Experimental	91.17	8.83

EXCRETAS

TRATAMIENTO	REPETICIÓN	% MATERIA SECA	% HUMEDAD
Referencial	1	91.73	8.266
	2	91.62	8.380
	3	91.85	8.152
	PROMEDIO	91.73	8.27
Experimental	1	93.77	6.234
	2	93.74	6.260
	3	93.72	6.285
	PROMEDIO	93.74	6.26

Anexo 4 Relaciones excreta/consumo y ceniza insoluble en acido (%CIA)

Excretas

Tratamiento	Repetición	Colección total Excreta/consumo	Ceniza insoluble %CIA dieta/%CIA excreta
Referencial	1	0.20	0.246
	2	0.22	0.257
	3	0.21	0.235
	PROMEDIO	0.21	0.246
Experimental	1	0.32	0.381
	2	0.35	0.378
	3	0.35	0.368
	PROMEDIO	0.34	0.376

Anexo 5**Colección de excretas**

	Dieta Referencial			Dieta experimental		
	1	2	3	1	2	3
Colección total de heces frescas (kg)	2.16	2.371	2.579	3.328	4.147	3.466
Excretas/gr. /dia	720.000	790.333	859.667	1109.333	1382.333	1155.333
Excreta Ave/gr. /dia	72.000	87.815	85.967	123.259	138.233	128.370
Materia seca %	22.439	21.819	20.932	24.590	23.666	25.148
gr./ MS/Ave/día	16.156	19.160	17.995	30.309	32.714	32.283

Anexo 6**Consumo de alimento en la etapa de colección**

	Dieta Referencial			Dieta experimental		
	1	2	3	1	2	3
Consumo total (kg)	2.629	2.513	2.955	2.765	3.108	2.762
Materia seca %	93.00	93.00	93.00	91.17	91.17	91.17
Consumo total en materia seca(kg)	815.03	779.06	916.09	840.28	944.52	839.37
Consumo gr./ MS/Ave/día	81.50	86.56	84.03	93.36	94.45	93.26

Anexo 7 Contenido de energía metabolizable de la harina de pescado prime

Colección total	Dieta referencial			Dieta experimental		
	1	2	3	1	2	3
Repeticiones						
Energía bruta dieta (kcal/g)	4.199	4.199	4.199	4.620	4.620	4.620
Energía bruta excreta (kcal/g)	4.165	4.223	4.107	4.051	4.062	4.073
Excreta (g.ms/día)	16.156	19.160	17.995	30.309	32.714	32.283
Consumo (g.ms/día)	81.503	86.563	84.033	93.365	94.452	93.264
Excreta / consumo	0.198	0.221	0.214	0.325	0.346	0.346
Corrección por nitrógeno	0.169	0.153	0.161	0.257	0.245	0.244
EMAn de dietas (kcal/g)	3.204	3.111	3.158	3.048	3.060	2.966
EMAn de harina de pescado prime(kcal/g)				3.160	3.155	3.273
EMAn promedio (kcal/Kg)					3196	
Ceniza insoluble en acido						
Repeticiones						
E.B dieta (Kcal/g)	4.199	4.199	4.199	4.620	4.620	4.620
E.B. excreta (Kcal/g)	4.165	4.223	4.107	4.051	4.062	4.073
% CIA Dieta	0.387	0.387	0.387	0.581	0.581	0.581
% CIA Excreta	1.575	1.506	1.644	1.525	1.536	1.579
% CIA Dieta/ % CIA Excreta	0.246	0.257	0.235	0.381	0.378	0.368
Corrección por Nitrógeno retenido	0.140	0.130	0.148	0.207	0.218	0.226
E.M dieta (Kcal/g)	3.036	2.983	3.084	2.869	2.865	2.895
E.M de la harina de pescado (Kcal/g)				3.083	3.246	3.011
EMAn Promedio (Kcal/Kg)					3113	

Anexo 8 Análisis de varianza y prueba t-student de los métodos para la determinación de la energía metabolizable

Análisis de varianza de los métodos de determinación de energía metabolizable

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr> F	NS
Model 1	0.01025067	0.01025067	1.08	0.3570ns		
Error	4	0.03789867	0.00947467			
Corrected Total	5	0.04814933				

Prueba t-student de los métodos de determinación de energía metabolizable

t Grouping	Mean	N	trat		
Colección total		A	3.19600	3	1
Ceniza Insoluble en ácido		A	3.11333	3	2