

11662



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTTLÁN

UNAM

**EFFECTO DEL TIEMPO DE COCCIÓN SOBRE LA CALIDAD
DE LA HARINA DE SARDINA CRINUDA *Opisthonema libertate*
Y SU REPERCUSIÓN EN LA FORMULACIÓN A PROTEÍNA
IDEAL PARA POLLO DE ENGORDA**

TESIS

Que como requisito para obtener
el grado de:

**MAESTRO EN EL ÁREA
DE NUTRICIÓN ANIMAL**

Presenta el:

ING. MARTÍN MANUEL TERRAZAS FIERRO

Asesores:

**Dr. ERNESTO ÁVILA GONZÁLEZ
Dr. MANUEL CUCA GARCÍA**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más profundo reconocimiento, admiración y respeto a mis asesores, **Dr. Ernesto Ávila González** y **Dr. Manuel Cuca García** por su amistad, sus consejos, paciencia y tiempo, por haber influido de manera determinante sobre mis conceptos y conocimientos, por representar un excelente ejemplo a seguir.

A mi tutor de posgrado, **Dr. José Antonio Cuarón Ibarquiengoytia** por su amistad, sus profundos conocimientos, consejos y ejemplo, que al igual que mis asesores, han creado en México, una de las escuelas de reconocido prestigio en el campo de la Nutrición Animal.

Al Honorable Jurado, **Dr. Sergio Gómez Rosales**, **Dr. Gerardo Mariscal Landín** y **Dr. Carlos Vásquez Peláez**, sus consejos, sugerencias y críticas al borrador de la tesis representó una importante experiencia para el que suscribe, ello ha contribuido a mi formación académica.

A mis maestros de posgrado, por su ejemplo y valiosa contribución a mi formación profesional.

Al **Dr. Marcelino Menéndez Trejo** (q.p.d.), por su orientación y ayuda como responsable de la Maestría durante mis estudios de posgrado.

Al **Dr. Héctor Nolasco Soria**, distinguido investigador y amigo del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIB-NOR), mi agradecimiento más sincero, por la ayuda recibida bajo diversos aspectos técnicos y por su asistencia en las determinaciones de digestibilidad *in vitro*.

Al **Ing. Cesar García Pérez**, Gerente General de la Planta Conservera San Carlos S.A. de C.V., por permitirme el acceso a las instalaciones e involucrarme en el proceso de enlatado y producción de las harinas de pescado elaboradas con distintas especies en la empresa a su digno cargo, además de la donación de la harina experimental.

A la Universidad Autónoma de Baja California Sur, por su apoyo durante mis estudios de posgrado.

DEDICATORIA

A mis padres, **Irma y Manuel**, su ejemplo de amor, rectitud, tesón y trabajo, dejó una profunda y positiva huella en mí vida, gracias.

A mis hermanos, **Irma, Francisco** (q.p.d.), **Claudia y Luis**, gracias por permitirme convivir y caminar junto a ustedes en las primeras etapas de nuestra vida.

A mi esposa, **Clara** mi vida a tu lado, simplemente ha sido una hermosa y grata experiencia que me gustaría repetir. Te expreso mi admiración por tu inteligencia y la excelente profesionalista que eres, por tu valor y coraje demostrados en el desempeño de tu trabajo, gracias por tu amor, consejos y paciencia.

A mis hijos, por ser mis mejores maestros y uno de los tantos motivos que me han permitido realizarme como ser humano.

CONTENIDO

| | Página |
|---|---------------|
| RESUMEN | 1 |
| INTRODUCCIÓN | 3 |
| REVISIÓN DE LITERATURA | 5 |
| 1.0. Las proteínas como nutrimento | 5 |
| 1.1. Proteína cruda | 5 |
| 2.0. Importancia de la proteína en la producción avícola | 6 |
| 3.0. Utilización de la proteína dietaria por las aves | 7 |
| 4.0. Calidad proteica | 11 |
| 4.1. Aminoácidos esenciales y no esenciales | 12 |
| 5.0. Características de los alimentos proteicos | 15 |
| 6.0. Aminoácidos cristalinos | 16 |
| 7.0. Terminología empleada en la alimentación con aminoácidos | 17 |
| 7.1. Deficiencia | 17 |
| 7.2. Desequilibrio | 18 |
| 7.3. Antagonismo | 18 |
| 7.4. Toxicidad | 18 |
| 7.5. Disponibilidad | 18 |
| 7.6. Aminoácido limitante | 19 |
| 8.0. Interacciones entre aminoácidos | 19 |
| 8.1. Metionina – cistina | 19 |
| 8.2. Fenilalanina – tirosina | 20 |
| 8.3. Glicina – serina | 20 |
| 9.0. Ventajas del uso de aminoácidos cristalinos | 20 |
| 10.0. Dietas bajas en proteína | 21 |
| 11.0. Proteína Ideal | 27 |
| 11.1. Antecedentes | 27 |
| 11.2. Formulación con el Sistema NRC vs Proteína Ideal | 28 |
| 11.2.1. Etapa de Iniciación | 28 |
| 11.2.2. Etapa de Crecimiento | 31 |
| 11.2.3. Etapa de Finalización | 33 |
| 11.3. El concepto de proteína ideal | 35 |
| 11.4. Lisina como aminoácido de referencia | 38 |
| 11.5. Digestibilidad de aminoácidos | 39 |
| 11.5.1. Medición de digestibilidad | 39 |
| 11.6. Disponibilidad de aminoácidos | 40 |
| 11.6.1. Factores que influyen en la disponibilidad de los aminoácidos | 43 |
| 11.6.1.1. Factores antinutricionales | 43 |
| 11.6.1.1.1. Inhibidores de proteasas | 43 |
| 11.6.1.1.1.1. Actividad ureásica | 45 |
| 11.6.1.1.1.2. Solubilidad de la proteína | 45 |

| | |
|---|----|
| 11.6.1.1.2. Taninos | 47 |
| 11.6.1.2. Tratamiento térmicos de materias primas | 48 |
| 11.6.1.2.1. Reacción de Maillard | 49 |
| 11.6.1.2.2. Origen de la reacción | 50 |
| 11.6.1.2.3. Papel de las proteínas en la reacción | 51 |
| 11.6.1.2.4. Calentamiento y digestibilidad de proteínas | 53 |
| 11.6.1.2.5. Reacción de Maillard y disponibilidad de aminoácidos | 53 |
| 11.6.1.3. Análisis químico de aminoácidos en ingredientes sobrecalentados | 60 |
| 11.6.1.4. Tratamiento térmico y valor proteico de materias primas | 63 |
| 11.7. Formulación a un perfil de aminoácidos digestibles | 67 |
| 12.0. Harina de pescado | 69 |
| 12.1. Antecedentes | 69 |
| 12.2. Características nutrimentales de la harina de pescado | 70 |
| 12.3. Harina de pescado como fuente de proteína | 71 |
| 12.4. Mollerosina y harinas de pescado | 72 |
| JUSTIFICACIÓN | 74 |
| OBJETIVOS | 76 |
| HIPÓTESIS | 77 |
| MATERIAL Y MÉTODOS | 78 |
| 1.0. Materia prima | 78 |
| 1.1. Origen de la harina de pescado | 78 |
| 2.0. Elaboración de la harina de pescado con sardina | 78 |
| 2.1. Pre – triturado y cocción | 78 |
| 2.2. Molienda | 78 |
| 2.3. Secado | 79 |
| 2.4. Molienda final de la harina | 79 |
| 2.5. Adición de antioxidantes | 79 |
| 3.0. Manejo de la harina de pescado experimental | 81 |
| 4.0. Análisis químicos | 81 |
| 4.1. Análisis Químico Proximal | 81 |
| 4.2. Nitrógeno amoniacal | 81 |
| 4.3. Aminoácidos | 82 |
| 5.0. Experimento 1: Determinación <i>in vivo</i> de la digestibilidad verdadera de los aminoácidos, método Sibbald para energía metabolizable verdadera | 82 |
| 6.0. Experimento 2: Técnicas <i>in vitro</i> para medir la digestibilidad de la proteína en las harinas de pescado | 84 |
| 6.1. Digestibilidad de la proteína en pepsina | 84 |
| 6.1.1. Determinación de la digestibilidad con pepsina por el método de filtración | 84 |
| 6.1.2. Determinación de la digestibilidad con pepsina con el método de ninhidrina | 85 |
| 6.1.3 Determinación de proteína digestible con el método pH Stat modificado .. | 85 |
| 7.0. Fracción soluble de proteína medida con la técnica de Bradford | 86 |
| 8.0. Experimento 3: Prueba biológica de crecimiento | 87 |
| 8.1. Localización | 87 |
| 8.2. Caseta y equipo | 87 |

| | |
|-----------------------------------|-----|
| 8.3. Animales y manejo | 87 |
| 8.4. Dietas experimentales | 87 |
| 8.5. Diseño experimental | 92 |
| 8.6. Necropsias en las aves | 93 |
| RESULTADOS | 94 |
| Experimento 1 | 94 |
| Experimento 2 | 101 |
| Experimento 3 | 107 |
| DISCUSIÓN | 109 |
| Experimento 1 | 109 |
| Experimento 2 | 116 |
| Experimento 3 | 117 |
| CONCLUSIONES | 121 |
| LITERATURA CITADA | 122 |
| ÍNDICE DE CUADROS | 138 |
| ÍNDICE DE FIGURAS | 140 |

Resumen.

Potencialmente, la formulación con aminoácidos digestibles admite incorporar a dietas para aves ingredientes de menor calidad proteica, sin embargo, es necesario contar con técnicas de laboratorio que reflejen de manera expedita y confiable el nivel de calidad en ingredientes proteicos. Por ello, en el Experimento 1, se midió el efecto del tiempo de cocción en autoclave (0, 30, 60 y 90 min) en una harina de sardina, sobre su composición química y digestibilidad verdadera de aminoácidos esenciales medida con la técnica de alimentación precisa. El tiempo de cocción, concentró el contenido original de los aminoácidos y redujo linealmente ($P < 0.01$) su digestibilidad verdadera. En el Experimento 2, se compararon tres técnicas de digestibilidad *in vitro* (pepsina por filtración, pepsina con el método de ninhidrina y pH Stat) contra la técnica *in vivo* para estimar la digestibilidad de la proteína en las harinas procesadas en el autoclave. Las técnicas de pepsina por filtración ($r^2 = 0.85$) y ninhidrina ($r^2 = 0.64$) correlacionaron ($P < 0.05$) y resultaron similares ($P > 0.05$) a la digestibilidad de proteína medida *in vivo*, pero diferentes ($P > 0.05$) al método pH Stat. El método pH Stat modificado ($r^2 = 0.42$) no correlacionó ($P > 0.05$) y fue diferente ($P < 0.05$) a la medición realizada con gallos. En el tercer Experimento, 960 pollos de engorda Shaver sin sexar, se distribuyeron en un diseño completamente al azar bajo un arreglo factorial (2 X 4) a ocho dietas con seis repeticiones de 20 aves cada una. Un factor fueron dos métodos de formulación, el del NRC (aminoácidos totales) y Proteína Ideal con aminoácidos digestibles, en dietas de iniciación (0 a 21 días), crecimiento (22 a 35 días) y finalización (36 a 42 días de edad). El otro factor estudiado, fue el efecto del tiempo de cocción (experimento 1) de la harina de sardina, incorporada ésta a niveles prácticos a las dietas. No se encontró interacción del método de formulación x tiempo de cocción, ni efecto ($P > 0.05$) del tiempo de cocción. Se observó efecto ($P < 0.05$) al tipo de formulación. En el método de aminoácidos totales, la ganancia de peso no mostró diferencia ($P < 0.05$) entre el grupo testigo y los tratamientos de 30 y 90 minutos; pero si ($P < 0.05$) con el tratamiento de 60 minutos, el cual obtuvo el mejor peso. No se detectaron diferencias ($P > 0.05$) entre

formulación con aminoácidos digestibles, no hubo diferencias ($P > 0.05$) en ganancia de peso, consumo de alimento y eficiencia alimenticia entre tratamientos. En la mortalidad registrada, no se encontró diferencia ($P > 0.05$) entre los tratamientos de 0 y 30 minutos, pero ambos fueron diferentes ($P < 0.05$) a los tratamientos de 60 y 90 minutos, siendo los dos últimos diferentes ($P < 0.05$) entre sí. Comparando el efecto al tipo de formulación, se observó que la ganancia de peso, el consumo de alimento y la mortalidad fueron similares ($P > 0.05$) entre métodos de formulación. En la eficiencia alimenticia, hubo diferencia ($P < 0.05$) entre sistemas de formulación, siendo favorable para el método de aminoácidos digestibles. Las necropsias de las aves, no revelaron síntomas de erosión en mollejas en ninguno de los ocho tratamientos. Los resultados indicaron que al formular con aminoácidos digestibles se obtiene una mejor respuesta productiva en los pollos, y que la técnica de digestibilidad con pepsina por el método de filtración es un buen indicador de la digestibilidad de la proteína medida con gallos en harinas de pescado con distinto grado de calidad.

INTRODUCCIÓN.

Las aves son una especie con una elevada eficiencia en la transformación de sus dietas en productos que son utilizados como alimentos de buena calidad para el consumo humano; en lo que corresponde al pollo para carne, se siguen generando de manera constante y paulatina mejoras en sus parámetros productivos (Pro, 1991). La velocidad de crecimiento del pollo es el resultado de una intensa selección genética (Leeson, 1996a); por ello, la alimentación en las granjas modernas es un aspecto importante para sustentar y lograr la máxima expresión productiva de las aves en confinamiento, el éxito logrado hasta ahora en esta práctica, es el resultado del mejor conocimiento de las funciones que desempeñan los distintos nutrimentos, esto permite cubrir con mayor precisión las necesidades nutrimentales de los animales.

Una preocupación permanente en el uso de diferentes ingredientes alimenticios, es determinar su nivel de calidad, lo que requiere de información precisa sobre el contenido de nutrimentos y que proporción de ellos esta disponible para la nutrición del organismo. Recientemente se ha desarrollado un nuevo sistema de formulación sustentado en el concepto de proteína ideal, que tiene como objetivo optimizar los niveles de aminoácidos en la alimentación práctica de aves, con éste método de formulación, la elaboración de alimentos balanceados debe hacerse utilizando valores de aminoácidos digestibles en los aportes de los ingredientes y en los requerimientos del animal. Por ello, conocer el aporte de aminoácidos digestibles en los principales ingredientes empleados en la alimentación de aves, es información vital para la aplicación de la formulación a proteína ideal; ya que puede haber una gran variabilidad en el contenido y digestibilidad de los aminoácidos en las materias primas. Si los aminoácidos de los ingredientes tienen baja digestibilidad, existe un riesgo al utilizar la formulación con aminoácidos totales, ya que se podría obtener en la dieta una cantidad menor de algunos aminoácidos, sin lograr cubrir la cantidad demandada por el animal, deprimiendo su potencial productivo (Rademacher et al., 1999).

En México existe información científica en cuadros (Mariscal et al., 1995) con el contenido de aminoácidos digestibles de las materias primas convencionales empleadas

en la alimentación de aves y cerdos, para elaborar una base de datos confiable; que puede ser complementada con cuadros de requerimientos de aminoácidos digestibles para cubrir las necesidades del pollo de engorda (Baker, 1997); ya que a partir de ellos, se pueden formular dietas con un perfil de aminoácidos digestibles, lo que representa el fundamento de la proteína ideal.

La calidad de los ingredientes proteínicos, esta definida por la concentración total de aminoácidos y por la porción de cada uno ellos que puede ser utilizada por el animal (fracción digestible). Se asume que, del total de aminoácidos que constituyen las proteínas, entre un 80 y un 90 % de ellos se encuentra disponible en ingredientes de buena calidad (Cuarón, 1991). Sin embargo, existen diversos factores que pueden afectar la disponibilidad de los aminoácidos en los alimentos, como los relacionados con su digestibilidad (Knabe et al., 1989; Pérez et al., 1993); su isomería para el caso de los cristalinos (Czarnecki y Baker, 1982); sus interacciones metabólicas (Gatel y Fekete, 1989, Baker, 1994) y la presencia de sustancias antinutricionales (Sibbald, 1987). La digestibilidad de los aminoácidos, también es afectada por técnicas inadecuadas de procesamiento en los ingredientes, como podría ser el caso de situaciones adversas de exposición al calor, combinadas o no con condiciones de presión excesivas, lo que generalmente ocasiona mayores daños en las harinas de origen animal, ya que a diferencia de lo que ocurre con las fuentes de proteína vegetal, para obtener a las primeras, se requiere una cocción más prolongada en su elaboración (Parsons, 1990).

La formulación a Proteína Ideal permite emplear ingredientes de menor calidad en la formulación de dietas para aves (Fernández, 1996) sin detrimento en sus variables productivas, por ello se planteó en el presente trabajo evaluar el efecto de incorporar parcialmente a dietas de pollo de engorda, harina de pescado de sardina procesada en autoclave a distintos tiempos de cocción bajo dos métodos de formulación del alimento, el propuesto por el NRC (1994) en base a aminoácidos totales y el de Proteína Ideal con un perfil de aminoácidos digestibles (Baker, 1997).

REVISIÓN DE LITERATURA.

1.0 Las proteínas como nutrimento.

El término proteína se deriva del griego *proteios* (Ávila, 1986) que significa el primero o el principal, por ello son un nutrimento importante y uno de los constituyentes más abundantes del organismo. Las proteínas, son moléculas grandes constituidas por unidades más simples o aminoácidos, éstos se enlazan entre sí para formar cadenas. Conjuntamente con las grasas, los carbohidratos, las vitaminas, los minerales y el agua, las proteínas participan en diversas funciones orgánicas, siendo la conformación de estructuras una de las más importantes (Bonn et al., 1991); esto incluye a músculos, nervios, piel, tejido conectivo, órganos, células sanguíneas, enzimas, pelo y pezuñas, en donde se añade también, la tercera parte del peso seco de los huesos (Baker, 1981).

Desde el punto de vista molecular, los carbohidratos, las grasas y las proteínas tienen como característica común la de estar constituidas por elementos químicos como el carbono, hidrógeno y oxígeno; sin embargo, la estructura química de las proteínas incluye al nitrógeno; y también pueden contener hierro, azufre o fósforo (Antillón y López, 1987).

1.1 Proteína cruda.

En la actualidad la determinación de proteína en los alimentos en laboratorio, se efectúa cuantificando la cantidad de nitrógeno, la valoración está basada en ese elemento químico y no por la medición del contenido de proteína *per se*. La metodología analítica se conoce como técnica de Kjeldahl (A.O.A.C., 1990). Mide la concentración de nitrógeno liberado en la digestión química de los ingredientes, la digestión se desarrolla en una mezcla concentrada de ácido sulfúrico, en la cual el N_2 liberado se convierte en sulfato de amonio, posteriormente la mezcla resultante se enfría, se diluye en agua y finalmente se neutraliza con hidróxido de sodio, con lo que el amoniaco generado es una transformación del nitrógeno contenido en la muestra analizada (Church y Pond, 1987); el porcentaje de nitrógeno obtenido, es multiplicado por 6.25, valor que corresponde al factor de conversión que se obtiene de dividir 100 entre 16, ya que generalmente se asume, que por cada 100 g de

proteína se encuentran 16 g de nitrógeno en promedio, el valor resultante de la determinación química se conoce como proteína cruda.

La medición exclusiva del nitrógeno y su extrapolación a valores de proteína, constituye una desventaja del método de Kjeldahl, ya que la técnica no permite hacer una distinción entre la medición del nitrógeno de “proteínas verdaderas” con el aportado por compuestos nitrogenados simples como la urea, ácido úrico o amoníaco; sin embargo la principal desventaja de la técnica para la alimentación de aves, estriba en que no permite hacer una descripción cuantitativa ni cualitativa de los aminoácidos contenidos en los ingredientes.

2.0 Importancia de las proteínas en la producción avícola.

Durante años se han generado líneas comerciales de aves, con un gran avance en su productividad, lo que es consecuencia de las prácticas de alimentación, higiene, manejo y de programas de selección genética (Pro, 1991). El mejoramiento genético se ha enfocado a desarrollar el crecimiento y la eficiencia alimenticia, que dependen de la aptitud del pollo para consumir y asimilar una mayor cantidad de alimento (Jerez et al., 1991). La velocidad de crecimiento del pollo se ha desarrollado a tal grado, que hace setenta años, el pollo lograba ganar un kilogramo de peso en casi cuatro meses, mientras que en la actualidad se logra un peso similar, en la cuarta parte de tiempo (Palos et al., 1991).

Broadbent et al. (1981) mencionan que el peso de las aves ha mejorado significativamente, reportando que el crecimiento de los machos es superior al de las hembras, ya que éstas crecen al 80% de la ganancia obtenida por los machos.

El pollo de engorda moderno con 100 g de peso, tiene la capacidad genética para duplicar esa masa corporal en un período menor o igual a cinco días, por lo que la edad para su sacrificio puede ser menor a los dos meses (Baker, 1991). En las aves destinadas a la producción comercial, se siguen generando de forma paulatina y constante mejoras en sus parámetros productivos, por lo que son una especie de gran eficiencia productiva.

3.0 Utilización de la proteína dietaria por las aves.

Las proteínas son moléculas grandes y complejas que al ser consumidas por las aves deben ser procesadas en los diversos órganos del tracto digestivo, primeramente son fragmentadas por enzimas del proventrículo, luego por enzimas pancreáticas e intestinales vertidas a nivel del duodeno y finalmente reciben una ligera degradación microbiana por parte de bacterias alojadas en los sacos ciegos, cuya contribución es prácticamente imperceptible para la economía proteica del animal (Ávila, 1986).

Los procesos digestivos tienen como objetivo, permitir que las proteínas sean degradadas hasta aminoácidos, para que posteriormente éstos sean absorbidos y una vez en el torrente sanguíneo puedan utilizarse para la síntesis de proteína corporal, también es posible que los aminoácidos puedan ser desaminados y las cadenas carbonadas se utilicen como energía, en las aves se tiene como producto final de ésta última función al ácido úrico, el que es eliminado por medio de la orina (Cuca et al., 1990).

Existen varios conceptos clásicos en la nutrición animal, uno de ellos es el del valor biológico de la proteína, que determina que porción de la proteína dietaria puede ser digerida y retenida en el organismo, el valor biológico de la proteína en una dieta se puede mejorar seleccionando ingredientes con un perfil mejor de aminoácidos esenciales, el cual debe ser más cercano al demandado por cada animal de conformidad con su etapa productiva, también por medio de la combinación de varias materias primas, de manera que exista una complementación mutua entre aminoácidos que se encuentren en niveles bajos, con la de aquellos ingredientes cuyo perfil contenga niveles superiores a los requerimientos del animal, actualmente la mejor opción es la de aprovechar la oferta comercial de aminoácidos cristalinos, para cubrir los aminoácidos deficientes y reducir en lo posible los excesos de otros (Scott et al., 1973).

De manera general, se puede afirmar que dentro de los distintos sistemas de producción, de alimentos, los de origen animal, han estado caracterizados por ser una industria carente de tecnología con una evidente baja rentabilidad y considerando que su manejo se hace a

partir de recursos limitados, todavía resulta ser, en una buena parte de los casos, una forma de producción carente de racionalidad.

Lo anterior es preocupante, si consideramos que las proteínas son un recurso de limitada disponibilidad, ya que todavía existe en el mundo una escasez cuantitativa y cualitativa de fuentes proteicas, por ello se deben buscar herramientas que permitan mejorar los bajos niveles de deposición de estos nutrimentos en el tejido animal.

Los animales de granja tienen la habilidad ancestral de transformar y recuperar proteínas en forma de cortes o porciones comestibles para el hombre, en un promedio equivalente a la séptima parte de la cantidad consumida del nutrimento, además la calidad proteica de la cantidad recuperada, es ligeramente superior a la aportada en las dietas que éstos reciben (Bourgeois, 1986).

Uno de los principales objetivos de la genética aplicada a la avicultura ha sido el de mejorar continuamente la velocidad de crecimiento en los pollos, en particular del músculo esquelético, el éxito en la aplicación práctica de distintas disciplinas ha contribuido a lograr importantes mejoras en la producción; sin embargo, tal vez una de las mayores limitantes para lograr expresar el máximo potencial genético en las aves lo sea la nutrición (Scanes, 1991).

Como se mencionó antes, se ha dado una intensa selección genética, la que en el caso de las aves ha permitido el desarrollo de distintas líneas y estirpes empleadas en la producción comercial, con el objeto de confinarlas para la producción de carne o huevo, de ahí que a nivel comercial y de manera general, la polla de postura pueda iniciar la producción de huevo a las 20 semanas de edad con un peso corporal de 1.250 kg, mientras que el pollo de engorda puede alcanzar ese mismo peso en tan sólo 28 días.

Las prácticas de selección han diferenciado entre sí a las aves, en particular por su capacidad de crecimiento, siendo más evidente este contraste en los primeros días de vida del animal. Durante esa etapa, se presenta una primera fase de crecimiento acelerado, la que

en los pollos de engorda se caracteriza por un incremento de siete veces en su peso corporal, mientras que en las aves de postura, esa variable sólo se duplica en el mismo período de tiempo (Leeson y Summers, citados por Robbins y Ballew, 1984).

La deposición neta de proteína, sólo se logra cuando la tasa fraccional de síntesis supera a la tasa fraccional de degradación (Jones et al., 1986). Desde hace varias décadas, se determinó que del total de las proteínas consumidas por el pollo de engorda en crecimiento, éstas se retienen en una eficiencia del 64 %, mientras que en la gallina de postura en crecimiento, la eficiencia en la utilización de la proteína es menor, con un 55 % de retención en las mismas, en lo referente a los procesos de incorporación de aminoácidos durante la deposición de proteínas y síntesis de tejidos del huevo, estos mecanismos parecen desarrollarse con una eficiencia del 85 % (Scott et al., 1973).

En un trabajo publicado por Jones et al. (1986), se destacan las diferencias entre las aves especializadas para la producción de carne y huevo, en lo que corresponde a las tasas de acopio de proteína a nivel del músculo de la pechuga (*Pectoralis major*) y del músculo de los muslos, reportando una diferencia entre la tasa fraccional de síntesis y degradación de proteína a nivel del músculo de la pechuga, de la que se deduce que el 16.9 % de la misma se retiene en las aves seleccionadas para la producción de huevo, mientras que en las líneas pesadas, se determinó una eficiencia de 45 % en la retención de proteína en esa masa muscular. Los mismos autores mencionan que, en lo referente a los músculos de los muslos de las piernas del pollo, la tasa de proteína retenida también fue numéricamente superior en el pollo de engorda con 41.8 % contra un 37.5 % de la gallina de postura.

Es importante incrementar los esfuerzos que permitan optimizar la economía proteica del animal, por ello, se debe buscar que el balance de aminoácidos en la proteína dietética sea el más parecido al contenido en los tejidos del animal, pero además, durante la degradación de la proteína del alimento en el tubo digestivo hasta aminoácidos, debe haber una mayor similitud entre la velocidad de liberación de aminoácidos hacia el torrente sanguíneo, con el momento de la síntesis de proteína a nivel ribosomal.

Cuando se diseñan dietas con un patrón cercano al balance perfecto de aminoácidos, se incrementa la eficiencia en la retención de nitrógeno, este es resultado del mayor acopio de proteína, ello se ha demostrado experimentalmente mediante la aplicación correcta de herramientas nutricionales, ya que la retención del nutrimento en cuestión ha sido de hasta un 76 % en pollos en crecimiento (Baker, 1991).

Hoy día se considera que las especies no rumiantes especializadas en la producción de carne, se caracterizan por una relativa alta eficiencia productiva. Como se mencionó antes los pollos de engorda pueden retener en su cuerpo dos terceras partes de las proteínas consumidas, y dependiendo de que porciones del organismo se consideren para el cálculo, entre 36 y 40 % de la proteína ingerida por el animal puede ser consumida por el hombre (Bourgeois y Le Roux, 1986).

La economía proteica sigue siendo un tema importante, ya que a pesar de los avances logrados hasta ahora en los sistemas de producción animal, todavía se presenta el problema de mejorar la retención de ese nutrimento por parte de los animales; como ejemplo de ello se puede mencionar lo que ocurre con los sistemas de producción porcina; ya que se ha determinado que del total de la proteína alimenticia que es consumida por el cerdo, el 33 % de la misma se deposita en los tejidos del cuerpo del animal y una porción cercana al 20 %, puede ser recuperada en los distintos cortes comestibles de la canal (Cuarón, 1991).

El mismo autor (Cuarón, 1991) destaca además, que estos procesos demandan un elevado costo energético, el que está ligado a los mecanismos de deposición de proteínas, ya que se requieren alrededor de 72 megacalorías por cada kilogramo de proteína recuperada en la canal del cerdo alimentado con una dieta comercial convencional de 16 % de proteína, ya que la biosíntesis de las proteínas requiere de la hidrólisis de al menos 4 enlaces fosfato por cada aminoácido incorporado (sin considerar el costo energético por la participación de los ácidos nucleicos que colaboran en el evento), lo que equivale a un consumo aproximado de 850 calorías de energía metabolizable de la dieta por cada gramo de proteína sintetizada, señalando que la discordancia de este último valor con el gasto energético señalado originalmente, se debe al monto de aminoácidos aportados al evento que se incorporan por

medio de la tasa fraccional de síntesis por medio de los mecanismos de recambio de proteína.

Actualmente se sabe que, mientras más elevado es el potencial productivo de las aves, existe una mayor dependencia de ellas sobre la calidad de los alimentos que reciben. A pesar de las mejoras logradas, todavía se reconoce que existe un desfase entre los avances generados por la genética, con respecto a los logros obtenidos en el campo de la nutrición animal, ya que experimentalmente se ha demostrado que en algunos animales alimentados con dietas purificadas, es posible que éstos incrementen de manera importante sus rendimientos, esto cuando su respuesta productiva es comparada con la generada por animales explotados comercialmente (Baker, 1991; Scanes, 1991). Esto demuestra la permanente necesidad de mejorar todavía más los sistemas de alimentación animal que se aplican en la actualidad.

4.0 Calidad proteica.

En su mayoría las proteínas son sustancias orgánicas constituidas generalmente por macromoléculas, que se subdividen en otros componentes más simples denominados aminoácidos, de los cuales se conoce a 20 de ellos con importancia desde un punto de vista nutricional en la alimentación animal, las diferentes fuentes de proteínas que existen en la naturaleza se distinguen unas de otras por la concentración de aminoácidos que las conforman, esa composición distingue cualitativamente a unas proteínas de otras.

Los requerimientos de ciertos aminoácidos en la dieta por parte de una especie animal, en particular de aquellos aminoácidos que no pueden ser sintetizados por su organismo son muy específicos y dado que no pueden ser sustituidos por otros, son considerados por ello como esenciales y debido a que, ningún animal es capaz de almacenar aminoácidos para cubrir sus demandas posteriores, estos deben recibir en su alimentación diaria una concentración cuantitativa y cualitativa de los aminoácidos que su actividad fisiológica demanda.

Los aminoácidos son la unidad básica de las proteínas, la estructura general de éstos compuestos considera de manera convencional, la integración de dos grupos, uno básico o grupo amino (- NH₂) y otro ácido o carboxilo (- COOH) (Maynard et al., 1981).

Cada aminoácido posee una estructura que lo distingue de los otros, ya que desempeña funciones específicas que no pueden ser reemplazadas, por lo que su deficiencia puede tener efectos detrimentales para la construcción de una cadena proteica en particular, por ello, la síntesis de una cadena proteica en particular esta regida por la ley de “todo o nada”, es decir, la generación ribosomal de una molécula proteica en particular exige la presencia de cada uno de los aminoácidos que se incorporan, para considerar su síntesis como un evento terminado.

La incapacidad de un animal en desarrollar la máxima tasa de crecimiento ante la deficiencia de uno o más aminoácidos esenciales, refleja la carencia de mecanismos en el organismo que permitan sintetizar cantidades adecuadas de proteína, ya que los tejidos no pueden adaptarse a esas condiciones, por lo que no existe la posibilidad de inducir la síntesis de proteínas corporales “deficientes” o con faltantes en uno o varios aminoácidos, como resultado de esto simplemente se reduce el ritmo de construcción de proteínas e incluso puede detenerse el crecimiento y en casos de deficiencia extrema puede haber la demolición de proteínas “menos importantes” y ser desviadas para sustentar las funciones corporales que mantienen la vida (Ganong, 1992).

4.1 Aminoácidos esenciales y no esenciales.

Desde un punto de vista nutritivo y productivo, se considera que no sólo la concentración de las proteínas contenidas en un alimento es importante, sino también el perfil de aminoácidos que las conforman, del grupo de aminoácidos con valor nutricional para las aves, se asume que diez de ellos no pueden ser sintetizados a partir de ningún otro aminoácido o metabolito intermediario, o bien puede ocurrir que su síntesis se desarrolle a una velocidad inadecuada para satisfacer un determinado ritmo productivo o de crecimiento.

La limitada capacidad del organismo animal para la producción de aminoácidos esenciales, se explica por la participación cuantitativa de distintas enzimas generadas a partir de compuestos anfibiólicos en organismos superiores, mismas que están involucradas en procesos de biosíntesis de aminoácidos esenciales y no esenciales, en donde se destaca la participación de 59 enzimas que son requeridas para la construcción de aminoácidos esenciales, lo opuesto sucede con relación a la menor proporción de enzimas involucradas en los procesos de síntesis de aminoácidos con menor importancia nutricional, denominados como no esenciales, ya que se requieren 17 enzimas para desarrollar su síntesis (Murray et al., 1988); lo que explica claramente la dificultad fisiológica para la biosíntesis de los aminoácidos esenciales por parte de organismos superiores; a menos que exista la participación de bacterias durante la síntesis de los mismos como ocurre en el tracto digestivo de los rumiantes (Shimada, 1984).

Dentro del grupo de los aminoácidos esenciales para la nutrición animal se incluyen, a la metionina, lisina, treonina, triptófano, arginina, histidina, isoleucina, leucina, valina y fenilalanina (Cuca et al., 1990).

De acuerdo con lo antes señalado, los aminoácidos considerados como esenciales o indispensables, deben ser complementados o incorporados en la dieta, ya sea a partir de fuentes naturales de proteína, o empleando aquellos que en la actualidad son ofertados comercialmente para este fin.

También, existe otro pequeño grupo de aminoácidos que pueden ser sintetizados por el organismo de las aves, sin embargo son requeridos a un nivel tal, que el aporte vía biosíntesis no ocurre a una velocidad suficiente, de manera que se puedan cubrir correctamente las demandas de ellos de conformidad con el ritmo productivo de las aves productoras de carne (Baker, 1991). Por ello, la glicina, serina y prolina, son considerados como aminoácidos esenciales para el pollo de engorda, durante las primeras etapas de su crecimiento (Austic y Scott, 1991).

Así mismo, otros aminoácidos en ocasiones son incluidos en la literatura en el grupo de no esenciales, sin embargo, estos aminoácidos son clasificados por algunos autores (Ávila, 1986; Buttery y D'Mello, 1994), como aminoácidos semiesenciales, ya que ante una deficiencia de los mismos, existen mecanismos en el organismo que permiten la degradación de un aminoácido esencial, que es utilizado como materia prima para la biosíntesis de otro aminoácido semiesencial.

El hecho de que un aminoácido semiesencial haya sido generado a partir de otro aminoácido esencial, puede inducir de manera indirecta, la deficiencia del aminoácido esencial, con consecuencias similares a las de una deficiencia dietética del esencial, por esta razón, durante la formulación, no sólo se debe incorporar una cantidad suficiente que permita cubrir el requerimiento del aminoácido esencial, si no también se debe incluir una cantidad adicional del mismo que permita satisfacer la demanda del semiesencial.

En el grupo de aminoácidos semiesenciales se encuentran la cistina y la tirosina (D'Mello, 1994).

Por otro lado, dentro del conjunto de aminoácidos no esenciales se incluye a aquellos que pueden ser sintetizados por el organismo y a pesar de su relativa "menor" importancia nutricional, se requieren para la actividad metabólica normal ya que aportan una cantidad mínima de nitrógeno para asegurar la continuidad de los procesos de recambio de proteína, además de la síntesis de los mismos. De ello se deriva el hecho, de que no existe de manera explícita un requerimiento de proteína *per se*, pero debe incorporarse suficiente proteína cruda de reserva en el alimento para los fines antes mencionados (Waldroup, 1992).

También se debe resaltar que, la alimentación con aminoácidos no esenciales, no debe descuidarse, ya que ante una deficiencia de los mismos, se podría generar la degradación de aminoácidos esenciales para mantener ese monto mínimo de nitrógeno para los procesos ya mencionados.

5.0 Características de los alimentos proteicos.

El NRC (1976) define como insumos proteicos a aquellos ingredientes que en su composición química aportan más de un 20 % de proteína. En este grupo de alimentos, se incluye a subproductos de origen animal que se obtienen de actividades de sacrificio de los rastros, además de esquilmos de la industria que procesa alimentos de origen marino para el consumo humano y otros subproductos de origen lácteo.

También pertenecen al grupo de insumos proteicos, los ingredientes de origen vegetal que se obtienen como subproductos de la industria aceitera, la extracción puede hacerse con ayuda de solventes orgánicos (NRC, 1998) o empleando medios mecánicos como la prensa hidráulica o prensa de tornillo, o a partir de la combinación de ambos (Scott et al., 1973), los subproductos que son procesados de esta manera se identifican comúnmente en nuestro país como pastas.

Del mismo modo, otros ingredientes que también pertenecen a este grupo de materias primas, se obtienen empleando técnicas distintas a las antes descritas, como es el caso del gluten de maíz, que se obtiene de la industria extractiva del almidón.

Generalmente, el aporte de aminoácidos esenciales en las fuentes de proteína de origen animal es superior al de las proteínas de origen vegetal. Sin embargo, debe tomarse en cuenta que durante el procesamiento de una buena parte de los ingredientes proteicos se emplean tratamientos térmicos o de presión que en ocasiones son excesivos, por lo que existen mayores posibilidades de generarse daños mayores por efecto del calentamiento en los aminoácidos de las harinas proteicas de origen animal; esto se debe a que comparativamente y a diferencia de lo que ocurre durante la elaboración comercial de los insumos proteínicos de origen vegetal, para obtener a las fuentes de proteína de origen animal se requieren temperaturas más altas y tiempos de cocción más prolongados (Parsons, 1993).

6.0 Aminoácidos cristalinos.

De acuerdo con información reciente (Best y Gill, 1998), en el ámbito mundial la producción comercial de aminoácidos cristalinos empleados en la industria de alimentos balanceados para animales, ha llegado a una cantidad aproximada de 700,000 toneladas métricas anuales, el 90 % de la producción corresponde a la venta de metionina y lisina, la expectativa es que la demanda seguirá en ascenso, ya que se estima un crecimiento anual en las ventas de aminoácidos cristalinos de 3 % en el continente europeo, y un porcentaje mayor para el mercado de América Latina, mientras que en el continente asiático las expectativas de crecimiento son del 4 al 7 %.

En nuestro país se pueden obtener para su uso en la industria de alimentos balanceados, las formas cristalinas de metionina y lisina, ya que estos dos insumos son los principales aminoácidos limitantes en dietas para aves y cerdos, elaboradas con sorgo o maíz como fuentes de energía y pasta de soya como fuente de proteína. Recientemente, se ha incorporado de manera creciente a la industria de alimentos el uso de treonina (Cuca, 1990; Ávila, 1992).

Con la tecnología actual para la formulación científica de alimentos para aves y cerdos, al utilizar aminoácidos cristalinos los nutriólogos pueden eliminar antiguas prácticas de elaboración de dietas en donde se combinaban y complementaban mutuamente, aminoácidos aportados con la mezcla de ingredientes convencionales, para intentar con ello, satisfacer en la medida de lo posible los requerimientos de aminoácidos limitantes para aves y cerdos, tiempos en los que se privilegiaba el satisfacer las demandas de estos nutrimentos formulando las dietas a proteína cruda, en lugar de cubrir las deficiencias de los aminoácidos limitantes con sus formas cristalinas como puede hacerse en la actualidad.

Esto tuvo como resultado, la producción de dietas rígidas con un aporte de varios aminoácidos en un nivel muy superior al señalado como requerimiento para esas especies animales, por ello, con el inicio de la producción comercial de los aminoácidos esenciales antes mencionados, los nutriólogos pueden optar por la formulación de raciones más

flexibles que pueden aportar niveles de aminoácidos más cercanos a las necesidades de los animales.

Tampoco es recomendable, que la incorporación de aminoácidos a los alimentos balanceados, sea una herramienta que cubra únicamente las demandas de aminoácidos limitantes, ya que la formulación debe intentar mejorar el equilibrio entre los aminoácidos dietéticos, eliminando excesos y cubriendo con la cantidad mínima las deficiencias. Así mismo, existe la posibilidad de que con el uso de aminoácidos cristalinos se pueda promover el uso de insumos alimenticios alternos para su incorporación en la alimentación animal.

En la actualidad se ofertan en el mercado metionina, lisina, treonina y triptófano; así mismo, existe la posibilidad de que en el mediano plazo se pueda incluir arginina en la alimentación práctica de las granjas modernas.

7.0 Terminología empleada en la alimentación con aminoácidos.

Con el desarrollo de dietas purificadas en el ámbito experimental y la creciente incorporación de aminoácidos cristalinos a alimentos comerciales de aves y cerdos, se ha logrado formular dietas con criterios más estrictos, esto ha permitido un mayor control en la cantidad y calidad de los aminoácidos dietéticos, pero también generó una nueva terminología con aplicación en la nutrición y alimentación animal, entre la que se encuentran nuevos conceptos que permiten explicar el papel de los aminoácidos, por lo que términos como el de desequilibrio, antagonismo (Fernández, 1996a; Baker, 1997), toxicidad, limitancia y disponibilidad (D'Melo, 1994; Sibbald, 1987) se suman al concepto clásico de deficiencia, por ello se han propuesto las siguientes definiciones para los conceptos antes mencionados.

7.1 Deficiencia.

Ocurre cuando el consumo de uno o varios aminoácidos esenciales en el alimento, está por debajo del requerimiento del animal (Antillón y López, 1987).

7.2 Desequilibrio.

Puede presentarse en dietas bajas en proteína e induce un cambio negativo en la respuesta productiva de un animal, lo que se debe a una modificación en el requerimiento del primer aminoácido limitante, el efecto negativo del exceso de otros aminoácidos, puede ser aliviado por la suplementación del primer aminoácido limitante (Bonn, 1991; Harper citado por D'Melo, 1994).

7.3 Antagonismo.

El antagonismo se refiere a interacciones que existen entre aminoácidos que compiten entre sí por los mismos sistemas de transporte o por vías metabólicas, por presentar similitudes en su estructura química (aminoácidos de cadena ramificada), con lo que se genera una menor respuesta en la productividad del animal, que puede ser recuperada por la modificación del aporte de uno de los aminoácidos antagonistas (Bonn, 1991; D'Melo, 1994); como otro ejemplo se puede señalar el típico antagonismo entre arginina y lisina, ya que el exceso de lisina induce un aumento en las demandas de arginina, provocado por un incremento de la actividad de la arginasa renal (Cuca, 1990).

7.4 Toxicidad.

Efecto detrimental en las variables productivas de un animal, debido al exceso de uno o más aminoácidos en el alimento (Antillón y López, 1987; D'Melo, 1994).

7.5 Disponibilidad.

El concepto de disponibilidad es distinto al de digestibilidad y se presenta, cuando el uso de los aminoácidos para la síntesis de proteína en los tejidos del animal, se ve alterado por factores externos que afectan al alimento antes de ser ingerido y que son ajenos a la digestión y absorción de los nutrimentos (Antillón y López, 1987). Éste es un concepto abstracto que puede ser definido pero no cuantificado de manera directa (Sibbald, 1987).

7.6 Aminoácido limitante.

Es el aminoácido que por su concentración marginal en algunos insumos alimenticios restringe el crecimiento de un animal en una determinada etapa de su ciclo de producción (Bonn, 1991).

En la actualidad la suplementación de alimentos balanceados con aminoácidos cristalinos, ha abierto la posibilidad de incorporar alimentos de menor calidad proteica y mejorar la deposición del nutrimento en los tejidos de los animales (Cuarón, 1994). Para ello se requiere como un primer paso el obtener información sobre el aporte de aminoácidos en los alimentos con el objetivo de contrastar el perfil de aminoácidos aportados por cada ingrediente o combinación de ingredientes, con el perfil de los aminoácidos requeridos por las aves o los cerdos para cada etapa productiva en particular, esto permite identificar a los aminoácidos limitantes y cubrir las deficiencias.

8.0 Interacciones entre aminoácidos.

El conocimiento de las propiedades nutricionales de los aminoácidos esenciales es importante, ya que a partir de su papel metabólico e interactivo con otros aminoácidos, se planea su suplementación cuando el aporte de ellos en los ingredientes se encuentre en niveles marginales con respecto a las necesidades nutricionales específicas de cada etapa productiva de un animal.

Las principales interacciones que ocurren entre aminoácidos se mencionan a continuación.

8.1 Metionina - cistina.

La necesidad de metionina sólo se satisface con metionina, la interacción entre aminoácidos azufrados ocurre ante una deficiencia de cistina, que puede cubrirse con cistina o metionina (NRC, 1994). La síntesis de cistina a partir de metionina, se desarrolla por una ruta de trans-sulfuración, la cual no es reversible (Buttery y D'Mello, 1994).

8.2 Fenilalanina - tirosina.

El requerimiento de fenilalanina se cubre únicamente con fenilalanina, pero la demanda de tirosina se puede satisfacer con tirosina o fenilalanina (NRC, 1994). La hidroxilación de la fenilalanina vía fenilalanina hidroxilasa rinde tirosina (Baker, 1994); esta reacción es irreversible por lo que la tirosina no puede contribuir a cubrir el requerimiento de fenilalanina (Rodwell, 1988).

8.3 Glicina - serina.

Existe una interacción en ambos sentidos entre glicina y serina, en donde la demanda de uno de ellos se puede satisfacer con el otro (NRC, 1994). La formación de glicina a partir de serina es por medio de la reacción de la serinhidroximetiltransferasa, esto ocurre vía la interconversión de H₄-folato a metil-H₄-folato, la cual es una reacción libremente reversible (Rodwell, 1988).

9.0 Ventajas del uso de aminoácidos cristalinos.

Al incorporar aminoácidos cristalinos al alimento, se pueden satisfacer de manera económica las necesidades de aminoácidos limitantes (Bonn, 1991). Se reducen los costos de formulación de dietas, ante la opción de incluir ingredientes proteicos alternos y con la posibilidad de emplear ingredientes proteicos de menor calidad (Fernández, 1996). Se obtiene un equilibrio mejor entre los aminoácidos contenidos en una dieta, al reducir excesos y eliminar o reducir las deficiencias, con la posibilidad de disminuir el contenido de proteína dietaria (Edmonds y Baker, 1987).

Se genera un mejor control de la presencia de problemas digestivos en animales jóvenes por niveles excesivos de proteína en el alimento (Bonn, 1991). Optimización del uso de la energía ante un mejor balance proteico (Cuarón, 1991). Se obtiene un mejor desempeño de animales explotados en zonas climáticas en condiciones de temperaturas ambientales altas, además de que existe un consenso, sobre la completa disponibilidad de los aminoácidos cristalinos para el organismo animal (Bonn, 1991).

La reducción de la concentración de proteína cruda, reduce el impacto ambiental por la disminución en la excreción de nitrógeno en zonas de confinamiento con altas concentraciones de animales (Kerr, 1995). También la incorporación de aminoácidos al alimento induce mejoras en las variables productivas de los animales, permite acortar los ciclos de producción, con la reducción de costos y mayor deposición de carne magra, lo que reduce la generación de subproductos o esquilmos de origen animal, como ocurre en el caso particular de las grasas (Kerr, 1993).

10.0 Dietas bajas en proteína.

La formulación científica de alimentos balanceados para cubrir las demandas de aminoácidos, debe tener como objetivo el de acercar al perfil de aminoácidos aportados en las dietas con el nivel de cada aminoácido recomendado por los cuadros de requerimientos de los animales. Se puede avanzar hacia ese objetivo por diferentes caminos, por ejemplo seleccionando ingredientes con un perfil de aminoácidos esenciales que cubran la demanda de un mayor número de aminoácidos, lo que seguramente repercutirá en dietas elevadas en proteína; o bien, por medio de la combinación de materias primas, con la complementación mutua entre aquellos aminoácidos que se encuentren en niveles bajos en algunas de ellas con la de aquellos ingredientes cuyo perfil contenga niveles superiores a los requerimientos del animal. Otra opción es, aprovechar los aminoácidos cristalinos para ser incorporados a los alimentos balanceados; práctica que se inició en México al final de los años setenta (Cuarón, 1994).

Esa oferta comercial de aminoácidos cristalinos, se inició con la producción de metionina sintética con la finalidad de introducirla en la producción de fórmulas empleadas en la alimentación avícola, actualmente se ofrecen en la industria de alimentos balanceados compuestos sintéticos con actividad biológica análoga a la de los aminoácidos contenidos en las materias primas naturales. Distintas compañías han contribuido a la producción de aminoácidos, por lo que cada día existen mayores posibilidades de incrementar la incorporación de tales compuestos a la formulación de alimentos en México. Con ello, se abren grandes posibilidades en lo que respecta al uso de fuentes alternas de proteína (Terrazas y Casas, 1994); emplear ingredientes de baja calidad que anteriormente no era

posible considerar en la alimentación avícola (Fernández et al., 1995); optimizar los niveles de proteína en las dietas (Montaño y Terrazas, 2000); y considerar la necesidad de formular con un mejor balance de aminoácidos.

La incorporación de aminoácidos cristalinos (metionina y lisina) en dietas para aves y cerdos, ha simplificado su elaboración en términos de los ingredientes participantes y el grado de precisión deseado, logrando una mejor calidad proteica en ellas (Jensen, 1991). La calidad de los alimentos proteínicos depende de la proporción de aminoácidos esenciales que los constituyen; en las dietas convencionales en las que se emplea pasta de soya como ingrediente proteico y al maíz o sorgo como fuentes de energía, se logra un perfil de aminoácidos específico, sin embargo existe la posibilidad de que ese perfil sea mejorado con fuentes alternas de proteína y/o aminoácidos cristalinos (Cuarón et al., 1984; Smith y Waldroup, 1988).

También, se pueden evitar los problemas de antiguos sistemas de alimentación, que se sustentaban en dietas para satisfacer la demanda de proteína total; ya que ese tipo de prácticas, genera dietas con exceso de proteína o con desequilibrios en los aminoácidos (Fernández, 1996). Generalmente, el uso de aminoácidos cristalinos se ha enfocado a satisfacer las demandas de aminoácidos limitantes, siendo el orden de limitancia distinto en las dietas para aves (Sugahara et al., 1968) y cerdos (Burgoon et al., 1992).

Al respecto Cuarón (1991) señaló, que cuando se añaden aminoácidos a partir de ingredientes proteicos al alimento con la única idea de cubrir demandas de aminoácidos limitantes, se puede originar un exceso en la concentración de otros, lo que puede inducir una baja eficiencia productiva y para evitarla, se debe buscar una mayor aproximación entre el perfil de los aminoácidos absorbidos en el tracto digestivo con los de las proteínas que sintetiza el animal.

En el caso de los cerdos, cuando se formula para cubrir el primer aminoácido limitante (lisina) en dietas de maíz y pasta de soya, se pueden tener excesos de arginina, fenilalanina, histidina, leucina y tirosina (Edmonds y Baker, 1987); en ese mismo sentido

Cuarón (1991), ejemplifica claramente este tipo de desequilibrios, al comparar distintos perfiles de aminoácidos en dietas balanceadas con distintos criterios, en donde se muestra que las dietas prácticas para cerdos con 16 % de proteína (sorgo y pasta de soya) aportan niveles superiores a los del requerimiento en los aminoácidos leucina, isoleucina, fenilalanina, tirosina y valina.

En otra publicación (Edmons y Baker, 1987a), se investigó con cerdos jóvenes la adición excesiva de dos fuentes de lisina (L-lisina HCl y acetato de L-lisina), para medir el papel antagonico de la lisina sobre la arginina. Para ello, se suplementó una cantidad de lisina dos veces mayor al nivel recomendado para la etapa productiva de los cerdos, lo que no tuvo efecto alguno sobre la ganancia de peso ni en la eficiencia en el uso del alimento de esos animales. En otro experimento del mismo trabajo la adición del aminoácido en una cantidad tres y cuatro veces mayor al requerimiento, tuvo un efecto negativo en la ganancia de peso de los animales, pero ese resultado fue atribuido más a un desequilibrio entre los aminoácidos dietarios que a un antagonismo de lisina con arginina.

La opción de utilizar aminoácidos en forma cristalina ha permitido la reducción de la concentración de proteína alimenticia (Jensen, 1991). Se ha reconocido la conveniencia de reducir hasta en dos puntos porcentuales el nivel de proteína en dietas comerciales para aves y cerdos, recomendación que fue incluida desde hace tiempo en algunas normas de alimentación, siempre y cuando se garantice la concentración del primer y/o el segundo aminoácido(s) limitante(s) (Ramírez, 1987). Esa posibilidad ha sido demostrada en pruebas experimentales con dietas de maíz y pasta de soya, como antecedente de ello, están los trabajos realizados con cerdos por Baker et al. (1975) y los de Easter y Baker (1980).

Quizás uno de los experimentos más contundentes que ilustra el efecto del desequilibrio de aminoácidos y el beneficio de optimizar la proteína, lo sea el trabajo clásico de nutrición animal que fue publicado por Baker y Easter (1976), el cual demostró la importancia de privilegiar en los sistemas de alimentación modernos, el criterio de calidad proteica por encima del de cantidad; en ese experimento se evaluó, el efecto sobre la respuesta productiva de pollos de engorda al alimentarlos con una dieta deficiente en lisina, y estimar

que ocurría, con la incorporación del aminoácido deficiente a partir de una fuente sintética, o empleando un insumo proteico. Para ello, se formuló una dieta control con grano de maíz y pasta de soya (dieta 1), diseñada para obtener un óptimo crecimiento en los pollos desde su nacimiento hasta los trece días de edad.

La intención del experimento fue la de comparar la velocidad de crecimiento en esos pollos, con la de otro grupo de aves que recibieron pasta de ajonjolí como fuente alterna de proteína, ingrediente que se caracteriza por ser deficiente en lisina (dieta 2). En ambas dietas se ofreció 20 % de proteína cruda, la diferencia entre ellas fue el aporte de lisina total, ya que los animales que consumieron pasta de soya recibieron 1.10 % de lisina en la ración, mientras que el grupo de aves alimentadas con pasta de ajonjolí, consumieron la mitad de lisina consumida por el grupo control. La deficiencia de lisina en la dieta 2, generó un menor crecimiento en los pollos, su ganancia de peso fue la tercera parte de la obtenida por los pollos que recibieron la dieta 1.

Por otro lado, a partir de una tercera dieta (incorporando ajonjolí), suplementada con lisina cristalina, para obtener concentraciones similares de proteína (20 %) y lisina (1.10 %) a las de la dieta 1, se pudo acelerar al triple el crecimiento en los pollos con respecto a los alimentados con la dieta 2. Por último, cuando la demanda (1.10 %) de lisina fue cubierta liberando la cantidad de pasta de ajonjolí incorporada al alimento (dieta 4), sin considerar para ello la cantidad de proteína (38 %) generada en la formulación final, en esta ocasión, la dieta indujo el 59 % de la ganancia de peso de los pollos testigos, con lo cual quedó claro el efecto negativo del exceso de proteína en los animales

La tendencia actual es la de reducir todavía más la concentración de proteína, ante la disponibilidad de un mayor número de aminoácidos que podrán ser empleados en la industria de alimentos balanceados. Esto se ha demostrado en distintos experimentos, en donde se ha podido igualar el nivel productivo de animales alimentados con dietas altas en proteína, con el de animales que han recibido hasta cuatro puntos porcentuales menos del nutrimento en su alimento. Tal es el caso de la prueba desarrollada con cerdos en crecimiento (Russell et al., 1983), en donde se compararon cinco dietas a base de maíz y

pasta de soya + lisina, para medir el efecto de la incorporación de tres aminoácidos cristalinos; para ello una dieta control (16 % de proteína), fue contrastada con otras tres dietas bajas en proteína (12 %), a las que se les adicionó triptófano, triptófano + treonina, y triptófano + treonina + metionina. Con ello se determinó que, la suplementación paulatina de uno de los tres aminoácidos a las dietas bajas en proteína, mejoró las variables productivas de los cerdos, en donde además se pudo inducir una ganancia de peso ligeramente superior a la de los cerdos alimentados con la dieta con mayor concentración de proteína, mientras que la conversión alimenticia fue similar en ambas dietas.

En otro trabajo experimental (Montaño y Terrazas, 2000), se comparó la productividad de codornices japonesas alimentadas con una dieta de 16 % de proteína, contra una dieta formulada el nivel del nutrimento (20 %) recomendado por el NRC (1994), para la formulación, se incorporó a las dietas las formas cristalinas de lisina, metionina y treonina. De acuerdo con los resultados de la prueba, no se detectaron diferencias entre los tratamientos en las variables productivas de las codornices, es decir, en el peso corporal, número y peso de los huevos producidos; en cambio, si se detectó diferencia en el consumo de alimento, el cual fue mayor con la dieta baja en proteína.

En 1992, Han et al. realizaron varios experimentos para determinar si era factible reducir el nivel de proteína en dietas para pollos de engorda en dos etapas de su ciclo productivo, durante la etapa de iniciación (0-3 semanas de edad) se utilizó una dieta con un 19 % de proteína, lo cual significó reducir en cuatro puntos porcentuales el nivel sugerido por el NRC, la dieta baja en proteína ubicó como aminoácidos limitantes a la metionina y a la lisina, en menor grado arginina, valina y treonina, con ello demostraron que la respuesta productiva de los pollos fue similar con ambas dietas experimentales. En lo que corresponde a la etapa de crecimiento de los pollos (3 a 6 semanas de edad) se evaluó el nivel de proteína (20 %) recomendado por el NRC, contra la respuesta de otras aves que recibieron una dieta con 16 % del nutrimento, al final no encontraron diferencias en la productividad de los pollos entre tratamientos.

Sin embargo, no todas las evidencias experimentales indican resultados alentadores cuando se han utilizado dietas con niveles restrictivos de proteína, como lo demuestran las

evaluaciones realizadas en dietas de maíz y pasta de soya, lo cual supone que, se esté llegando al límite biológico de los animales, ya que se ha fracasado al intentar optimizar el nivel de proteína dietaria y compensarla de otras formas que no sea a partir de los ingredientes tradicionales, en específico cuando se han pretendido sustituir más de cuatro puntos porcentuales de proteína en el alimento (Philippe et al., 1992; Cervantes y Cromwell, 1992), o bien cuando se han obtenido resultados con efectos detrimentales en los cerdos (Cervantes et al., 1992) con rendimientos menores a los mostrados por cerdos alimentados con niveles de proteína más cercanos a los marcados por el NRC.

Al igual que en los experimentos anteriores, en otro trabajo tampoco se pudo igualar la respuesta de cerdos alimentados con dietas bajas en proteína, con la de los animales alimentados según el nivel sugerido por el NRC en 1988, a pesar de que se incorporó a las dietas bajas en proteína, aquellos elementos nutritivos aportados por la mayor cantidad de pasta de soya en las dietas formuladas con más proteína (Cervantes y Cromwell, 1997).

En particular, el informe de Cervantes et al. (1997) demostró que, con una menor concentración de proteína dietética, aparentemente se presenta una reducción en la digestibilidad de los aminoácidos en los ingredientes empleados para alimentar cerdos; así mismo, a pesar de que se cuidó la correcta suplementación a la dieta restringida en proteína del mismo nivel de minerales y vitaminas que aportó la pasta de soya en la dieta que fue formulada con mayor cantidad de proteína, no se pudo obtener la respuesta generada en los animales del grupo control.

Por otra parte, otra ventaja de la formulación de dietas con una menor concentración de proteína, es la de repercutir favorablemente al ambiente en donde los animales están confinados, debido a la generación de excretas con menor concentración de nitrógeno y también una menor cantidad de amoníaco en el interior de las granjas (Kerr, 1993); en ese mismo sentido, se ha reportado en cerdos que, por cada punto porcentual de reducción en la cantidad de proteína cruda dietaria, la excreción de nitrógeno en las heces disminuye en promedio un 8.4 %, lo que representa un ambiente menos cargado de amoníaco y con esto, potencialmente se puede inducir un 15 % de ganancia adicional en su crecimiento (Kerr, 1995).

11.0 Proteína Ideal.

11.1 Antecedentes.

En años anteriores los nutriólogos formulaban alimentos balanceados con criterios que consideraban la concentración total de proteína en las dietas (Fernández, 1996; Southern, 1991), en lugar de formular para mejorar perfil de aminoácidos, meta hacia la que se pudo avanzar con el uso de aminoácidos cristalinos. A pesar de que la oferta comercial de aminoácidos permitió lograr avances en las prácticas de alimentación, se emplearon métodos de formulación sustentados en requerimientos de aminoácidos totales, lo que a pesar de ser una forma de alimentación más acertada; representó una metodología que requería todavía niveles elevados de aminoácidos dietéticos (Southern, 1991); ya que se incorporaban en los cuadros de requerimientos, demandas de aminoácidos por arriba de la necesidad real, considerando para ello, un margen de seguridad para compensar la variabilidad en la calidad de las materias primas.

Por el contrario, la formulación con aminoácidos digeribles permite un control mayor en la producción de aves para carne, ya que teóricamente establece las condiciones en donde no deben existir ni excesos ni deficiencias de aminoácidos esenciales en el alimento.

Esto es importante, ya que se ha reportado (Kerr, 1995) que del total (100 %) del nitrógeno ingerido por los animales, alrededor del 85 % del mismo puede ser digerido, pero de esa fracción el 80 % se encuentra disponible para la actividad metabólica del animal, mientras que la mitad (50 %) de la cantidad que fue ingerida puede ser retenida en los tejidos del organismo, a partir de los valores antes indicados, se ha determinado que alrededor del 15 % del nitrógeno consumido es eliminado en las heces, y un 35 % del nitrógeno no utilizado en el metabolismo se excreta por vía urinaria.

Sin embargo, a pesar de la importancia de la posible baja calidad proteica en algunos ingredientes por factores relacionados con la digestibilidad de sus aminoácidos; quizás esas pérdidas no sean tan dramáticas, como las pérdidas metabólicas generadas por desequilibrios entre aminoácidos de una dieta, lo que en realidad representa un elemento de mayor

preocupación, ya que sólo por este tipo de circunstancias, se pudiera perder por vía urinaria hasta el 60 % del nitrógeno ingerido (Cuarón, 1993); esto no se puede evitar si no se conoce con precisión que cantidad de cada aminoácido llega al anabolismo del animal.

11.2 Formulación con el Sistema NRC vs Proteína Ideal.

Como antecedente del avance en la nutrición proteica hasta llegar al sistema de Proteína Ideal, se muestra en los Cuadros 1, 2 y 3 los requerimientos de aminoácidos esenciales del pollo de engorda en sus tres etapas productivas, en tres publicaciones del NRC (1977, 1984 y 1994). Se observa la evolución del perfil de aminoácidos totales establecidas para el pollo, éste se contrasta con el perfil de aminoácidos digestibles de la proteína ideal (Baker, 1997).

11.2.1 Etapa de Iniciación.

En lo referente a la etapa de iniciación (Cuadro 1), al comparar los requerimientos de aminoácidos de la publicación de 1977 (columna 1) con los de 1984 (columna 2), se detecta que de un total de 15 aminoácidos, sólo la demanda treonina es modificada en la edición del año 84, ya que ésta se incrementa en un 6.25 % con respecto a la publicación anterior, ese valor permaneció constante en las subsiguientes publicaciones y coincide exactamente con la proporción de lisina propuesta en el perfil actual de la proteína ideal.

En las publicaciones de los años de 1984 (columna 4) y 1994 (columna 5), los aminoácidos que permanecieron sin modificaciones en la última edición con respecto a la anterior fueron la histidina, metionina, isoleucina, fenilalanina + tirosina y treonina, también se observa un decremento en el requerimiento propuesto para los siguientes aminoácidos: lisina (8.30 %), arginina (13.2 %), glicina + serina (16.7 %), leucina (11.11 %), metionina + cistina (3.22 %) y triptófano (13.0 %).

Por el contrario, los aminoácidos que presentaron incrementos en su nivel fueron la prolina, debido a que en las otras publicaciones (1977, 1984) no fue considerada, y la valina con un aumento del 9.75 %. Antes de establecer una comparación entre el perfil de aminoácidos totales contra el perfil de aminoácidos digestibles propuesto por el sistema de proteína ideal, debe hacerse una comparación entre el sistema tradicional más reciente

de formulación de alimentos para el pollo de engorda propuesto por el NRC (1994), ya que representa un importante punto de referencia para contrastar a ambos sistemas.

También, se debe reconocer que en opinión de varios investigadores (Baker y Han, 1994; Baker, 1997) existe un problema importante de resolver, ya que en el cuadro más reciente del NRC (1994) sobre las necesidades nutrimentales para el pollo de engorda, indica para la etapa de iniciación (0 a 21 días de edad) un requerimiento de lisina total de 1.10 %, que es un nivel bajo, por lo cual esos mismos autores han propuesto modificar el valor original propuesto por el NRC, por otro mayor de 1.20 %, esa diferencia representó un incremento aceptado del 9.10 %, por ser el nivel anterior, inferior al recomendado para el óptimo rendimiento del pollo. Los comentarios anteriores son pertinentes, ya que la concentración de lisina es tomada como un punto de referencia para fijar la proporción del resto de los aminoácidos esenciales, al formular dietas con aminoácidos digestibles.

Esto se muestra en la información del Cuadro 1, para ello se debe tomar en cuenta los datos de las columnas 7, 8 y 9; en dos de ellas (7 y 8), se muestra el perfil de aminoácidos totales sugeridos por el NRC (1994) como porcentaje de lisina, con la diferencia de que en la columna 7, se tomó el valor del requerimiento de lisina (1.10 %) según lo recomendado en la publicación original; en la columna 8, se rescata la sugerencia hecha anteriormente de fijar en 1.20 % el requerimiento del aminoácido en cuestión. En la columna 9, se muestra el perfil de aminoácidos que fue promediado de las demandas establecidas para hembras y machos de acuerdo a las sugerencias del sistema de alimentación de proteína ideal propuesto por Baker (1997), esto en virtud de que el NRC establece sus recomendaciones para parvadas de pollos de engorda sin sexar.

Al desarrollar los cálculos respectivos y a partir de los resultados obtenidos, se puede observar que cuando se toma como referencia al nivel de lisina de 1.10 % propuesto por el NRC (1994), la proporción de aminoácidos generado coincide únicamente con el perfil de proteína ideal, en la cantidad del aminoácido leucina; sin embargo, cuando los cálculos se realizan considerando el requerimiento mayor de lisina (1.20 %), se detecta de manera general que los valores obtenidos presentan una proporción en el perfil de aminoácidos

totales que es más cercana al perfil de aminoácidos digestibles, con ello se presenta una similitud entre los dos sistemas de formulación en el nivel de isoleucina y treonina; mientras que la arginina, metionina + cistina, fenilalanina + tirosina y triptófano se acercan al balance ideal; en cambio, histidina, leucina y valina quedan por debajo de la proporción sugerida por el perfil ideal de aminoácidos digestibles.

CUADRO 1.

PERFIL COMPARATIVO DE AMINOÁCIDOS REQUERIDOS POR EL POLLO DE ENGORDA SEGÚN EL NRC Y PROTEÍNA IDEAL

ETAPA DE INICIACIÓN

| | Columna | | | | | | | | |
|---------------------|--------------|--------------|-------|--------------|--------------|-------|---|---|--|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| | NRC, 1977 | NRC, 1984 | Dif. | NRC, 1984 | NRC, 1994 | Dif. | NRC ^a , 1994, % Lis, 1.10 | NRC ^a , 1994, % Lis, 1.20 | PI ^b , 1997, % Lis, 1.12 |
| Aminoácido | | | | | | | | | |
| Lisina | 1.20 | 1.20 | 0 | 1.20 | 1.10 | -0.10 | 100 | 100 | 100 |
| Arginina | 1.44 | 1.44 | 0 | 1.44 | 1.25 | -0.19 | 114 | 104 | 105 |
| Glicina + Serina | 1.50 | 1.50 | 0 | 1.50 | 1.25 | -0.25 | 114 | 104 | — |
| Histidina | 0.35 | 0.35 | 0 | 0.35 | 0.35 | 0 | 32 | 29 | 35 |
| Isoleucina | 0.80 | 0.80 | 0 | 0.80 | 0.80 | 0 | 73 | 67 | 67 |
| Leucina | 1.35 | 1.35 | 0 | 1.35 | 1.20 | -0.15 | 109 | 100 | 109 |
| Metionina | 0.50 | 0.50 | 0 | 0.50 | 0.50 | 0 | 45 | 42 | 36 |
| Metionina + cistina | 0.93 | 0.93 | 0 | 0.93 | 0.90 | -0.03 | 82 | 75 | 72 |
| Fenilalanina | 0.72 | 0.72 | 0 | 0.72 | 0.72 | 0 | 65 | 60 | — |
| Fen + Tirosina | 1.34 | 1.34 | 0 | 1.34 | 1.34 | 0 | 122 | 112 | 105 |
| Prolina | — | — | — | — | 0.60 | +0.60 | 54 | 50 | — |
| Treonina | 0.75 | 0.80 | +0.05 | 0.80 | 0.80 | 0 | 73 | 67 | 67 |
| Triptófano | 0.23 | 0.23 | 0 | 0.23 | 0.20 | -0.03 | 18 | 17 | 16 |
| Valina | 0.82 | 0.82 | 0 | 0.82 | 0.90 | +0.08 | 82 | 75 | 77 |

^a Porcentajes de aminoácidos con respecto a la proporción de la lisina.

^b Proteína ideal.

Dif. = Diferencia en el requerimiento del aminoácido entre las dos publicaciones que se indican.

0 = Sin cambios en el requerimiento.

+ = Incremento en el requerimiento.

- = Decremento en el requerimiento.

11.2.2 Etapa de crecimiento.

La información para la etapa de crecimiento se presenta en el Cuadro 2, al comparar los requerimientos de aminoácidos propuesto en la edición del año de 1977 (columna 1) contra la del año de 1984 (columna 2), se detecta que del total de aminoácidos listados, 12 de ellos no fueron modificados en su valor original de la edición más reciente, por otra parte, los requerimientos de treonina y triptófano se vieron aumentados con respecto a la edición más antigua, con un 12.2 % y un 10.0 % respectivamente.

De la comparación entre el perfil de aminoácidos de los años de 1984 (columna 4) y 1994 (columna 5), se establece que permanecen sin modificaciones los aminoácidos lisina, metionina + cistina, treonina y triptófano, en cambio se observa un decremento en el requerimiento de arginina (8.33 %) y leucina (7.63 %). Así mismo, se presentaron incrementos en los niveles de los aminoácidos glicina + serina (12.3 %), histidina (6.25 %), isoleucina (4.11 %), fenilalanina + tirosina (4.10 %) y valina (12.2 %). Se observa además en la edición más reciente, que el requerimiento de prolina aparece por primera vez (0.55 %), ya que ese aminoácido no fue considerado en las publicaciones anteriores (1977, 1984).

Al comparar el perfil de aminoácidos (columna 7) propuesto por el NRC (1994) con el perfil de la proteína ideal (columna 8), encontramos que se presenta en el perfil del NRC con respecto a la proporción ideal de lisina excesos en los siguientes aminoácidos: arginina, isoleucina, fenilalanina + tirosina, treonina, triptófano y valina; sólo se detecta una coincidencia en el perfil del NRC con respecto al perfil de proteína ideal, en la cantidad del aminoácido leucina; mientras que la histidina y metionina + cistina están en una menor proporción con respecto a su relación ideal con lisina.

CUADRO 2.

**PERFIL COMPARATIVO DE AMINOÁCIDOS REQUERIDOS POR EL POLLO DE
ENGORDA SEGÚN NRC Y PROTEÍNA IDEAL**

ETAPA DE CRECIMIENTO

| Aminoácido | Columna | | | | | | | |
|-------------------------|---------|------|-------|------|------|-------|-----------------------------------|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | 1977 | 1984 | Dif. | 1984 | 1994 | Dif. | 1994 ^a Lis 1.00% | PI ^b 1997 Lis 0.89% |
| Lisina | 1.00 | 1.00 | 0 | 1.00 | 1.00 | 0 | 100 | 100 |
| Arginina | 1.20 | 1.20 | 0 | 1.20 | 1.10 | -0.10 | 110 | 108 |
| Glicina + serina | 1.00 | 1.00 | 0 | 1.00 | 1.14 | +0.14 | 114 | - |
| Histidina | 0.30 | 0.30 | 0 | 0.30 | 0.32 | +0.02 | 32 | 35 |
| Isoleucina | 0.70 | 0.70 | 0 | 0.70 | 0.73 | +0.03 | 73 | 69 |
| Leucina | 1.18 | 1.18 | 0 | 1.18 | 1.09 | -0.09 | 109 | 109 |
| Metionina | 0.38 | 0.38 | 0 | 0.38 | 0.38 | 0 | 38 | 37 |
| Metionina + cistina | 0.72 | 0.72 | 0 | 0.72 | 0.72 | 0 | 72 | 75 |
| Fenilalanina | 0.63 | 0.63 | 0 | 0.63 | 0.65 | +0.02 | 65 | - |
| Fenilalanina + tirosina | 1.17 | 1.17 | 0 | 1.17 | 1.22 | +0.05 | 122 | 105 |
| Prolina | --- | --- | --- | --- | 0.55 | 0.55 | 55 | - |
| Treonina | 0.65 | 0.74 | +0.09 | 0.74 | 0.74 | 0 | 74 | 70 |
| Triptófano | 0.20 | 0.18 | -0.02 | 0.18 | 0.18 | 0 | 18 | 17 |
| Valina | 0.72 | 0.72 | 0 | 0.72 | 0.82 | +0.10 | 82 | 80 |

^a Porcentajes de aminoácidos con respecto a la proporción de la lisina.

^b Proteína ideal.

Dif. = Diferencia entre el requerimiento de las dos publicaciones que se indican.

0 = Sin cambios en el requerimiento.

+ = Incremento en el requerimiento.

- = Decremento en el requerimiento.

11.2.3 Etapa de finalización.

En el Cuadro 3 se vierte la información correspondiente a la etapa de finalización del ciclo productivo de pollo de engorda, al contrastar los requerimientos de aminoácidos publicados en el año de 1977 (columna 1) contra los presentados en el año de 1984 (columna 2), se observa que la treonina es el único aminoácido en el que se hace un cambio, con un incremento del 17.6 % con respecto al nivel original.

Al contrastar la información de las ediciones de los años 1984 y 1994 (columnas 4 y 5), se aprecia que las demandas de lisina, arginina, metionina + cistina y treonina no fueron modificadas en la más reciente edición.

Los cambios que representaron decrementos en los requerimientos, se realizaron en leucina (7.00 %) y triptófano (5.88 %).

Las modificaciones más importantes en la edición de 1994 que rindieron incrementos sustanciales en las demandas de aminoácidos, ocurrieron en glicina + serina con un 27.8 % de aumento, y valina con 11.43 %; otros aminoácidos que se incrementaron fueron: histidina (3.70 %), isoleucina (3.22 %) y fenilalanina + tirosina (3.85 %). Nuevamente se incluye en esta etapa el requerimiento de prolina (0.55 %), el cual no apareció en las ediciones anteriores (1977, 1984).

Al realizar una comparación entre el perfil de aminoácidos digestibles (columna 7) contra el de aminoácidos totales (columna 8) del NRC (1994), se detectan excesos en el NRC con respecto a la proporción de lisina en los siguientes aminoácidos: arginina, isoleucina, fenilalanina + tirosina, treonina, triptófano y valina; sólo se presenta una similitud entre ambos perfiles en el aminoácido leucina; mientras que los niveles de histidina y metionina + cistina se encuentran en una proporción deficiente con respecto a al perfil ideal.

CUADRO 3.

**PERFIL COMPARATIVO DE AMINOÁCIDOS REQUERIDOS POR EL POLLO DE
ENGORDA SEGÚN EL NRC Y PROTEÍNA IDEAL**

| Aminoácido | ETAPA DE FINALIZACIÓN | | | | | | | |
|-------------------------|-----------------------|------|--------|------|------|--------|----------------------------|--------------------------|
| | Columna | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | 1977 | 1984 | Dif. | 1984 | 1994 | Dif. | 1994 ^a 0.85% | PI ^b 0.76% |
| Lisina | 0.85 | 0.85 | 0 | 0.85 | 0.85 | 0 | 100 | 100 |
| Arginina | 1.00 | 1.00 | 0 | 1.00 | 1.00 | 0 | 118 | 108 |
| Glicina + serina | 0.70 | 0.70 | 0 | 0.70 | 0.97 | + 0.27 | 114 | --- |
| Histidina | 0.26 | 0.26 | 0 | 0.26 | 0.27 | + 0.01 | 32 | 35 |
| Isoleucina | 0.60 | 0.60 | 0 | 0.60 | 0.62 | + 0.02 | 73 | 69 |
| Leucina | 1.00 | 1.00 | 0 | 1.00 | 0.93 | - 0.07 | 109 | 109 |
| Metionina | 0.32 | 0.32 | 0 | 0.32 | 0.32 | 0 | 38 | 37 |
| Metionina + cistina | 0.60 | 0.60 | 0 | 0.60 | 0.60 | 0 | 71 | 75 |
| Fenilalanina | 0.54 | 0.54 | 0 | 0.54 | 0.56 | + 0.02 | 66 | --- |
| Fenilalanina + tirosina | 1.00 | 1.00 | 0 | 1.00 | 1.04 | + 0.04 | 122 | 105 |
| Prolina | --- | --- | --- | --- | 0.46 | + 0.46 | 54 | --- |
| Treonina | 0.56 | 0.68 | + 0.12 | 0.68 | 0.68 | 0 | 80 | 70 |
| Triptófano | 0.17 | 0.17 | 0 | 0.17 | 0.16 | - 0.01 | 19 | 17 |
| Valina | 0.62 | 0.62 | 0 | 0.62 | 0.70 | + 0.08 | 82 | 80 |

^a Porcentajes de aminoácidos con respecto a la proporción de la lisina.

^b Proteína ideal.

Dif. = Diferencia entre el requerimiento de las dos publicaciones que se indican.

0 = Sin cambios en el requerimiento.

+ = Incremento en el requerimiento.

- = Decremento en el requerimiento.

11.3 El concepto de Proteína Ideal.

Los primeros intentos de desarrollar un sistema formulación que dieron origen al sistema de formulación de proteína ideal, fueron planteados por primera vez en 1981 por el ARC en Inglaterra, al establecer recomendaciones proteicas para cerdos, ya que se determinó una cantidad específica de aminoácidos esenciales que se deberían de incorporar a las dietas en una proporción constante con respecto a una concentración fija de lisina, aminoácido que fue tomado como referencia para calcular la concentración del resto de los aminoácidos (Kerr, 1994).

Convencionalmente los trabajos de investigación para determinar niveles óptimos de incorporación de aminoácidos a dietas, conocidos típicamente como experimentos de dosis respuesta, se realizan con niveles fijos de todos los aminoácidos en el alimento, con la excepción del aminoácido a evaluar, del cual se ofrecen cantidades equidistantes entre sí (titulación), con el objeto de determinar su nivel óptimo de incorporación por la mejor respuesta productiva del animal; sin embargo, esta metodología contraviene lo sugerido por Mitchell, quien recomendó el incremento o decremento en el nivel de los aminoácidos (molde) en la misma proporción del nivel del aminoácido a evaluar, de modo que se mantuviera la misma relación entre las concentraciones de unos aminoácidos con otros (Cuarón, 1991), eso representa el fundamento para la formulación con proteína ideal.

A pesar de que el planteamiento original propuesto por el ARC representó en su momento un importante avance científico, se consideró que en esa primera propuesta, el perfil ideal de los aminoácidos requeridos por el cerdo para optimizar el acopio de proteína, se hicieron sobrestimaciones en las concentraciones ideales de lisina y subestimaciones en otros aminoácidos de metabolismo más rápido como es el caso de aminoácidos azufrados, además de treonina y triptófano (Baker, 1995), por las diferencias en la velocidad de recambio de proteína entre los distintos órganos del animal.

En teoría el concepto de la proteína ideal, pretende desarrollar fórmulas alimenticias que satisfagan el requerimiento del mayor número posible de aminoácidos digestibles propuesto en un molde constante, lo que se antoja ambicioso y su aplicación exacta bajo las

condiciones actuales parece imposible, sin embargo es factible aproximarse a él, por medio de la combinación de fuentes de proteína distintas a las convencionales y la potencial incorporación de un mayor número de aminoácidos cristalinos disponibles en el mercado, de tal suerte que se pueda reducir el exceso de aminoácidos esenciales en el alimento (Fowler, 1990).

La aplicación absoluta del concepto de proteína ideal en la formulación de dietas prácticas parece una utopía, ya que todavía no es posible utilizar en su totalidad el perfil de aminoácidos digestibles recomendados para el pollo de engorda, pero es factible incrementar la eficiencia del uso de proteína dietaria, por medio del control de factores que pueden incidir en su desperdicio, o bien por medio de la aplicación de criterios que generen cálculos más precisos en los procesos de formulación, con ello los sistemas de alimentación para aves tenderán a incrementar su eficiencia (Fernández, 1996a).

La formulación de alimentos con un perfil de aminoácidos digestibles, representa el fundamento teórico de la proteína ideal, la que es considerada como una técnica científicamente confiable y de mayor exactitud para mejorar la formulación proteica de dietas para la producción de carne con aves (Kerr, 1995).

El patrón ideal de aminoácidos cambia en la etapa de crecimiento con respecto a la de iniciación (mayor edad y peso), ya que se modifica la proporción de metionina, cistina, treonina y triptófano con respecto al aminoácido de referencia, dada la mayor exigencia de esos aminoácidos para las funciones de mantenimiento, tampoco se debe soslayar la importancia de determinar de manera precisa las necesidades de lisina para una especie animal en particular, en una etapa de producción específica y bajo determinadas condiciones de manejo, ya que para calcular los requerimientos del resto de los aminoácidos se usa como referencia al aminoácido mencionado (Baker, 1997).

A pesar de que desde hace años (Scott et al., 1973), se enfatizó la importancia de considerar para evaluar la calidad de los ingredientes proteicos, no sólo la digestibilidad de los aminoácidos, si no también la disponibilidad de los mismos, no es hasta principios de la

presente década que se publican de manera más amplia resultados de investigación referente a los aportes de aminoácidos digestibles de los principales ingredientes convencionales utilizados en la alimentación de aves y cerdos (Parsons, 1991; Southern, 1991); esto ocurrió más tarde en nuestro país, en donde ya se cuenta con cuadros (Mariscal et al., 1995) con información escrupulosamente valorada por prestigiados científicos mexicanos y por lo tanto confiable, sobre el aporte de aminoácidos totales y digestibles en los principales ingredientes para la alimentación de cerdos y pollos de engorda para América Latina.

En ese tiempo los nutriólogos contaron con esa importante base de datos sobre los aportes de aminoácidos digestibles en las principales materias primas utilizadas en la alimentación de especies no rumiantes, pero éstos no pudieron desarrollar en la práctica la formulación aplicando los criterios de la proteína ideal, en virtud de que no se contaba con los cuadros sobre los requerimientos de aminoácidos digestibles para la producción de carne con aves y cerdos, esto ocurrió hasta que se publicaron los primeros informes (Baker y Chung, 1992), estos se han refinando hasta llegar a los requerimientos propuestos en los cuadros más recientes para pollos (Baker, 1997) y cerdos (NRC, 1998).

De acuerdo a las bases de datos antes mencionadas (Mariscal et al., 1995), en donde se presentan los aportes de aminoácidos digestibles de los insumos convencionales empleados en la alimentación de cerdos y de pollos, se observa que la digestibilidad de los aminoácidos es un factor de calidad que no se debe descuidar, ya que se detecta que las pérdidas de aminoácidos por la vía de digestibilidad representan valores en los coeficientes de digestibilidad que fluctúan entre los 10 y 25 puntos porcentuales, lo cual está especificado en cada aminoácido por separado, pero que en suma representan importantes pérdidas de proteína en los ingredientes.

La aplicación del concepto de proteína ideal requiere de una base de datos con el aporte de aminoácidos digestibles en los ingredientes, y cuadros con los requerimientos de aminoácidos digestibles del pollo de engorda, eso contrasta con el sistema de formulación que se sustenta en un aporte total de aminoácidos en los ingredientes (tal y como son analizados en el laboratorio) y también el requerimiento del animal se expresa en

aminoácidos totales, esto tiene como desventaja que se puede fallar en la respuesta productiva del animal, en particular cuando se utilizan materias primas que aportan aminoácidos de baja digestibilidad, por ello el NRC utiliza un margen de seguridad en el requerimiento de aminoácidos totales, al recomendar un nivel más elevado de cada aminoácido cuando se le compara con lo planteado por la proteína ideal.

11.4 Lisina como aminoácido de referencia.

Como antecedente del desarrollo del concepto de la proteína ideal se vertieron las ideas sugeridas por Mitchell, quien predijo que al conocer con exactitud la composición de las proteínas por sintetizar en el organismo animal, solamente se requeriría conocer la necesidad de un aminoácido base, él sugirió considerar a la lisina (Cuarón, 1991), la que podría tomarse como punto referencia, ya que el requerimiento del resto de los otros aminoácidos debía calcularse de manera que se mantuvieran bajo una misma proporción (Baker, 1997), estos conceptos representan las bases que dieron origen al sistema de proteína ideal.

La formulación a proteína ideal considera a la lisina como el aminoácido de referencia para calcular la relación o proporción del resto de los aminoácidos esenciales, ese aminoácido fue seleccionado por las siguientes razones: Los análisis químicos de lisina son directos y mucho más sencillos, cuando se les compara por ejemplo, con la determinación de aminoácidos azufrados y triptófano; existe una cantidad importante de información publicada relacionada con los requerimientos de lisina para el pollo de engorda, se reconoce que el papel metabólico de la lisina que es absorbida, se circunscribe a funciones anabólicas, ya que participa en la deposición de proteína corporal (Baker y Han, 1994; Baker, 1997).

Existen otras ventajas de contar con un aminoácido de referencia, ya que se indica que con esa herramienta se simplifica la formulación de alimentos balanceados, así mismo se ha reportado que no se cuenta con información precisa sobre las demandas de otros aminoácidos por parte de los animales, mientras que en lo que corresponde a la lisina existe una extensa cantidad de trabajos de investigación que ofrecen datos confiables sobre las necesidades de ese aminoácido tanto en aves como en cerdos (Baker, 1997).

Por su parte Zaviezo (1997), menciona otras razones adicionales para considerar a la lisina como el aminoácido de referencia en la formulación a proteína ideal, señalando que existe una oferta comercial de lisina cristalina en forma accesible y económica para la industria de alimentos balanceados, además de que la lisina es un aminoácido limitante en dietas convencionales para aves (después de los aminoácidos azufrados).

11.5 Digestibilidad de aminoácidos.

El alimento consumido, que después de terminar su tránsito por el tracto digestivo no aparece en las heces, representa la porción digestible del mismo, la intensidad con que se da este fenómeno se conoce como digestibilidad. El proceso se inicia con la reducción mecánica de los alimentos, para su posterior hidrólisis química, la cual los transforma a compuestos más sencillos de manera que puedan ser absorbidos en forma de nutrimentos, iones o moléculas por las células del duodeno en el intestino delgado.

Durante la digestión las proteínas por ser moléculas complejas, son hidrolizadas por enzimas digestivas a unidades más simples o aminoácidos, que son absorbidos de la luz del tracto digestivo, así pasan al torrente sanguíneo para ser transportados a los sitios en donde ocurre la síntesis de proteína corporal (Ávila, 1986).

11.5.1 Medición de digestibilidad.

La digestibilidad de un nutrimento en particular se mide por diferencia entre su concentración en el alimento consumido con respecto al residuo del mismo que aparece en las heces, sin embargo, para estimar la digestibilidad de proteínas o aminoácidos se debe distinguir que porción del material que acompaña a las heces no constituye parte del alimento *per se*; ya que existen secreciones (endógenas) propias del tracto digestivo que contienen proteína entre las que podemos encontrar a la saliva, jugo gástrico, jugo pancreático, células de descamación del epitelio de la mucosa intestinal, microorganismos que habitan el tubo digestivo y mucina (Scott et al., 1973). Recientemente se ha realizado una distinción más puntual entre el material presente en el tubo digestivo, ya que se ha clasificado como componentes metabólicos fecales a los residuos biliares, secreciones enzimáticas, células de descamación y moco, o material que proviene del organismo; así

como fracción endógena fecal, constituida por microorganismos del tracto digestivo y secreciones propias de los mismos (Sibbald, 1987); este aspecto es de particular interés en la medición de digestibilidad de aminoácidos con cerdos (Mariscal, 1997).

De ahí la importancia de corregir la concentración de aminoácidos en las excretas, lo que se logra al descontar de éstas las fracciones de material endógeno. En aminoácidos, cuando se establece la diferencia entre la cantidad que desaparece del tracto digestivo y la excretada en las heces, se obtiene el coeficiente de digestibilidad (Mc Nab, 1994). A diferencia de la digestibilidad aparente, la digestibilidad verdadera mide con mayor precisión que porción del alimento desaparece del tracto digestivo; en la determinación de la calidad proteica de insumos procesados térmicamente, es importante considerar que parte de los aminoácidos pueden estar dañados por calor, pero ser digeridos y absorbidos, y pasar al torrente sanguíneo, sin embargo estos aminoácidos pueden estar indisponibles para el crecimiento celular, por lo que deben ser recuperados en la orina, de lo contrario se puede sobrestimar la digestibilidad verdadera de los aminoácidos (Fernández, 1996).

En 1979 Sibbald, propuso la técnica para estimar la digestibilidad de aminoácidos en materias primas consumidas por las aves, este tipo de ensayos requieren poco tiempo y el consumo de alimento puede ser controlado al depositar en el buche una cantidad conocida del mismo. Se recomienda emplear gallos adultos de estirpes ligeras (Sibbald, 1984), aunque también se ha mencionado a la edad de las aves como un posible factor a considerar (Zuprizal y Chagneau, 1992); sin embargo existe una opinión distinta, ya que se ha estimado que la edad de las aves no es un elemento que genere diferencias en la digestibilidad de los aminoácidos observada (Fernández et al., 1995).

11.6 Disponibilidad de aminoácidos.

El alto costo de los ingredientes proteicos, ha incrementado los esfuerzos por obtener formas más económicas de proveer proteínas en las dietas, una forma de lograrlo es reducir la concentración de aminoácidos que se encuentren en una cantidad mayor a la requerida, eso no es posible si no se conoce la cantidad de aminoácidos digeribles en los alimentos (Southern, 1991). Por ello, el conocimiento de la concentración total de aminoácidos en los

ingredientes es un primer paso importante, pero es insuficiente, debido a que regularmente la fracción de cada aminoácido presente en el alimento que realmente puede ser digerida por los animales es menor a la encontrada en las determinaciones analíticas del contenido total de aminoácidos. Como punto de partida, debe destacarse que existe una diferenciación entre los conceptos de digestibilidad y disponibilidad, ya que bajo ciertas condiciones en experimentos con aves ambos pueden ser considerados como sinónimos (Parsons, 1991); pero de manera estricta para el caso específico de los cerdos no lo son (Cuarón, 1991).

En los procesos digestivos, una proteína debe ser hidrolizada hasta aminoácidos, para su posterior absorción (Sibbald, 1987); después de esos procesos los nutrientes mencionados pueden estar o no disponibles (Parsons, 1991); lo que finalmente ocurre cuando la fracción proteica que es absorbida desde el tracto digestivo pasa hacia el torrente sanguíneo y puede ser utilizada vía metabólica en las diferentes actividades fisiológicas del organismo (Cave, 1988).

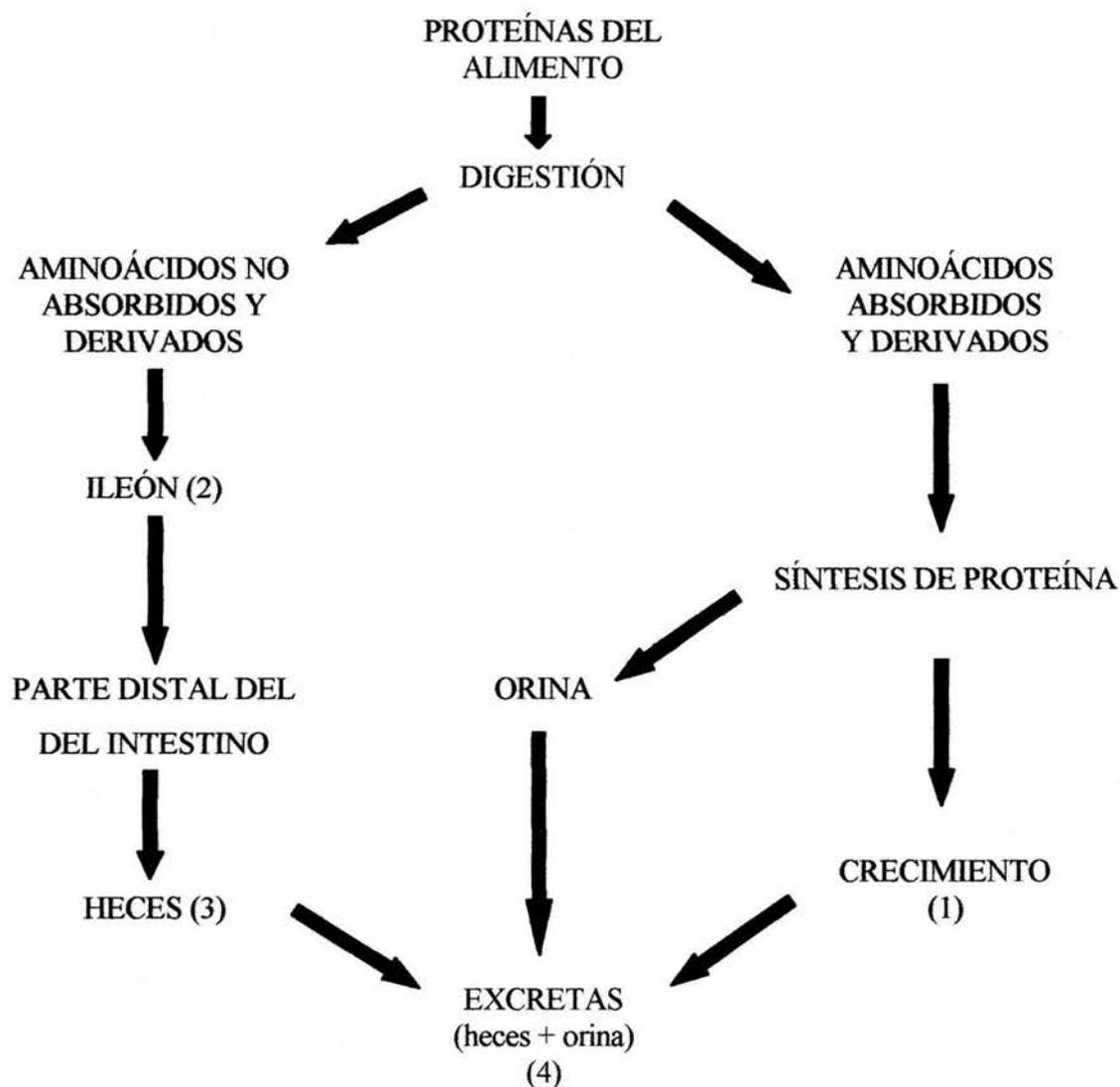
Debido a que el uso de los valores de aminoácidos disponibles en alimentos tiene un gran potencial en la formulación de dietas para aves (Waldroup, 1992; Castaldo, 1994; Dudley-Cash, 1994), el conocimiento del grado de calidad de las fuentes de proteína producidas en nuestro país y el valor de la disponibilidad de sus aminoácidos, es una actividad importante para optimizar la utilización de estos insumos en la alimentación animal.

La estimación de la digestibilidad de los aminoácidos con cerdos, se debe realizar a nivel ileal, en ese sitio los aminoácidos todavía están relativamente intactos, y se reduce el posible impacto por contaminación de las excretas con aminoácidos provenientes de la actividad microbiana que coloniza el tracto digestivo posterior (Kerr, 1995).

En la Figura 1, se especifican los sitios del tracto digestivo o sus secreciones en donde teóricamente podrían hacerse las mediciones de los dos conceptos antes mencionados.

FIGURA 1.

**FLUJO DE PROTEÍNAS Y UTILIZACIÓN DE
AMINOÁCIDOS EN LOS SITIOS EN DONDE SE MIDE
LA DIGESTIBILIDAD Y DISPONIBILIDAD**



- 1 Sitio en donde se mide la disponibilidad de aminoácidos.
- 2 Sitio en donde se mide la digestibilidad de aminoácidos (cerdos).
- 3 Sitio en donde se mide la digestibilidad fecal de los aminoácidos.
- 4 Sitio en donde se mide la digestibilidad en excretas (aves).

11.6.1 Factores que influyen en la disponibilidad de los aminoácidos.

Existen varios factores que pueden afectar la disponibilidad de los aminoácidos en los alimentos, como los relacionados con su digestibilidad (Knabe et al., 1989; Pérez et al., 1993), su isomería (Czarnecki y Baker, 1982; Schreiner y Jones, 1987) y los implicados con interrelaciones metabólicas (Tews et al., 1980; Czarnecki et al., 1985; Gatel y Fekete, 1989). También, la presencia de sustancias antinutricionales y condiciones adversas de procesamiento (presión y/o calor) pueden afectar negativamente la disponibilidad de aminoácidos en los ingredientes (Parsons, 1990).

11.6.1.1 Factores antinutricionales.

11.6.1.1.1 Inhibidores de proteasas.

Algunas materias primas pueden mejorar su valor nutritivo si son procesadas correctamente con calor antes de ser incorporadas a dietas para aves y cerdos. Un ejemplo de esto es lo que ocurre con leguminosas (Brenes et al., 1993); como la pasta de soya, ya que sus semillas y los subproductos crudos de éstas contienen factores detrimentales para la productividad de los animales (Waldroup et al., 1985). Los factores antinutricionales adversos para el crecimiento que están presentes en el grano crudo de la soya son compuestos termolábiles que se conocen como inhibidores de tripsina, los que se caracterizan por inhibir parcialmente la actividad proteolítica de la enzima tripsina, también se ha reportado que otras sustancias antinutricionales se encuentran presentes en la pasta, como las hemaglutininas, que al igual que los anteriores pueden reducir el crecimiento animal (Araba y Dale, 1990a, 1990b; Cook et al., 1988; Cuca et al., 1990). Así mismo, se ha reportado que en pastas de soya crudas puede encontrarse presente un inhibidor de la vitamina A (McNaughton y Reece, 1980).

Se puede señalar que el efecto benéfico de tratar con calor a la pasta de soya, y su insuficiente o excesivo tiempo de cocción, posiblemente sean de los aspectos con más amplia difusión en el campo de la nutrición. Ya que del grupo de ingredientes proteicos empleados en la alimentación animal y por su contenido de aminoácidos esenciales (Bustillo et al., 1991), la pasta ha sido considerada como una excelente fuente de proteína en la

alimentación de aves y cerdos (Veltmann et al., 1986); siendo deficiente en metionina y cistina cuando es empleada en la alimentación avícola (Parsons et al., 1981).

El papel de los inhibidores de tripsina es preocupante, debido a la importante relación entre la tripsina y otras proteasas pancreáticas, ya que ocurre un mecanismo de activación del tripsinógeno para ser convertido a tripsina, por medio de la intervención de una enteropeptidasa cuando el jugo pancreático es vertido a la luz intestinal a la altura del duodeno, este primer evento es acompañado por una reacción en cascada generada por la presencia de tripsina, la que activa a su vez al quimotripsinógeno, proelastasa, procarboxipeptidasas, con lo que se completa la generación de las siguientes enzimas: quimotripsina, elastasas y carboxipeptidasas, respectivamente (Ganong, 1992).

Debido a los problemas inducidos por factores antinutricionales presentes en las pastas de soya, se ha trabajado también en la creación de nuevas variedades de soya, las que han sido desarrolladas con menores concentraciones de inhibidores de Kunitz que las encontradas en las pastas de soyas tradicionales, con una concentración de 0.1 mg por g de materia seca de los inhibidores de proteasas, contra 5 mg por g de materia seca en las pastas convencionales, de acuerdo a resultados obtenidos en cerdos, se pudo demostrar que las variedades de soya bajas en inhibidores son más favorables para el desempeño productivo de los animales (Cook et al., 1988).

En experimentos con pollos de engorda (Herkelman et al., 1993), la alimentación de los mismos con pastas de soya sin calentar de alta y baja concentración de inhibidores de tripsina (22.1 mg/g contra 9.6 mg/g respectivamente) demostró por medio del crecimiento de los animales, la superioridad nutrimental de las nuevas variedades de soya, así mismo, con un tratamiento térmico adecuado aplicado en ambas variedades de soya, se mejoró la respuesta de las aves.

En otro experimento realizado con cerdos (Vandergrift et al., 1983) se presentaron los resultados de pruebas de digestibilidad ileal y fecal de aminoácidos en pastas de soya cruda o cocida, el objetivo fue estimar los valores de digestibilidad en la soya cruda, con respecto

al lote de pasta procesada con calor. En todos los casos, la digestibilidad de los aminoácidos fue mayor en la pasta sometida a cocción.

11.6.1.1.1 Actividad ureásica.

Anteriormente se destacó la importancia del conocimiento del efecto negativo que los factores antinutricionales presentes en soyas crudas, estos compuestos son termolábiles, pero se debe aplicar correctamente el calor (Veltmann et al., 1986); ya que si la pasta es procesada a una temperatura inferior a la requerida para desactivar a esos compuestos, parte de los inhibidores pueden permanecer en ellas y se considerará a éstas como parcialmente crudas. Una técnica *in vitro* útil para determinar el nivel de calidad de las pastas de soya al evaluar su grado de cocción es la prueba de actividad ureásica (Bustillo et al., 1991). La técnica se fundamenta en la medición de la concentración de ureasa en la soya, por ser ésta un importante indicador del grado de procesamiento del ingrediente, ya que existe una relación directa entre la concentración de la enzima y la cantidad de inhibidores presentes (Araba y Dale, 1990b); tanto los inhibidores como la enzima ureasa en la pasta, disminuyen conforme se expone a más tiempo de cocción al ingrediente (Waldroup et al., 1985; Bustillo et al., 1991).

Aparentemente, aquellas pastas de soya evaluadas con la técnica de actividad ureásica y que generen resultados con valores entre 0.13 y 0.23, indican un correcto procesamiento en el ingrediente (Dale, 1988).

11.6.1.1.2 Solubilidad de la proteína.

La prueba de actividad ureásica puede ser inútil en los casos en los que se pretenda evaluar pastas de soya dañadas con calor, ya que las lecturas generadas pueden dar como resultado valores de cero en las pastas evaluadas, esto fue claramente demostrado en experimentación por Dale et al.(1987). Por lo tanto, para determinar el grado de exposición excesivo de pastas de soya al calor, se recomienda emplear como prueba alternativa de laboratorio a la técnica de solubilidad de proteína (Araba y Dale, 1990a); esa técnica es más confiable para evaluar a éste subproducto de la leguminosa (Bustillo et al., 1991). El tamaño de partícula en las muestras es muy importante, ya que se pueden obtener resultados

variables dependiendo de ese factor (Parsons, 1991). Si en la estimación de solubilidad de la proteína se obtienen resultados que indiquen valores entre 75 y 85 %, se puede concluir que la pasta ha sido correctamente procesada (Dale, 1988; Leeson, 1996). Esto es importante, dado que el sobre calentamiento de la pasta esta relacionado con menor crecimiento en los animales (Bustillo et al., 1991).

La técnica para medir la actividad ureásica, sólo tiene aplicación en la determinación de la calidad de pastas de soya, mientras que la de solubilidad de proteína también se utiliza para evaluar la calidad de otros ingredientes que se procesan con calor (Fernández et al., 1993), como es el caso de la pasta de canola (Anderson-Haferman et al., 1993) y la pasta de girasol (Zhang y Parsons, 1992). Recientemente se ha sugerido como prueba alterna, a la técnica del azul de Comassie (Fernández et al., 1993) para determinar el grado de solubilidad de la proteína en ingredientes procesados con calor.

En información reportada en experimentos realizados con cerdos (Vandergrift et al., 1983), se corrieron varias pruebas de digestibilidad ileal aparente con una muestra de pasta de soya cruda y con 5 lotes distintos de pastas sujetas a diferentes grados de cocción, los resultados observados indicaron que se presentaron mejoras por efecto del tratamiento térmico, en la digestibilidad del nitrógeno de 35.1 vs 79.4 % y en los coeficientes de digestión de 18 aminoácidos, de los que citaremos a lisina de 44.2 vs 85.05 %, de treonina 32.2 vs 72.0 %, de triptófano 24.8 vs 76.8 % y metionina de 46.7 vs 81.76 %, esos valores se obtuvieron de una pasta de soya cruda y del promedio de cinco muestras de pastas sometidas a distintos tiempos de tratamiento térmico, respectivamente.

En otro trabajo de investigación realizado con pollos de engorda (Anderson-Hafermann et al., 1992), se corrió una prueba para medir el efecto de seis diferentes tiempos de cocción (0, 3, 6, 9, 12 y 18 minutos) a una misma temperatura y presión, sobre la calidad nutricional de pasta de soya, con ello se determinó un efecto positivo conforme se incrementó el tiempo de cocción en el orden antes señalado sobre la ganancia de peso alcanzada por los pollos desde los 8 hasta los 17 días de edad con 120, 119, 134, 141, 152 y 151g.

11.6.1.1.2 Taninos.

El grano de sorgo ha sido empleado como una de las principales fuentes de energía, en dietas para aves y cerdos, a las que se incorpora en un nivel superior al 50 %. Del grupo de ingredientes energéticos de origen vegetal, el grano de sorgo sólo es superado en su aporte de energía por el grano de maíz, contiene una mayor cantidad de lisina, pero aporta una menor concentración de aminoácidos azufrados, mientras que su concentración de proteína puede ser más alta que la encontrada en el grano de maíz (Ávila, 1986).

Los taninos son pigmentos fenólicos que se encuentran en el grano de ciertas variedades de sorgo (Cuca et al., 1990); estos compuestos son detrimentales para aves, ya que inducen una menor utilización de la proteína y energía en el mismo sorgo y en la de otros ingredientes en la misma dieta, por ello la presencia de estos compuestos antinutricionales afecta la disponibilidad de los aminoácidos (Antillón y López, 1987).

Los taninos tienen la propiedad de curtir pieles ya que pueden fijar o precipitar proteínas y otros polímeros como la glucosa, además de inhibir la actividad de enzimas digestivas como tripsina y lipasas entre otras; aparentemente no existe relación entre el color de la testa de grano y su contenido de taninos, ya que si bien, existen taninos más oscuros que el sorgo, en otros casos algunos tipos de sorgo oscuros pueden ser bajos en taninos (Antillón y López, 1987). En opinión de otro investigador (Leeson, 1996) no existe una evidencia clara que permita relacionar el color de la cubierta del grano de sorgo con el contenido de taninos, ya que se supone que las variedades de sorgo con alto contenido de taninos son más oscuras, sin embargo algunos sorgos de coloración oscura se han analizado y presentaron concentraciones bajas de taninos.

Esto concuerda con lo reportado en los cuadros sobre la composición de materias primas que especifican la concentración de aminoácidos de los principales ingredientes utilizados en la alimentación de aves y cerdos en América Latina (Mariscal et al., 1995) en donde se puede observar que a pesar de que el aporte de aminoácidos totales en distintos tipos de sorgo es similar, al multiplicar los respectivos coeficientes de digestibilidad de los

aminoácidos, se puede apreciar que el aporte de aminoácidos digestibles es menor en los granos de sorgo con mayor concentración de taninos.

Existe una prueba rápida y económica que permite determinar si el grano de sorgo contiene una baja o elevada cantidad de taninos, ésta se basa en remover el pericarpio del grano y si éste presenta una coloración con rangos de oscura a negra, el grano contiene una cantidad elevada de taninos, por el contrario si la coloración generada es blanca a amarilla, se considera que el sorgo contiene un nivel bajo de taninos (Leeson, 1996).

11.6.1.2 Tratamiento térmico de materias primas.

En la época pre-colombina, la nixtamalización era una técnica que parecía tener como único objetivo el de suavizar el grano de maíz para consumo humano, pero ahora se sabe, que este proceso desarrolla un tratamiento selectivo en las proteínas del maíz, ya que la cocción alcalina provoca en la zeína una menor solubilidad y en la glutelina una mayor, rindiendo un balance positivo desde un punto de vista nutricional ya que la última es de mayor valor biológico, el proceso descrito incrementa la disponibilidad de los aminoácidos (Figueroa et al., 1994).

La nixtamalización, es un proceso térmico del maíz, involucra su cocción alcalina y fue empleado por las culturas mesoamericanas, hoy se sabe que rinde un balance positivo en la calidad nutritiva de este cereal, favoreciendo la disponibilidad de aminoácidos, como lisina y triptófano, además de incrementar la proporción de isoleucina y leucina (Katz et al., 1974).

Actualmente la industria de alimentos balanceados tiene como meta permanente formular dietas que permitan expresar la máxima productividad en los animales, lo que no puede lograrse, si las materias primas para su fabricación no cumplen con un nivel mínimo de calidad requerido por los nutriólogos (Andrews, 1988).

Por ello, en la producción moderna de alimentos, se han desarrollado una serie de procesos que se aplican tanto en ingredientes como en algunos alimentos terminados, entre los que se pueden considerar a la molienda, extracción de aceites, cocción, mezclado, empastillado, deshidratado y enfriado (Maier y Bakker-Arkema, 1992; Castaldo, 1994a). De

ellos, los que requieren el uso de temperaturas para la cocción de materias primas, se deben vigilar cuidadosamente, debido al daño que puede causar el calor a algunos de los componentes del alimento, entre los que se encuentran las proteínas.

De acuerdo con lo anterior, es posible considerar de manera práctica que los problemas de disponibilidad de aminoácidos están relacionados con el procesamiento, conservación y almacenamiento de ingredientes (Cuarón, 1991). Algunos de los problemas implicados con la disponibilidad de aminoácidos, se deben al efecto perjudicial del procesamiento térmico o de presión excesiva en los ingredientes (Parsons, 1993).

Por otro lado, el tratamiento térmico afecta la estructura química de los alimentos, esto es preocupante si consideramos que existen ingredientes que son procesados con calor para mejorar su valor nutrimental, como en la pasta de soya o en harina de plumas; en ésta última, al emplear condiciones extremas de calentamiento se puede formar lantionina o dehidroalanina a partir de cistina, por ello quizás la disponibilidad biológica de aminoácidos azufrados en la harina de plumas hidrolizada pudiera ser menor al 60 % (Cuarón, 1991); ya que además presenta enlaces disulfuro resistentes a la acción de enzimas digestivas en las aves (Scott et al., 1973; Ávila, 1986).

Así mismo, algunas proteínas por su estructura química son más resistentes a los procesos digestivos, y otras en caso de ser dañadas por condiciones extremas de procesamiento térmico o por efecto de tiempo excesivo de cocción antes de su ingestión, son hidrolizadas con lentitud e incluso en menor grado (Cruz y Ricque 1992).

11.6.1.2.1 Reacción de Maillard.

La industria de alimentos balanceados cuenta cada vez con una mayor variedad de ingredientes útiles como fuente de proteína, para la fabricación de esos ingredientes se emplea a laboriosos procesos antes de ser utilizados para la alimentación animal. En una buena parte de ellos, se aplican procesos térmicos para su cocción y en otros casos, la aplicación de calor ha mejorado su calidad, favoreciendo la productividad en aves (Herkelman et al., 1993) y en cerdos (Cook et al., 1988).

Sin embargo, se obtiene una respuesta negativa en el crecimiento, en animales alimentados con pastas sobre procesadas con calor, en comparación de aquellas producidas en condiciones térmicas más favorables, debido al daño en sus proteínas por excesivo calentamiento (Zhang y Parsons, 1994). Esa clase de respuesta esta relacionada con la reacción de Maillard, ésta fue descrita por primera vez en 1912 por Louis Camille Maillard, esa reacción se desarrolla de manera muy amplia en distintos sistemas biológicos y alimenticios (Chuyen, 1998).

11.6.1.2.2 Origen de la reacción.

La reacción Maillard daña a los aminoácidos por medio de degradaciones químicas, ésta puede ocurrir en ingredientes procesados antes o durante la elaboración de alimentos balanceados al ser sometidos a procesos de calentamiento o cocción, en donde se rinden una serie de compuestos conocidos como productos Maillard. Así mismo, este tipo de reacciones también se desarrollan durante el almacenamiento de alimentos, ya que la reacción puede ocurrir entre los distintos componentes químicos de un mismo ingrediente o entre los distintos ingredientes que componen a una dieta terminada, (Tanaka et al., 1975; Mauron, 1990; Cuarón, 1991).

En estos procesos se presentan reacciones que involucran proteínas, con la formación de isopéptidos, lisinoalanina o provocar la racemización de las mismas, o en otros casos, se pueden involucrar a carbohidratos reductores como la glucosa, los cuales reaccionan con aminoácidos reduciendo el valor biológico de las proteínas (Mauron, 1990).

Los productos de la reacción de Maillard resultan de procesos no enzimáticos, activados por calor que inducen el oscurecimiento de ingredientes o alimentos, un ejemplo de ello ocurre entre la lisina y oligosacáridos presentes en pastas de soya (Parsons et al., 1992). La intensidad con la que se desarrolla la reacción, depende de la severidad del calentamiento aplicado a los alimentos (Desrosiers y Savole, 1991).

Otros investigadores (Johnson et al., 1977) mencionan, que los alimentos suplementados con aminoácidos libres son especialmente susceptibles a pérdidas por la

reacción de Maillard, en donde ocurren dos eventos fundamentales, en el primero, los grupos amino de un aminoácido libre o una cadena de aminoácidos se combinan con el grupo carboxilo de un azúcar reductor, en el otro, la reacción continúa con la formación de los re-arreglos Amadori, generando 1-amino-1-deoxy-2-cetosa seguida de otras reacciones para formar melanoidinas, las melanoidinas son macromoléculas que están asociadas a cambios en la coloración de una amplia variedad de alimentos cuando son afectados por la reacción de Maillard. Por ejemplo, la coloración café que se presenta en algunos ingredientes expuestos a cocción se ha relacionado con la reacción de la lisina que se encuentra unida a los azúcares reductores (Mauron, citado por Heuisuck y Garlich, 1992).

La reacción Maillard esta involucrada con cambios en el sabor de los alimentos por su acaramelamiento, además de un sabor agrio a quemado en los casos de mayor exposición al calor, acompañado de modificaciones en la apariencia del alimento generando una coloración café (Van Soest, 1994); también, se pueden generar cambios tan intensos en la coloración de los ingredientes que ésta puede llegar a un color negro en aquellos ingredientes afectados en mayor grado por el calor (Baker et al., 1984).

11.6.1.2.3 Papel de las proteínas en la reacción.

Las proteínas son uno de los nutrimentos con mayor posibilidad de ser afectadas por el calor aplicado en los ingredientes, ya que durante su calentamiento algunos aminoácidos esenciales como lisina, triptófano, metionina y cistina, pueden reaccionar con otros componentes del alimento, provocando una pérdida en su disponibilidad y dependiendo de las condiciones en las que ocurra la reacción podría haber una reducción en la digestibilidad de cadenas completas de proteínas dietarias (Hurrell y Finot, 1983).

En ese mismo sentido, Weigel (1991) precisó que algunos carbohidratos reductores como la glucosa, pueden reaccionar con los grupos amino libres de las proteínas, considerándose a éstos elementos responsables de acelerar la reacción, la lisina, presenta en su molécula un grupo épsilon amino libre, por lo que se le considera como uno de los aminoácidos con mayor susceptibilidad de alterarse químicamente con calor. Sin

embargo, otros aminoácidos como la arginina, histidina y triptófano poseen grupos reactivos susceptibles de degradarse térmicamente (Scott et al., 1973). Ante el calor, los azúcares modifican su configuración como efecto de su deshidratación, esto es posterior a su condensación con algún grupo amino libre, produciendo fracciones no digeribles, esos grupos amino libres o moléculas que contienen azufre, están presentes en aminoácidos como lisina, o metionina y cistina respectivamente, por lo que también éstos son muy susceptibles al daño térmico (Van Soest, 1994). El principal constituyente de muchos de los productos Amadori es la forma beta piranosa, que se construye a partir del grupo épsilon amino libre de la lisina y la D-glucosa en los ingredientes (Tagami et al., 2000).

Antes se mencionó que, los azúcares reductores son altamente reactivos con los grupos amino libres, pero esas reacciones no sólo pueden ser activadas por el calor, sino también por la presencia de humedad, así mismo algunas vitaminas como la niacina y el ácido fólico, que cuentan en su molécula con un grupo amino libre, son muy vulnerables y pueden ser destruidas al ligarse a los azúcares antes mencionados (Baker, 1991).

En otro reporte (Emmert y Baker, 1997), se informó que no todos los nutrimentos son afectados en un mismo grado por la exposición térmica de los insumos alimenticios, como fue demostrado en pastas de soya, canola y cacahuete procesadas en un autoclave por 60 min, ya que su sobrecalentamiento no indujo un efecto negativo sobre la biodisponibilidad para las aves de la vitamina colina. Otra posible excepción pudiera ser la de algunos complejos formados en el calentamiento de proteínas, generando nuevas fracciones como la aspartil-lisina y la glutamil-lisina, ya que estos compuestos si fueron digeridos y una vez liberados de la cadena de proteína, absorbidos y utilizados para el metabolismo animal (Hurrell y Carpenter, 1977).

Los efectos negativos de la reacción de Maillard se presentan con algunos carbohidratos reductores presentes en los alimentos, debido a que son muy sensibles y participan en las degradaciones térmicas cuando están acompañados de aminos o aminoácidos y agua, sin embargo, también otras sustancias pueden estar involucradas en los distintos eventos que ocurren durante el proceso, tal es el caso de aceites poli-

insaturados y fenoles que pueden participar en el transcurso de la reacción por copolimerización (Van Soest, 1994).

11.6.1.2.4 Calentamiento y digestibilidad de proteínas.

En la reacción de Maillard, se rinden nuevos compuestos en complejas uniones con aminoácidos que no pueden ser hidrolizadas por las enzimas digestivas; por lo que a pesar de realizar un análisis químico previa hidrólisis ácida de los aminoácidos (cromatografía líquida de alta resolución) y de que esa metodología indique su presencia química en los ingredientes sobrecalentados, éstos aminoácidos no son utilizados por el animal y no están disponibles metabólicamente en el organismo (Carpenter, 1973; Abdo, 1994).

La química de la reacción de Maillard es de consecuencias muy complejas, ya que el efecto del calor en cada ingrediente en particular es muy variable, un resultado común de la misma, es que el mayor o menor calentamiento de las proteínas, reduce su hidrólisis digestiva, debido a la dificultad de las enzimas para acceder a los substratos, debido a los enlaces que generan nuevos complejos durante la reacción (Van Soest, 1994). Esto es similar a lo reportado con ingredientes expuestos al calor, en donde la lisina que ha reaccionado térmicamente, se liga a azúcares reductores y tiene menor digestibilidad (Mauron, citado por Heuisuck y Garlich, 1992); esto es similar a lo que sucede con otros aminoácidos involucrados en la reacción, ya que también se reduce su digestibilidad (Hurrell y Carpenter, 1977).

11.6.1.2.5 Reacción de Maillard y disponibilidad de aminoácidos.

Cuando las proteínas son expuestas al calor, la digestibilidad de los aminoácidos disminuye; sin embargo, es importante resaltar que a pesar de que una parte de los aminoácidos dañados con calor pueden ser digeridos y absorbidos a nivel del lumen intestinal, una vez en el torrente sanguíneo no están disponibles (Sibbald, 1987) en los sitios especializados para la síntesis de nuevas proteínas. Al respecto, Johnson et al. (1979) citan (Anónimo, 1978) que los nuevos compuestos resultantes de la reacción de un aminoácido con un carbohidrato, conocidos como compuestos Amadori, como es el caso

de glucosa con fenilalanina, cuando fueron administrados por vía oral a pollos, se pudo demostrar que estos compuestos no estuvieron disponibles para el crecimiento.

Dependiendo de las condiciones en las que se desarrolle la reacción Maillard, se pueden generar reacciones tempranas, reacciones intermedias y reacciones avanzadas, durante las reacciones tempranas se generan compuestos fructosil aminoácidos o compuestos Amadori, los cuales pueden ser digeridos y absorbidos pero no pueden ser utilizados por los animales, por lo que son excretados intactos en la orina (Fernández, 1996).

En ensayos biológicos realizados para estimar la calidad química de proteínas sobreprocesadas con calor, se ha puesto de manifiesto el efecto del calor sobre la calidad proteica en los alimentos, de los cuales algunos se citan a continuación.

Con el objeto de evaluar a una serie de alimentos procesados con distintas técnicas, se realizó un muestreo y posterior análisis de 23 distintos alimentos para consumo humano obtenidos de 119 proveedores distintos, se detectó en casi todas las muestras de los alimentos la presencia de lisinoalanina (N^{ϵ} -(DL-2-amino-2-carboxietil)-L-lisina), en donde tres de los alimentos evaluados fueron la excepción, ya que no se les aplicó ningún tipo de cocción, en los casos en donde se obtuvo información sobre el tipo de procesamiento y tiempo de cocción del alimento, la presencia creciente de ese complejo de aminoácidos se asoció a la cocción de los alimentos a mayor temperatura y tiempo de exposición al calor; también, se reportó que los complejos de aminoácidos resultantes de las reacciones con calor, pueden estar presentes en los de alimentos cocinados a nivel doméstico o procesados comercialmente (Sternberg et al., 1975).

Por otra parte, Robbins et al. (1980) asociaron la presencia de lisinoalanina a procesos alcalinos que tienen aplicación en la industria de los alimentos, lo cual permite elaborar harinas de soya, la texturización de proteínas, la remoción de la cáscara de frutas y vegetales, además de la destrucción de aflatoxinas en semillas de cacahuete. Esos mismos autores, empleando la técnica de relación de pendientes, estudiaron en varios experimentos la disponibilidad de la lisinoalanina para ratas y pollos, y el valor

nutricional de la lantionina para pollos, demostrando que la lisina presente en la lisinoalanina tuvo una disponibilidad del 35 % para pollos y en la cistina contenida en la DL-lantionina, se obtuvo una biodisponibilidad de 34 %, mientras que la disponibilidad biológica para el crecimiento del pollo en la cistina contenida en la DL-lantionina fue de 31 % y en la L-DL-lantionina de un 52 % .

En otra colaboración experimental (Baker et al., 1984), se evaluaron por medio de dietas purificadas a seis diferentes dipéptidos de metionil metionina (distintas combinaciones de isómeros de metionina en las formas L y D), un oligopéptido de L-metionina y N-glicil-L-metionina, para determinar su bioeficacia para inducir el crecimiento en pollos, parte de ese estudio tuvo como objetivo el de evaluar a distintos análogos de metionina, cuando éstos fueron expuestos a condiciones artificiales para generar la reacción de Maillard (37.6 °C de temperatura más dextrosa, a un pH de 9.5).

En todos los casos la eficiencia biológica de los suplementos cristalinos de metionina disminuyó como consecuencia de la reacción Maillard, siendo este efecto menos detrimental en la dieta a la que se incorporó DL/LD metionil metionina, con 92 % de la actividad de la L-metionina incorporada a una dieta control (sin calentar), el efecto más severo se detectó en el crecimiento de las aves alimentadas con N-glicil-L-metionina, con una eficiencia relativa del 54.2 % con respecto a los pollos de la dieta de referencia, por otro lado, la respuesta de las aves alimentadas con L-metionina sola dañada con calor, tuvieron una respuesta menor (72.9 %) con respecto a la del grupo control.

En un experimento se midió la concentración de lisinoalanina en alimentos expuestos a condiciones adversas para sus proteínas y determinar la utilidad neta de la proteína con ratas, De Groot y Slump (1969) expusieron a varias fuentes de proteína a distintas condiciones de temperatura y alcalinidad; evaluando por separado a pasta de soya (ofrecida intacta a un grupo control) tratada en agua a un pH de 7, o con hidróxido de sodio a un pH de 12.2 a 40 °C por cuatro horas, a proteína aislada de soya (bajo las últimas condiciones) y un concentrado proteico de origen animal (entre otros ingredientes) expuesto a un pH de 12.2 combinado con calor a 50, 65 y 80 °C. Al finalizar las pruebas se arrojaron los siguientes resultados en el orden antes expuesto de

las condiciones de procesamiento, pasta de soya: utilidad neta de la proteína (UNP) 63, 61 y 41 %, lisinoalanina (LAL) g/16g N, 0.0, 0.0 y 0.57; proteína aislada de soya con una UNP de 24 y LAL de 0.80 g/16 g N; proteína de origen animal con UNP de 61, 61, 26 y LAL 1.1, 1.0 y 2.3. En ese mismo reporte, la combinación de varias condiciones de alcalinidad con diferentes temperaturas y distinto tiempo de exposición a las mismas, se utilizaron para procesar a 13 lotes de proteína aislada de soya, con lo cual se generó información que estableció una clara relación inversa entre esos factores, ya que ha mayor pH, temperatura y tiempo de cocción, menor UNP y digestibilidad de las proteínas.

Por otra parte, la lisina es muy sensible a condiciones extremas de calor, situación que fue evaluada desde la perspectiva de su disponibilidad en condiciones de exposición al calor por Boctor y Harper (1968), para ello se procesó carne de res en un autoclave (121 °C) por 30 min, 3 h y 12 h, y se determinó una relación inversa entre el tiempo de cocción con la disponibilidad del aminoácido.

Valle-Riestra y Barnes (1970) realizaron un experimento con ratas, para determinar las rutas de digestión de albúmina de huevo, la albúmina fue previamente marcada radioactivamente con ^{14}C -L-Lisina-HCl que fue inyectada a gallinas, después la albúmina fue extraída directamente de los huevos puestos por las aves, se dializó para remover los residuos de glucosa presentes, para después ser procesada con una liofilizadora. Posteriormente, la albúmina deshidratada fue procesada en un autoclave a 120 °C por una hora acompañada o no de glucosa (16 % p/p), con el objetivo de inducir la reacción de Maillard en esa fuente de proteína. Finalmente, la albúmina con y sin glucosa fue incorporada a dos dietas, que fueron utilizadas para alimentar a ratas machos alojadas en jaulas metabólicas de vidrio, para la colección de muestras de la orina a las 16 h y el dióxido de carbono expirado a las 2, 7 y 16 h *posprandium* respectivamente, así mismo parte de los animales fueron anestesiados y sacrificados a distintos intervalos de tiempo (0-24, 24-48, 48-72 y 0-72 h) para poder recuperar el contenido de alimento en distintos segmentos del tracto digestivo. Con las mediciones realizadas por medio de la cuenta de unidades radioactivas, se pudo apreciar una concentración tres veces mayor de

radioactividad en la orina de las ratas que recibieron la albúmina calentada junto con glucosa (dañada por la reacción de Maillard) que la concentración de radioactividad encontrada en las ratas alimentadas con la albúmina calentada sin glucosa.

La medición de la concentración del CO₂ marcado radiactivamente en el aire expirado, ésta indicó una cantidad tres veces menor de moléculas de ese gas marcado en los animales que recibieron la albúmina que fue calentada sin glucosa, esto fue asociado con una mayor utilización de esa fuente de proteína. Al ser comparados estos resultados con los generados en los animales que recibieron en su dieta albúmina calentada junto con la glucosa, se pudo encontrar un efecto inverso en las muestras de orina, que indicó que la lisina o algunos de sus derivados absorbidos desde el intestino y las formas no disponibles, no pudieron ser utilizadas en el metabolismo y se desecharon vía urinaria.

En las muestras de alimento tomadas del tracto digestivo, la ¹⁴C-lisina fue encontrada en menores proporciones en los animales alimentados con la albúmina libre de glucosa, con concentraciones de 19.7, 9.5, 3.0, y 32.2 %; mientras que en los alimentados con la albúmina y glucosa, éstas fueron de 42.0, 27.7, 3.9 y 73.6 % en las muestras que se tomaron en los tiempos inicialmente indicados. La presencia de glucosa fue un catalizador para reducir la biodisponibilidad de lisina en la albúmina de huevo expuesta a calor, ya que la adición de 0, 1, 1.5 y 2 % del carbohidrato redujó la concentración de lisina disponible de 6.24, 4.91, 3.99 a 3.73 % respectivamente.

En otro informe (Fernández y Parsons, 1996), se demostró el efecto detrimental del calor sobre la lisina, en condiciones en donde ésta converge con un azúcar reductor (glucosa). Para ello, se comparó la biodisponibilidad de la lisina para pollos de engorda, en su forma cristalina (L-lisina-HCl) o a partir de lisina contenida en pasta de soya sobrecalentada sola o con 25 % de glucosa, para ello se compararon seis distintos tratamientos o dietas como se explica a continuación, en el primero se utilizó lisina sintética como dieta control (sin cocción adicional), mientras que en otras tres dietas, se empleó pasta de soya con 0, 40 y 60 min de cocción adicional en un autoclave, y en los

dos últimos tratamientos se incorporó a las dietas pasta de soya procesada por 20 y 30 min combinada en una proporción de 3:1 con glucosa.

No se encontró diferencia en el peso entre los pollos que recibieron la dieta de referencia adicionada con L-lisina-HCl (con una biodisponibilidad de 100 % para crecimiento), con los pollos alimentados con pasta de soya calentada, sin embargo se detectó que la biodisponibilidad de la lisina se redujo numéricamente en 110 %, 102 % y 97 % en lotes de soya procesados por 0, 40 y 60 min, respectivamente; mientras que en las dietas en donde se incluyó 25 % de glucosa a las pastas de soya procesadas en el autoclave por 20 y 30 min, se encontró que la biodisponibilidad de la lisina fue de 92 y 55 %, respectivamente, lo anterior a pesar de haber sido tratadas térmicamente con la mitad del tiempo empleado en los tratamientos previamente citados, además se encontró, un efecto negativo en el crecimiento, debido a que la adición de glucosa amplificó el efecto negativo de la temperatura sobre la disponibilidad biológica de la lisina.

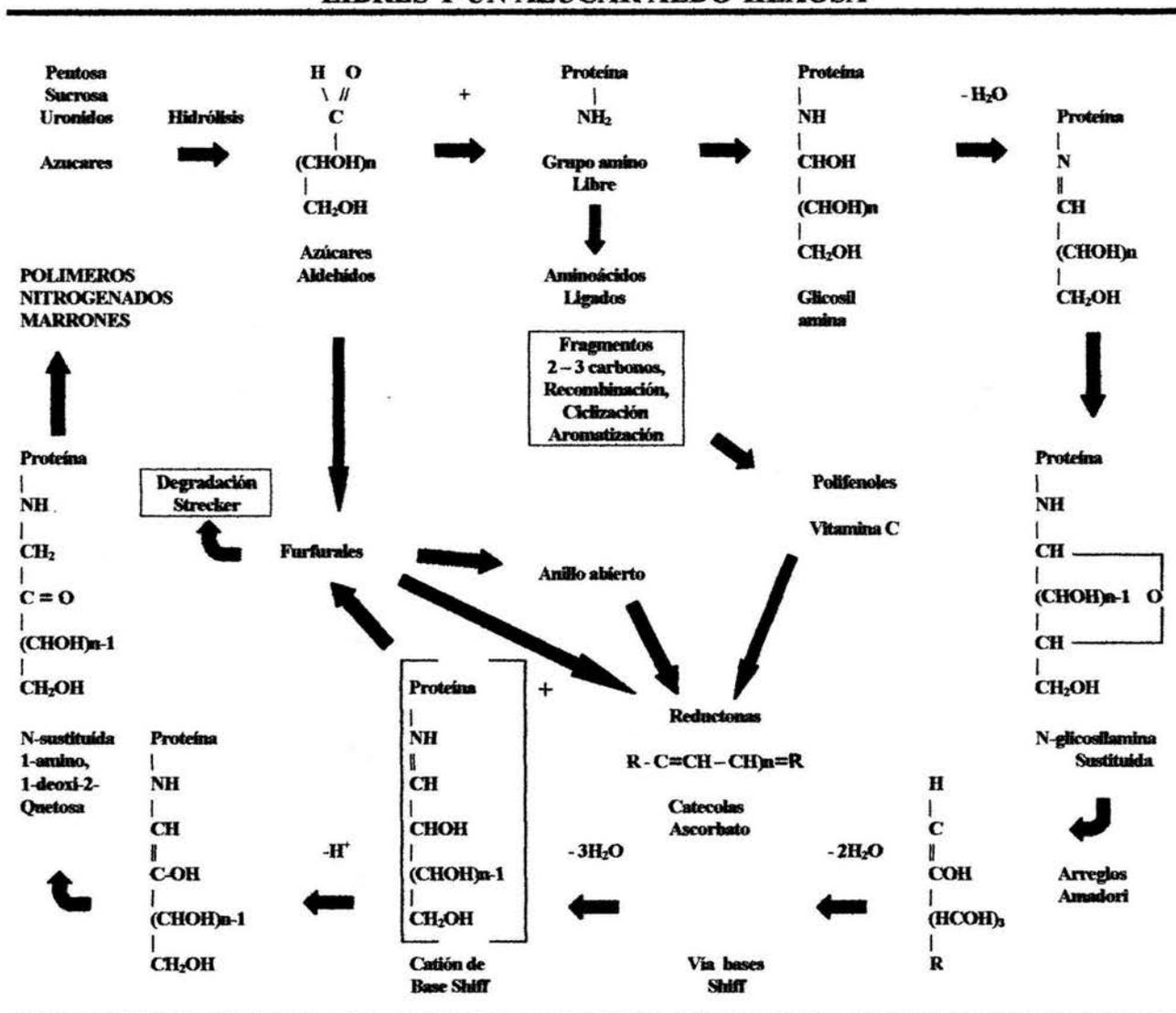
Por su parte Parsons et al. (1992), compararon la respuesta de pollos de los 6 a los 13 días de edad, alimentados con dos dietas, en las que se incorporó pasta de soya más dextrosa, una de ellas se calentó en autoclave por 40 min, al final se detectó que el rendimiento de las aves en peso y relación ganancia-alimento, fueron superiores en los pollos alimentados con la dieta sin tratar térmicamente.

En la Figura 2 se presentan parte de los pasos involucrados en la reacción de Maillard, esa información fue integrada a partir de varios reportes de la literatura. La reacción se inicia con la hidrólisis de carbohidratos que reaccionan con grupos aminos libres de las proteínas, esos mismos azúcares pueden acoplarse con compuestos furfúricos que se caracterizan por ser altamente reactivos (Van Soest, 1994). Posteriormente, los azúcares ligados a proteínas (glicosil aminos) pierden una molécula de agua, hasta formar N-glicosilamina sustituida, compuesto final que da origen a los arreglos Amadori (Scott et al., 1973). A su vez, los arreglos Amadori utilizan una ruta conocida como vía de las bases Schiff, para generar polímeros y compuestos marrones (Carpenter y Booth, 1973). La formación de furfúricos es una reacción catalizada por la presencia de aminoácidos

que provienen de los arreglos Amadori, los furfurales son compuestos aromáticos, poseen un anillo que, al abrirse permite que se generen reacciones en donde se producen reductonas, catecolas y ascorbatos. Estos compuestos aromáticos intervienen en la etapa final, en reacciones de trasaminación de aminoácidos, ya que participan dentro del proceso de la degradación de Strecker que ocurre en aminoácidos, y se desarrolla durante el calentamiento excesivo de los forrajes (Van Soest, 1994).

FIGURA 2.

FASES DE LA REACCIÓN DE MAILLARD ENTRE GRUPOS AMINOS ÉPSILON LIBRES Y UN AZÚCAR ALDO-HEXOSA



Modificado de Scott et al., 1973; Hodge, 1953, citado por Carpenter, 1973 y Van Soest, 1994.

11.6.1.3 Análisis químico de aminoácidos en ingredientes sobrecalentados.

La formulación de alimentos balanceados es una práctica sustentada en información que permita el acceso al conocimiento exacto de la composición química de las materias primas incorporadas a las dietas. En las proteínas, no sólo la cantidad es un elemento a considerar, ya que la estimación de su calidad exige la determinación cuantitativa y cualitativa de los aminoácidos, este factor es importante cuando se pretende cubrir los requerimientos de esos nutrimentos en aves y cerdos.

La concentración de aminoácidos en los alimentos, se mide con una técnica que requiere la separación inicial de los mismos de las cadenas proteicas por medio de una hidrólisis ácida, sin embargo algunos aminoácidos deben recibir un tratamiento distinto para protegerlos y evitar posibles pérdidas cuantitativas durante su medición analítica, por ello, los aminoácidos azufrados como la metionina y la cistina deben ser tratados previamente a su cuantificación con una oxidación específica usando ácido perfórmico (Bonn et al., 1991, Baker, 1997); durante la oxidación, la metionina es precipitada a sulfona de metionina y la cistina es convertida a dos partes de ácido cisteico (Bonn et al., 1991). Después de ello, los aminoácidos se someten a una hidrólisis con ácido clorhídrico semiconcentrado (Bonn et al., 1991); en el caso particular de la determinación de triptófano, se recomienda una hidrólisis alcalina con hidróxido de sodio o hidróxido de litio que permita romper los enlaces peptídicos sin pérdidas del aminoácido antes de su determinación (Baker, 1997); así mismo, el hidróxido de bario ha sido recomendado como una opción alterna (NRC, 1998).

Rutinariamente se expresa el aporte de aminoácidos en las materias primas en términos de su concentración total, es importante considerar que se pueden presentar daños en los mismos por procesos térmicos o por condiciones de almacenamiento, los cuales son más comunes de lo que se supone, baste señalar que las condiciones en donde se almacenan los ingredientes, implican su exposición a condiciones variables que dependen en gran medida del medio ambiente.

Esas condiciones son originadas por las variaciones diarias de temperatura o variaciones estacionales, con lo cual los granos almacenados pueden absorber o atrapar humedad dependiendo de la temperatura y humedad relativa predominantes (Tejada, 1986), también se puede originar calor por exceso de humedad en los granos de cereales en condiciones inadecuadas de almacenamiento. La presencia de humedad y la temperatura son dos elementos importantes a considerar, ya que originan cambios en las propiedades físicas y químicas en la estructura de las proteínas, pero también se debe relacionar a esos procesos con consecuencias negativas al utilizar ingredientes incorrectamente valorados o sobrestimados en su calidad proteica (Meade, 1972).

Esta clase de eventos representa un problema de tipo práctico, en virtud de que los aminoácidos dañados con calor no son utilizados por el animal, no obstante que pudieron ser digeridos y absorbidos de manera “ normal ”. En este caso las técnicas analíticas por hidrólisis ácida, pueden liberar a este tipo de aminoácidos y ser cuantificados en forma conjunta con el total de los aminoácidos de los alimentos, pero no permiten diferenciar a aminoácidos intactos (sin daño térmico) de aquellos ligados a compuestos por reacciones térmicas (Cuarón, 1991).

Aplicando esta información a las mediciones de digestibilidad, es posible suponer que si un animal consume una fuente de proteína que ha sido dañada con calor, una cantidad variable de los aminoácidos podría no estar disponible, sin embargo el monto aminoácidos intactos además de los aminoácidos dañados pueden ser cuantificado de manera normal por medio de su análisis químico en laboratorio (Kerr, 1995); lo que es factible que ocurra en aquellos casos en los que los aminoácidos son afectados durante las reacciones tempranas de la reacción de Maillard (Fernández, 1996).

Este tipo de eventos se conocen desde hace años, a modo de ejemplo señalaremos a la lisina, ya que es sensible al calor, y a pesar de que reaccione con grupos carboxilos de azúcares reductores o lípidos oxidados y de que se reduzca su biodisponibilidad, ésta ha podido ser analizada en laboratorio utilizando cromatografía por intercambio iónico (Miller, 1970).

En información reciente (Dudley-Cash, 1999) se sugiere, que lo antes expuesto es parcialmente correcto, ya que coincide con el hecho de que la mayoría de los aminoácidos ligados (productos Amadori) durante las fases tempranas de la reacción Maillard pueden ser detectados durante los análisis rutinarios por medio de su hidrólisis ácida, pero aquellos aminoácidos involucrados en las fases avanzadas de la reacción, no pueden ser valorados por medio de las determinaciones analíticas convencionales.

En otro informe (Scott et al., 1973), se pone de manifiesto que, cuando ocurren reacciones químicas no enzimáticas entre azúcares y aminoácidos en fases tempranas de la reacción de Maillard, es factible determinar químicamente en los alimentos la concentración de los aminoácidos presentes, ya que la hidrólisis ácida de los mismos puede romper los enlaces de los carbohidratos con grupos amino liberando al aminoácido presente para su registro durante su determinación analítica, por otro parte, cuando se analizan muestras sobreprocesadas con calor, en donde ocurrieron las fases avanzadas y finales de la reacción de Maillard, el análisis del perfil de aminoácidos de esa proteína arroja resultados que indican la pérdida o destrucción de los mismos. Por otro lado, en otros informes (Sibbald, 1987; Fernández, 1996) se menciona que ni los aminoácidos degradados en las fases tempranas, ni los que sufren daño en fases avanzadas de la mencionada reacción, pueden considerarse como aminoácidos disponibles para el crecimiento de las aves; por lo que esos aminoácidos son una pérdida real de proteína al ser eliminados vía urinaria (Fernández, 1996).

Parsons et al. (1992) evaluaron el efecto de aplicar calor de distinta duración con un autoclave sobre el perfil de aminoácidos determinado por análisis químico en dos pastas de soya comerciales. Los resultados del análisis del laboratorio de las pastas sobreprocesadas, mostraron cambios en el contenido original de los aminoácidos presentes en las pastas, el efecto más marcado se percibió en los aminoácidos lisina, cistina y arginina ya que redujeron su concentración conforme se expuso a las pastas por más tiempo al calor. En lo referente al contenido de metionina, se demostró que su concentración en una de las pastas evaluadas prácticamente permaneció constante.

En otro trabajo se calentó en un autoclave a pasta de canola (Anderson-Hafermann et al., 1993) y se encontró que el tiempo de procesamiento modificó la concentración original de los aminoácidos analizados, en particular cuando se expuso a la pasta por más tiempo (0, 30, 60 y 90 min) al calor, ya que al comparar cuatro lotes de la misma, se detectó que el tiempo de cocción tuvo un efecto mayor sobre la concentración de lisina, dado que el procesamiento a intervalos de 30 min redujo paulatinamente la cantidad de ese aminoácido en la pasta, hasta llegar a una concentración 27 % menor en el lote de pasta calentada por más tiempo en comparación con el lote del ingrediente sin procesar en el autoclave; en otros aminoácidos, se observó que el calentamiento tuvo poco o ningún efecto sobre el perfil original de los mismos, con la excepción de arginina, ya que la concentración de la misma, disminuyó alrededor de nueve puntos porcentuales en la pasta procesada con calor por 90 min.

La producción comercial de pasta de girasol fue evaluada bajo distintas condiciones de fabricación por Zhang y Parsons (1994), para ello en uno de sus experimentos, se simularon las condiciones de procesamiento térmico aplicadas en el experimento anterior, para estimar el efecto del tiempo de calentamiento sobre el perfil analizado de 16 aminoácidos, en donde al igual que en el trabajo anterior, la lisina resultó ser el aminoácido más afectado por la exposición al calor de la pasta, ya que su concentración analizada se redujo en un 41 % (1.43 % a 0 min contra 0.84 % a 90 min). El efecto del tiempo de cocción indujo cambios más moderados en la concentración en el resto de los aminoácidos analizados de la pasta, ya que la concentración de éstos bajó en promedio 12 puntos porcentuales al contrastar el perfil observado en la pasta original sin procesar contra la pasta calentada por 90 min.

11.6.1.4 Tratamiento térmico y valor proteico de materias primas.

La tecnología industrial usada para procesar materias primas antes y durante la fabricación de alimentos balanceados, es útil para mejorar el valor nutricional de los ingredientes y de las dietas terminadas, logra una mejor presentación, facilita su manejo, los prepara para procesos posteriores y mantiene en lo posible, el nivel de sus

propiedades alimenticias bajo condiciones aceptables de almacenamiento e incrementa su aceptación por parte de los animales.

Gran parte de los ingredientes que son utilizados para la fabricación de alimentos balanceados son procesados con calor durante su elaboración, por ello es importante determinar los rangos de temperatura aplicada de manera que se produzcan ingredientes con el máximo de calidad posible. Esto se asocia claramente con el hecho de que el conocimiento de la disponibilidad de los aminoácidos dietarios es una herramienta útil para el nutriólogo, le permite ajustarse a la calidad de cada ingrediente y formular para el máximo desempeño productivo de los animales (Meade, 1972).

Por la propia naturaleza de su estructura química, las proteínas no son digeridas con la misma intensidad, lo que puede ocurrir en aquellas que poseen una estructura compleja, como en la harina de plumas, la que requiere ser procesada con calor y presión para incrementar su valor proteico (Scott et al., 1973); pero en los casos en donde el calentamiento es excesivo, se puede afectar negativamente el valor biológico de las proteínas en los ingredientes (Parsons, 1991).

De lo anterior, se deriva la importancia del empleo de técnicas que sean confiables para determinar la disponibilidad biológica de los aminoácidos (Sibbald, 1987), lo que permite cuantificar con mayor precisión las fracciones proteicas que pueden ser empleadas por el animal.

Al respecto, la medición de los coeficientes de digestibilidad en aminoácidos, se realizó (Anderson-Hafermann et al., 1993) con pasta de canola calentada en un autoclave (0, 30, 60 y 90 min), para estimar el efecto del tiempo de exposición al calor sobre el coeficiente de digestibilidad de sus aminoácidos (técnica de alimentación precisa con gallos adultos), los investigadores determinaron un daño más severo del calentamiento sobre el aporte de lisina digestible, ya que la fracción digestible de la misma decreció del 80 al 51 % en las pastas con mayor y menor tiempo de cocción, respectivamente; la diferencia fue más marcada, cuando se comparó la lisina digestible remanente analizada

en la pasta procesada por 90 min contra la lisina en la pasta sin procesar en el autoclave, con una reducción en su digestibilidad del 46 %.

En los otros aminoácidos, esos mismos autores reportaron que el coeficiente de digestibilidad verdadera de la arginina bajó en 16 unidades porcentuales conforme se aplicó mayor tiempo de cocción; la digestibilidad en treonina, cistina, metionina, leucina y arginina disminuyó con 30 min de cocción; mientras que con 60 min de calentamiento, la digestibilidad bajó en cistina, leucina y arginina; solamente las fracciones de arginina y cistina digestibles continuaron bajando después de 90 min de procesamiento. No se observó una respuesta consistente por efecto del tratamiento térmico en la digestibilidad de isoleucina, fenilalanina y valina.

La fabricación comercial de pasta de girasol fue evaluada por Zhang y Parsons (1994), en un experimento de ese trabajo se simularon las condiciones de procesamiento aplicadas en el experimento anterior, para estimar el efecto del tiempo de calentamiento en la digestibilidad verdadera para aves de 16 aminoácidos. Con ello se determinó que el nivel de lisina digestible se deprimió en mayor grado de 86, 70, 67 a 60 % con 0, 30, 60 y 90 min en el autoclave, con respecto a lo sucedido en otros aminoácidos.

Los mismos investigadores (Zhang y Parsons; 1994) realizaron cálculos de digestibilidad de lisina con respecto a la lisina remanente en una pasta de girasol sin proceso térmico, con ello se detectó que los valores de lisina digestible fueron más bajos con 86, 54, 43 y 35 % con 0, 30, 60 y 90 min en el autoclave. El calentamiento de la pasta afectó en menor grado el coeficiente de digestibilidad de los otros aminoácidos evaluados; ya que con 30 min de procesamiento, únicamente la valina digestible fue afectada; en los otros aminoácidos ese mismo efecto se detectó en la pasta tratada por 60 min; por último, únicamente una diferencia fue encontrada en arginina digestible, ya que éste aporte continuó bajando cuando la pasta fue procesada a 90 min de cocción.

Los mismos investigadores, determinaron la solubilidad de la proteína de varios lotes de pasta de girasol calentada a distinto tiempo de cocción, con resultados que fluctuaron

entre 64 y 51 % en la pasta calentada entre 0 y 60 minutos, esos científicos recomendaron que la solubilidad de la proteína debe ser igual o menor al 60 % en pasta de girasol, lo que se relacionó con un adecuado calentamiento.

En otro experimento (Wang y Parsons, 1997) se compararon varios métodos de procesamiento térmico empleados comercialmente aplicados a seis lotes harinas de pluma y dos harinas de pelo de cerdo, en los cuales se midió la temperatura y el tiempo de cocción y secado usados, para estimar el efecto del proceso sobre la calidad proteica de los ingredientes por medio de la medición de la concentración y digestibilidad de sus aminoácidos. Se encontró que la concentración de lantionina en la harina de pelo de cerdo siempre fue mayor que la contenida en la harina de plumas, que la harina de pelo de cerdo aporta mayor cantidad de lisina y arginina, pero menor de cistina que la harina de plumas.

En los casos donde fue posible establecer una comparación entre el sistema de procesado (algunas harinas se elaboraron con metodología única) dentro de un mismo tipo de harina pero de distinta casa comercial, se pudo comparar a dos harinas de plumas con diferente contenido de proteína fabricadas en condiciones similares de cocción, se observó que la harina con menor concentración proteica aportó una menor cantidad de aminoácidos totales, pero la digestibilidad de los mismos fue similar en ambas. Al comparar a seis harinas de plumas, se observó un aporte menor de valina, metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina, lisina, histidina y arginina digestibles en la harina secada a más temperatura y tiempo que las restantes.

En un trabajo de Anderson-Hafermann et al., (1993), se incorporó a dietas para pollos hasta los 17 días de edad, pasta de canola procesada en un autoclave a diferente tiempo de cocción, detectando que las aves alimentadas con la pasta sin calentar tuvieron mejor peso con 123 g. En cambio, en otro grupo que fue alimentado con el lote de pasta procesada con más tiempo de cocción, los pollos tuvieron una ganancia de peso de 70 g. Lo que indicó un efecto adverso del excesivo procesamiento sobre la digestibilidad de aminoácidos y crecimiento de las aves.

En otros experimentos de alimentación con pollos para carne, Zhang y Parsons (1994) evaluaron el efecto de someter a cocción en autoclave a pasta de girasol (0, 10, 20, 30, 40 y 60 min), demostrando que, se presenta un efecto lineal adverso sobre la ganancia de peso (131, 120, 123, 121, 112 y 110 g) en los pollos alimentados con las dietas a las que se incorporó a pastas procesadas térmicamente por más tiempo.

En un experimento con cerdos se determinó el coeficiente de digestibilidad verdadera de los aminoácidos esenciales, en tres harinas de carne y hueso (Parsons, 1995; citado por Pearl, 1995) tratadas a 110 y 140 °C por períodos similares de tiempo, contra un sistema de cocción (110 °C) que genera condiciones menos severas para las proteínas. Los resultados indicaron que en la harina procesada con el tratamiento más severo, el coeficiente de digestibilidad en los aminoácidos evaluados presentó una relación inversa con la intensidad del calor aplicado durante su cocción, ya que a mayor temperatura en contenido de aminoácidos digestibles siempre fue menor. El sistema considerado como menos dañino para los aminoácidos, demostró ser efectivo, ya que a pesar de que se empleó la misma temperatura que uno de los tratamientos anteriores, se pudo mejorar en la harina proteica el valor de la digestibilidad en sus aminoácidos. Los promedios fueron de 78, 81 y 89 % en las muestras de harinas procesadas a 140, 110 y 110 °C, respectivamente. Así mismo, cistina y lisina, fueron los aminoácidos que mostraron mayor variación en sus coeficientes de digestibilidad entre los tres métodos de cocción con 42, 52 y 71 %, y 81, 84 y 92 %, respectivamente.

11.7 Formulación a un perfil de aminoácidos digestibles.

La formulación de dietas con proteína ideal es una nueva opción que utiliza información de los coeficientes de digestibilidad de los aminoácidos aportados en las materias primas, inicialmente la formulación con base en aminoácidos digestibles estuvo limitada por la falta de información de los requerimientos de aminoácidos digestibles en aves y cerdos, hoy se cuenta con los requerimientos de aminoácidos digestibles para la producción de carne con pollos de engorda y cerdos (Baker , 1995a; Baker et al., 1997; NRC, 1998).

Por otra parte, contamos con una importante base de datos con los aportes de aminoácidos digestibles en una gran variedad de materias primas empleadas en la alimentación de no rumiantes (Mariscal et al., 1995; Degussa, 1997), con ello, se complementa la información requerida para la formulación a un perfil de aminoácidos digestibles.

La formulación empleando los coeficientes de digestibilidad de aminoácidos en las materias primas, considera la fracción digestible de cada uno de los aminoácidos que puede ser útil para el crecimiento animal; por ello este sistema de formulación incluye entre sus beneficios, el uso de materias primas de baja o pobre calidad (Fernández, 1996).

Al respecto en un trabajo experimental (Fernández et al., 1994) desarrollado con pollos de engorda, se comparó la sustitución de pasta de soya (fuente de proteína de buena calidad) por pasta de algodón (ingrediente de menor calidad), para estimar el efecto de su nivel de incorporación en el crecimiento de las aves. Para cubrir ese objetivo, se formularon dos dietas con el criterio de formulación que utiliza demandas nutritivas y aportes de ingredientes con valores de aminoácidos totales. Los resultados de la evaluación indicaron una pobre respuesta productiva en los pollos alimentados con la dieta que incluyó pasta de algodón, ya que éstos obtuvieron una ganancia de peso y una eficiencia alimenticia pobres, con un 40 % y un 35 % menos, respectivamente, que las logradas por los pollos que recibieron soya en su dieta, los resultados de producción concordaron con el nivel de baja calidad de la harinolina al emplear la formulación con aminoácidos totales.

En otro trabajo de los mismos investigadores (Fernández et al., 1995), se sustituyó parcialmente pasta de soya por cinco niveles de incorporación de pasta de algodón (0, 5, 10, 15 y 20 %), combinados con dos métodos de formulación, aminoácidos totales contra aminoácidos digestibles, utilizando 8 dietas experimentales. Los resultados indicaron que la formulación con base en aminoácidos totales logró que los pollos alimentados hasta con un 15 % de pasta de algodón, tuvieran la misma velocidad de crecimiento que los pollos testigos alimentados con pasta de soya, mientras que en el tratamiento en donde se incorporó

20 % de harinolina, las aves mostraron menor ganancia de peso y peor conversión alimenticia.

En cambio, cuando las dietas se formularon bajo un patrón de aminoácidos digestibles, los pollos alimentados con 20 % de harinolina igualaron la tasa de crecimiento mostrada por el grupo control alimentado con pasta de soya.

En otros trabajos realizados en México se han reportado resultados benéficos con la formulación práctica empleando el sistema de proteína ideal, como ejemplo de ello, citaremos los experimentos realizados con pollos de engorda en condiciones de producción comercial, primeramente determinando la respuesta productiva del pollo por efecto de la formulación a un perfil de aminoácidos digestibles (González Rubio et al., 1997); evaluando las demandas de aminoácidos azufrados digestibles (González Rubio et al., 1997a); además de determinar el efecto del uso de dos cereales diferentes como fuentes de energía en la formulación a proteína ideal (González Rubio et al 1997b).

En el caso de los cerdos, podemos citar los experimentos realizados para comparar cuatro distintas relaciones de aminoácidos (treonina, triptófano, metionina y cistina) con lisina digestible, contra la formulación tradicional a proteína total con cerdos en crecimiento (Sierra y Cuarón, 1995); o bien la determinación de las necesidades de lisina digestible en dietas elaboradas a proteína ideal en cerdos recién destetados (Sierra y Cuarón; 1995a); o lo ocurrido con cerdos en crecimiento, en donde se determinó el rango idóneo de lisina digestible en función de dietas altas y bajas en proteína (Castañeda et al., 1995).

12.0 Harina de pescado.

12.1 Antecedentes.

En 1938 se inició la producción de harina de pescado en México, cuando la primera planta para el procesado de atún, macarela y sardina, empleó para su elaboración los desechos resultantes del enlatado de esas especies. En las costas de Baja California, Baja California Sur y Sonora se ubican las principales zonas productoras de harina de pescado, además de las encontradas en algunas áreas del Golfo de México y Costas del Sur en el

Pacífico, hasta ahora la demanda nacional de la harina es mayor que la producción, por lo que el ingrediente se ha importado desde otros países (Corrales, 1988).

Prácticamente cualquier organismo marino de origen animal puede ser utilizado para fabricar harina de pescado, pero algunas especies son preferidas para la elaboración de la harina, esto aplica a especies atractivas comercialmente para el consumo humano.

La harina se elabora con pescados enteros, pero otras, se obtienen de la industria de enlatado al procesar los filetes de pescado para el consumo humano, y los subproductos de ese proceso se destinan a la elaboración de ese producto (Zaviezo, 1994).

De la producción mundial de harina de pescado, el 90 % de la misma se elabora con especies con un alto contenido de grasa como la anchoveta, el sábalo y la capelina, el 9 % de la producción de harina se fabrica con variedades de pescado blanco como la merluza y el bacalao y el 1 % restante se obtiene a partir de otros recursos como ballena y mariscos (Barlow y Windsor, 1984). La industria de alimentos balanceados para las distintas especies domésticas ha utilizado harina de pescado como fuente complementaria de proteína y aminoácidos esenciales (Ávila, 1986). Del total de producción de harina, las aves consumen el 58 %, los cerdos el 20 %, los rumiantes un 2.5 %, mientras que en acuicultura el 14 %, y el 5.5 % restante por otras especies (Barlow y Pike, 1992).

12.2 Características nutrimentales de la harina de pescado.

En años anteriores se mencionaba que una de las desventajas de la harina de pescado como alimento para animales, era la retahíla de factores que podían ser una fuente de variación en su concentración de proteína, entre los que podemos mencionar: a factores inherentes a la especie del pescado, su composición química, época de desove, la diversa y cambiante fauna de acompañamiento con la que se captura y los procesos a que son sometidos los desperdicios del pescado durante la fabricación de la harina, esto contribuyó a modificar la composición química de las harinas y por tanto su aporte nutrimental.

Sin embargo, al menos para las especies y plantas productoras de harina ubicadas en Baja California Sur, se ha mejorado de manera importante la calidad de las harinas, dado que se elaboran éstas a partir de desperdicios muy uniformes en su composición, es decir se evita incorporar fauna de acompañamiento, además de que se capturan a especies de pescado en épocas en donde no se presenta actividad reproductiva, esto permite obtener un producto a procesar con características más uniformes.

Así mismo, es recomendable que los interesados en el uso de harina, se involucren en los procesos aplicados a la misma (Abdo, 1994); lo que permitiría normar el criterio del usuario en relación con las condiciones de elaboración y permitir así tomar decisiones de donde adquirir aquellas con mejor calidad.

La harina de pescado es un polvo café que en condiciones normales posee un elevado nivel de proteína, con cantidades importantes de grasa y minerales principalmente calcio y fósforo (SECOFI, 1990), erróneamente algunas personas han relacionado la calidad de la harina de pescado a su color, lo cual no corresponde al valor alimenticio de la harina, ya que el color depende de la especie usada su elaboración, tamaño de partícula, época en la que se captura el pez o el alimento consumido por el pez antes de su captura (Abdo, 1994).

12.3 Harina de pescado como fuente de proteína.

Los cuadros con información de composición química de ingredientes, indican que los rangos en la concentración de proteína entre harinas de pescado pueden fluctuar entre el 60 y el 72 % (NRC, 1994); aunque se considera de manera convencional que en el ingrediente en cuestión puede contener casi siempre un nivel de proteína superior al 55 % (Ávila, 1986). Las harinas de pescado se elaboran con residuos del fileteado del pescado, que incluyen restos de piel, cabezas, colas, aletas, escamas, huesos y vísceras (Zaviezo, 1994). Por ello, los desperdicios deshidratados aportan en la harina proteína de buena calidad, que contiene aminoácidos esenciales (lisina, metionina y triptófano), además de cantidades importantes de minerales como el calcio, el fósforo y el selenio, una desventaja de las harinas de pescado es la posibilidad de transmitir olor y sabor a la carne y al huevo de las aves que consuman en sus dietas niveles de harina mayores al 10 % (Ávila, 1986). Al

respecto, Scott et al. (1973) recomiendan, no incorporar con la harina de pescado, más del 1 % de aceite de pescado a las dietas.

12.4 Mollerosina y harinas de pescado.

De conformidad con la temática del presente trabajo, se incluye una revisión sobre las posibles consecuencias de un proceso de cocción inadecuado de la harina de pescado, ya que en algunos casos y dependiendo de la magnitud de la temperatura y tiempo de exposición utilizados, se pueden inducir dos tipos de problemas, el primero de ellos, es similar a lo que sucede en otras materias primas, como consecuencia del sobrecalentamiento, ya que se puede reducir de manera importante la digestibilidad de los aminoácidos contenidos en ella (Wiseman et al., 1991), afectando negativamente sus propiedades alimenticias (Pérez-Mateos y Montero, 1997). El segundo problema que no se ha discutido hasta ahora, se presenta en harinas de pescado expuestas a condiciones extremas de temperatura y/o exposición a la misma, e inducir el problema de vómito negro en las aves.

El vómito negro puede afectar de manera indirecta la disponibilidad de los aminoácidos, ya que si tomamos en cuenta lo planteado por Sibbald (1987), quien señala que la presencia de micotoxinas en el alimento reduce el consumo voluntario, por lo que de manera indirecta esas sustancias afectan la disponibilidad de los nutrimentos para el animal. De igual forma la presencia de mollerosina en la harina de pescado, puede inducir el vómito negro, el cual trastorna el correcto funcionamiento del aparato digestivo, afectando la disponibilidad de los nutrimentos contenidos en el alimento.

El vómito negro es una enfermedad nutricional que afecta exclusivamente a las aves, sin importar el sexo, la edad, sistema de producción o antecedentes genéticos, esta enfermedad se ha relacionado con el consumo de harinas de pescado de mala calidad (excesivamente cocinadas o quemadas). La enfermedad es un problema internacional que afecta la producción comercial de aves, la industria de alimentos balanceados e industria de procesamiento de harinas de pescado, en nuestro continente, se han reportado casos de vómito negro en Brasil, Chile, Colombia, Ecuador, Estados Unidos, Guatemala, México,

Panamá, Perú y Venezuela (Flores et al., 1985). El vómito negro, se puede identificar por medio de necropsias por la presencia de úlceras sangrantes en la unión del proventrículo con la molleja y por la secreción negruzca y espesa (incorrectamente llamada vómito) en el pico de las aves al momento de su muerte (Rojo, 1984).

El agente causal de esta enfermedad nutricional ha sido aislado e identificado como mollerossina, se presume que el compuesto se produce por la reacción del grupo amino épsilon de lisina con el radical etil-imidazólico de histidina o histamina durante el procesamiento de las harinas de pescado con calor (Sugahara et al., 1988).

La mollerossina (2 amino 9-4 imidazolil-7 ácido azanonanoico), fue aislada de harinas de pescado sobrecalentadas (Masumura y Sugahara, 1985). Es una toxina presente en harinas, con altas concentraciones de histidina al ser procesadas a una temperatura elevada y, es dañina, ya que puede ocasionar más lesiones en la molleja que la histamina (Antillón, 1987). El mecanismo de acción de la mollerossina supone que, ésta actúa de modo similar a la histamina, en lo referente a su capacidad para inducir una hipersecreción ácida del proventrículo (Tarao et al., 1988); se cree que la toxina puede ser 10 veces más potente que ella para activar esa secreción (Sugahara y Osuna, 1994); ese mecanismo es activado por medio de los receptores de hidrógeno para la histamina (Ito et al., 1988). Al respecto, Leeson (1996) desarrolló una escala para evaluar el grado de erosión de las mollejas en pollos alimentados con harinas de pescado problema.

JUSTIFICACIÓN.

Las aves se caracterizan por su elevada capacidad reproductora, su alta velocidad de crecimiento y su alta eficiencia para transformar alimentos en tejidos, que posteriormente son utilizados para el consumo humano, por ello el papel del nutriólogo, es el de formular dietas con una concentración de nutrimentos muy cercana a las necesidades del animal y ofrecer el máximo de condiciones para reducir el desperdicio de materia y energía, tanto en el metabolismo como en las heces y orina.

El mercado oferta algunos de los aminoácidos esenciales en sus formas cristalinas, para formular dietas con un mejor balance de aminoácidos, reducir el exceso de proteína y la excreción de nitrógeno al medio ambiente, además de disminuir el desperdicio de energía por la deaminación de aminoácidos presentes en exceso en el organismo.

También se desperdicia proteína, cuando se ocasionan mermas en la digestibilidad de los aminoácidos, en particular en aquellas materias primas sobreprocesadas con calor y cuando involuntariamente se producen desequilibrios entre los aminoácidos teóricamente presentes en las dietas cuando se formula con aminoácidos totales, ya que si no se conoce que proporción de cada aminoácido en el alimento es potencialmente útil, no es factible alimentar con un mejor balance de aminoácidos, este es un problema de las normas para aves más recientes del NRC. Estos aspectos pueden corregirse parcialmente con la formulación a un perfil de aminoácidos digestibles; ya que con este sistema de formulación se ha demostrado, que se puede predecir un mejor desempeño en los animales (Rademacher et al., 1999) y se puede incorporar materias primas a las dietas de aves que en épocas anteriores no era posible considerar (Fernández et al., 1995).

La formulación a un patrón de aminoácidos digestibles tiene un impacto benéfico mayor cuando se emplean ingredientes de mediana a baja calidad, por ello se buscó en el presente trabajo, el daño térmico de las proteínas en una harina de pescado de sardina comercial y estimar el efecto del tiempo de calentamiento sobre los análisis químicos de la harina y la productividad del pollo de engorda. Además, contrastar el sistema de

formulación con aminoácidos digestibles contra el convencional propuesto por el NRC basando en aminoácidos totales. También, evaluar tres técnicas *in vitro* para medir la digestibilidad de la proteína y establecer cual de ellas, estima de mejor manera lo ocurrido con la digestibilidad proteica medida *in vivo*. Así mismo, una técnica *in vitro* fue seleccionada (digestibilidad con pepsina por el método de ninhidrina) por ser un método que requiere un tiempo de incubación menor y fue contrastada, con la técnica que ha sido sugerida por la literatura (Parsons, 1991) por ser confiable para medir la calidad de los ingredientes proteicos de origen animal. Así mismo, la evaluación de esos ingredientes en el ámbito comercial debe ser inmediata, ya que se siguen buscando opciones que permitan tener un control de calidad rápido y confiable en las materias primas, como ha sido propuesto por algunos investigadores (Fernández y Parsons, 1993; Leeson, 1996).

OBJETIVOS.

Objetivos generales.

Evaluar la calidad proteica para el pollo de engorda de la harina de pescado de sardina crinuda comercial calentada en autoclave a diferentes tiempos.

Determinar si la formulación a un perfil de aminoácidos digestibles mejora la respuesta productiva del pollo de engorda cuando se incorpora a sus dietas harina de pescado dañada en distinto grado con calor.

Objetivos particulares.

Cuantificar mediante análisis químicos y pruebas de digestibilidad, la concentración y digestibilidad verdadera de los aminoácidos en una harina de pescado calentada en autoclave a distinto tiempo.

Evaluar si el perfil y la digestibilidad verdadera de los aminoácidos en la harina de pescado de sardina comercial se modifican con el tiempo de tratamiento térmico.

Establecer si existe una relación de tres técnicas para medir la digestibilidad de proteína *in vitro* con la digestibilidad promedio de los aminoácidos esenciales determinada con una técnica de digestibilidad *in vivo*.

Conocer la respuesta productiva del pollo de engorda alimentado con dietas a las que se les incorporó parcialmente a niveles de tipo práctico la harina de pescado sujeta a distinto tiempo de cocción elaboradas con dos métodos de formulación.

HIPÓTESIS.

La calidad proteica de la harina de pescado es diferente cuando se procesa a distinto tiempo de cocción.

Se induce una mejora productiva en el pollo de engorda, cuando se incorpora parcialmente a su alimento harina de pescado dañada con calor, si se formulan sus dietas con un perfil de aminoácidos digestibles.

El perfil analizado y la digestibilidad de los aminoácidos de una harina de pescado comercial son diferentes cuando es procesada a distinto tiempo de cocción.

La digestibilidad verdadera de los aminoácidos contenidos en la harina de pescado comercial se reduce conforme se incrementa el tiempo de su calentamiento en un autoclave por más de 30 minutos.

Existe una relación entre el coeficiente de digestibilidad verdadera promedio de los aminoácidos esenciales determinado *in vivo* con la digestibilidad de la proteína determinada con una técnica *in vitro*.

La respuesta productiva del pollo de engorda es más eficiente cuando se alimenta con dietas formuladas con base en aminoácidos digestibles.

MATERIAL Y MÉTODOS.

1.0 Materia prima.

1.1 Origen de la harina de pescado.

La harina utilizada en el presente trabajo se obtuvo en la Planta Conservera San Carlos S.A. de C.V., ubicada en el puerto del mismo nombre en la costa del Pacífico, a 266 km al norte de la ciudad de La Paz, B.C.S. La fábrica produce pescado enlatado de atún o sardina para consumo humano, puede procesar 17 toneladas por hora de desperdicios de pescado generando como producto final la harina.

2.0 Elaboración de la harina de pescado con sardina.

La harina de pescado evaluada se elaboró a partir de sardina crinuda (*Opisthonema libertate*), que fue capturada en el pacífico, a partir de residuos crudos de cabezas, espinazos, colas y vísceras.

2.1 Pre-triturado y cocción.

Las cabezas, vísceras y restos óseos se reducen a pequeñas partículas con el fin de facilitar el manejo durante su procesado, empleando un molino de martillos. Durante la cocción se realiza la esterilización, coagulación de proteínas y la liberación parcial de lípidos, los residuos de sardina se someten a un proceso de cocción con calor indirecto del vapor de agua por 20 minutos a una temperatura de 85 °C.

2.2 Molienda.

Para lograr un deshidratado final más uniforme y menos severo, los "terrones" o torta que es el producto a partir de la que se elabora la harina, son pulverizados empleando un molino de martillos, la molienda utilizada en esta etapa permite además una mayor superficie de contacto al calor para facilitar el proceso de secado.

2.3 Secado.

El proceso de deshidratado tiene como finalidad el reducir la proliferación de microorganismos. En esta etapa se requiere del empleo de túneles secadores, estos están constituidos de cilindros enchaquetados (doble pared) que generan calor indirecto empleando vapor de agua. La harina de pescado utilizada en este experimento se secó a una temperatura de 50 °C, aplicada por 19 minutos. Con el secado final, la harina contiene como máximo 10 % de humedad, esto incrementa su vida de anaquel.

2.4 Molienda final de la harina.

Algunas espinas, vértebras y otras partículas de tamaño grande que aún permanecen presentes en el producto seco deben ser molidas. En la molienda se empleó un molino de martillos, y redujó el material a un polvo más homogéneo, sin elementos extraños, de aspecto agradable, que puede manejarse, pesarse, embazarse, transportarse y mezclarse fácilmente.

2.5 Adición de antioxidantes.

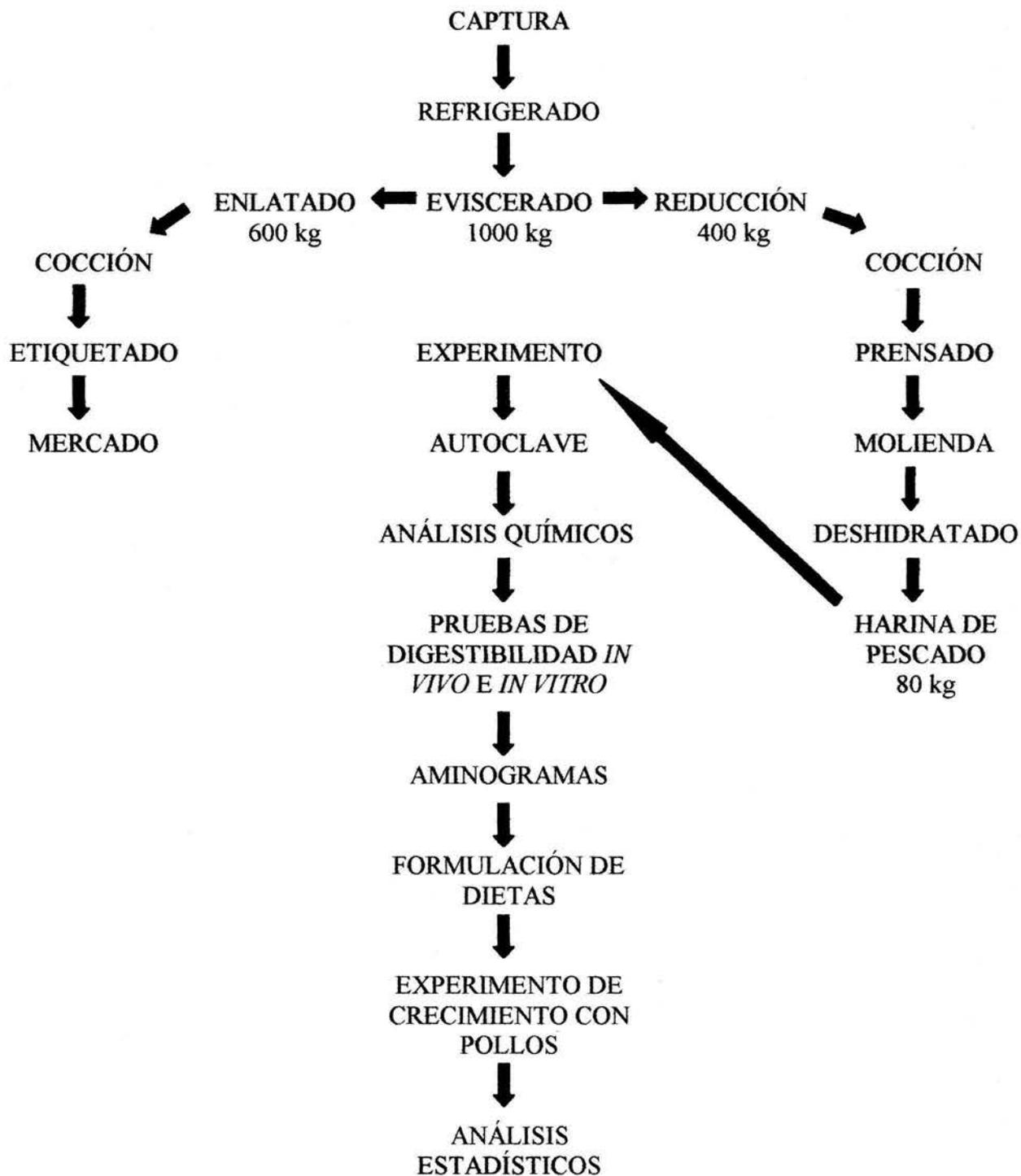
Por el contenido de lípidos de las harinas de pescado, es recomendable adicionar antioxidantes, generalmente se emplea butilato de hidroxianisol (BHA) y/o butilato de hidroxitolueno (BHT), los que se agregan a la harina terminada diluidos en agua por medio de su mezclado con la misma.

En la Figura 3 se muestra el diagrama de la metodología realizada para el estudio de la harina de sardina comercial sometida a diferente tiempo de cocción. El material fue utilizado en las pruebas de digestibilidad verdadera de los aminoácidos.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

FIGURA 3.

**DIAGRAMA DE LA METODOLOGÍA EMPLEADA EN EL PROCESO
DE ELABORACIÓN DE LA HARINA DE SARDINA
Y PRUEBAS EXPERIMENTALES CON AVES**



3.0 Manejo de la harina de pescado experimental.

La harina de pescado de sardina utilizada se trasladó desde la planta productora a la ciudad de La Paz, el mismo día de su fabricación, se almacenó en la planta de alimentos balanceados de la UABCS en una habitación seca, a una temperatura máxima de 12 °C, antes de los muestreos se mezcló a 10 sacos (450 kg) de harina por cinco minutos en una mezcladora horizontal de listones con capacidad nominal de 500 kg,

Las muestras utilizadas en las pruebas de digestibilidad y análisis químico de la harina, se tomaron directamente de la mezcladora en partes iguales empleando una bayoneta de muestreo, una muestra general de la harina se dividió en submuestras iguales por medio del método de cuarteo (Tejada, 1983). Después, la harina se depositó en una bolsa de plástico (un kilogramo por bolsa), éstas se introdujeron en lotes de 9 bolsas a un autoclave automática equipada con termostato y reloj electrónicos para su cocción por 30, 60 y 90 min a una temperatura de 121 °C y una presión de 1 kg/cm².

4.0 Análisis químicos.

4.1 Análisis Químico Proximal.

El Análisis Químico Proximal (Tejada, 1983) se realizó por triplicado a todos los lotes de harina determinando: materia seca, proteína cruda, cenizas, extracto etéreo y fibra cruda.

4.2 Nitrógeno amoniacal.

La determinación de nitrógeno amoniacal empleando un electrodo de amoníaco (Tejada, 1983), es un indicador del grado de frescura de materias primas de origen animal, sirve como parámetro que muestra de manera indirecta la hidrólisis bacteriana y enzimática que puede ocurrir en las proteínas alimenticias, es decir la técnica mide el grado de descomposición de las proteínas en las harinas de carne o pescado. El nitrógeno amoniacal es un indicador del grado de deterioro del pescado durante su almacenamiento antes de elaborar la harina. La degradación del pescado, depende del tiempo y

temperatura de almacenamiento, la especie del pescado y si éste tuvo comida en el tracto digestivo al momento de su captura (Abdo, 1994).

4.3 Aminoácidos.

Los análisis químicos de los aminoácidos fueron realizados por la compañía DEGUSSA en Alemania, empleando cromatografía líquida de alta resolución, la descripción de las muestras que fueron analizadas se hace más adelante.

5.0 Experimento 1: Determinación *in vivo* de la digestibilidad verdadera de los aminoácidos, método de Sibbald para energía metabolizable verdadera.

El experimento se realizó en las instalaciones de la granja Veracruz de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, para determinar la digestibilidad verdadera de los aminoácidos en una harina de pescado, calentada en autoclave por 0, 30, 60 y 90 minutos, en este ensayo se empleó la técnica de alimentación precisa descrita por Sibbald (1984).

Para medir la digestibilidad verdadera de los aminoácidos y recuperar el material endógeno, se utilizaron 16 gallos adultos Leghorn con un peso promedio de 2.400 kg. (12 experimentales y 4 testigos), cada gallo se alojó individualmente en una jaula de acero inoxidable equipada en la parte inferior con una charola forrada de plástico para facilitar la colecta de heces y orina.

Posteriormente, los gallos experimentales permanecieron en ayuno de alimento por un período de 24 horas, pero recibieron agua a libre acceso durante todo el experimento. Después de ese período de ayuno, se inició la prueba de digestibilidad, en la que se utilizaron tres gallos (repeticiones) por cada tratamiento o tiempo de cocción (0, 30, 60 y 90 minutos) en el autoclave, cada animal recibió 30 g de harina.

Para corregir el cálculo de los coeficientes de digestibilidad verdadera de los aminoácidos, se colectó el material endógeno de cuatro gallos testigos en ayunas que fueron excluidos de la prueba de alimentación precisa.

Las excretas (heces y orina) de los gallos se colectaron individualmente empleando hojas de plástico colocado en la parte inferior de cada jaula, la colecta se realizó después de 48 horas. Al final de la prueba de digestibilidad y de la colecta de heces y orina, las excretas tanto de los gallos alimentados con harina de pescado como de los testigos, permanecieron sobre mesas en un laboratorio para su deshidratación a temperatura ambiente.

Una vez deshidratadas, las excretas se limpiaron manualmente para separar residuos de plumas y escamas, empleando la técnica “del globo” (Ávila, comunicación personal), que consistió en utilizar las cargas electrostáticas de un globo después de que éste fue frotado en el cabello de la cabeza, esto permitió atraer y separar con mayor eficiencia los residuos que no pertenecen a las excretas ni al material endógeno.

Muestras en las que se determinó el contenido de aminoácidos.

a.- Harinas de pescado.

Se analizó por triplicado a cuatro lotes de harina de pescado, un testigo (0 minutos) y tres procesados en el autoclave (30, 60 y 90 minutos).

b.- Excretas de los gallos experimentales.

Se analizaron las excretas de los cuatro tratamientos con tres repeticiones cada uno.

c.- Material endógeno.

El material endógeno colectado de los cuatro gallos testigo, se mezcló para generar dos muestras de dos repeticiones cada una.

Para la determinación química de los aminoácidos esenciales (excepto el triptófano) en las harinas de pescado y en las excretas de los gallos se utilizó cromatografía líquida

de alta resolución, mediante la oxidación previa e hidrólisis ácida de los aminoácidos azufrados e hidrólisis del resto de los aminoácidos (A.O.A.C., 1990). La digestibilidad verdadera de cada aminoácido analizado se calculó de acuerdo a lo propuesto por Likuski y Dorell (1978) empleando la siguiente fórmula:

$$CDV = \frac{CAC - (CAE - CAEE)}{CAC} \times 100$$

en donde:

CDV = Coeficiente de digestibilidad verdadera.
 CAC = Cantidad del aminoácido consumido.
 CAE = Cantidad del aminoácido excretado.
 CAEE = Cantidad del aminoácido endógeno excretado.

Los resultados se evaluaron estadísticamente entre tratamientos conforme a un diseño completamente al azar, también se empleó un análisis de regresión para estimar las tendencias en la digestibilidad verdadera de los aminoácidos (SAS, 1994).

6.0 Experimento 2: Técnicas *in vitro* para medir la digestibilidad de proteína en las harinas de pescado.

6.1 Digestibilidad de proteína en pepsina.

6.1.1 Determinación de la digestibilidad de proteína con pepsina por el método de filtración.

Esta técnica requiere de un medio ácido para la actividad de la enzima pepsina y lograr la determinación de la digestibilidad de proteínas, ésta se recomienda para determinar el valor alimenticio de las fuentes proteicas de origen animal (Tejada, 1983). La digestibilidad de proteína con pepsina en ingredientes proteicos de origen animal es sugerida como una opción alterna a las pruebas de digestibilidad *in vivo* (Parsons, 1991), con potencial para la evaluación de ingredientes para la alimentación de aves. La técnica tiene como limitante para la industria de alimentos, el tiempo de incubación de la pepsina (16 horas) (AOAC, 1990). La concentración de pepsina es importante para obtener

resultados correctos, por ello en el presente estudio se empleó la concentración de enzima sugerida por Parsons (1991).

6.1.2 Determinación de la digestibilidad de proteína con pepsina, por el método de ninhidrina.

En las plantas de alimentos balanceados es deseable contar con técnicas de laboratorio rápidas, que permitan medir el nivel de calidad de las materias primas que se reciben, para castigar su precio o en su caso rechazarlas. Por ello, se consideró importante evaluar esta técnica para medir la digestibilidad de proteína con pepsina, como una técnica alterna a la de pepsina con filtración, ya que con el método de ninhidrina (Kabat y Mayer, 1968), se emplea un tiempo de incubación de sólo 30 minutos, contra las 16 horas del método de pepsina por filtración. La técnica mide los grupos alfa amino liberados durante la digestión, se empleó en la determinación una concentración de enzima de 6 mg/ml, a una temperatura de incubación de 37 °C. Para detener la actividad de la enzima al final de la prueba, ésta se inactivó térmicamente a 100 °C por 5 minutos. La cuantificación de los grupos alfa amino se midió por medio de absorbancia a 570 nm con un espectrofotómetro (Espectroni 2000). Además se midió la concentración de péptidos de bajo peso molecular en el sobrenadante de los hidrolizados con pepsina, midiendo la fracción no precipitable de proteína en ácido tricloroacético (TCA), teóricamente esta determinación debe seguir una patrón similar a la digestibilidad de la proteína en los tratamientos, la absorbancia a 280 nm fue medida en un espectrofotómetro Bekman DU-640. Así mismo, esta misma técnica (TCA) se utilizó para medir la concentración de péptidos de alto peso molecular en las harinas procesadas en el autoclave, para determinar si existían diferencias en la fracción proteica de las harinas por efecto del tratamiento térmico antes de iniciar las pruebas de digestibilidad.

6.1.3 Determinación de proteína digestible con el método pH Stat modificado.

El método de pH Stat al igual que la técnica mulienzimática (Hsu et al., 1977), se basa en el principio de incubación del ingrediente a evaluar en una suspensión que contiene distintas enzimas proteicas, tripsina, quimotripsina y peptidasa. Al inicio de la prueba la solución se estabiliza a un pH de 8.0. La digestión de la proteína se mide

indirectamente por los cambios en el pH de la solución, con la ruptura de los enlaces peptídicos, los grupos carboxilo liberados desprenden un hidrógeno (Parsons, 1991) por lo que el pH se acidifica paulatinamente; la incubación se debe estabilizar a los 10 minutos de digestión (Fuller, 1991). Existe una relación directa entre el descenso del pH y la digestibilidad de la proteína evaluada. En este experimento se determinó la proteína digestible en las harinas de pescado con distinto grado de cocción, con la técnica modificada, ya que el pH inicial de la solución fue de 7.6, se utilizó caseína para constatar que con el pH inicial se obtendrían resultados confiables, lo cual se confirmó al obtener un 100 % de digestibilidad en esa fuente de proteína. Otra modificación de la técnica consistió en que se empleó únicamente tripsina porcina para el desarrollo de la digestión, la concentración utilizada de la enzima fue de 2 mg/ml, y la temperatura de incubación de 25 °C, el pH se midió con un potenciómetro (Cole Palmer 15000) cada minuto durante los 10 minutos de la prueba. Para la cuantificación de los resultados se empleó el método de Hsu et al. (1977).

7.0 Fracción soluble de proteína medida con la técnica de Bradford.

La técnica de Bradford (1976) fue propuesta como una técnica alterna para medir el grado de procesamiento térmico en los ingredientes proteicos, ha sido empleada para evaluar a ingredientes de origen vegetal (Fernández y Parsons, 1993; Fernández et al., 1993), por ello se empleó como una prueba de laboratorio complementaria para medir la solubilidad de la proteína en las harinas de pescado procesadas con calor en el presente trabajo experimental. Se empleó como reactivo BIORAD®, la absorbancia a 595 nm se midió por medio de un espectrofotómetro Bekman DU 640.

8.0 Experimento 3: Prueba biológica de crecimiento.

8.1 Localización.

La prueba de crecimiento con pollos se realizó en la caseta para pollo de engorda de la unidad avícola de la Universidad Autónoma de Baja California Sur

8.2 Caseta y equipo.

Los pollos se alojaron en una caseta para engorda con piso de cemento, techo de lámina de dos aguas con linternilla en el centro y cortinas abatibles a lo largo de la misma para control de la ventilación y temperatura. La caseta se lavó con detergente, desinfectó con cloro y al final encalada. El equipo se lavó con detergente y fue desinfectado con agua y cloro.

Se utilizó como cama viruta de madera, en la recepción de los pollos y para mantener la temperatura recomendada para cada etapa del ciclo productivo, se emplearon criadoras a gas. Para cubrir los criterios del diseño experimental, se construyeron 48 corrales de 2.00 X 1.50 m, con fajilla de madera (2.5 cm X 5 cm) y malla pajarera de 1 cm de diámetro. Los corrales se equiparon con bebederos y comederos de iniciación y finalización similares, su altura se fue ajustando de acuerdo a la edad de los pollos.

8.3 Animales y manejo.

Se usaron 960 pollos de engorda de la línea Shaver sin sexar (de una casa incubadora comercial) de dos días de edad, con un peso promedio de 53 g al inicio del experimento, no se aplicaron vacunas. Se cuidó la temperatura por medio de termómetros de máximas y mínimas, se llevó un registro diario del alimento servido en los comederos, y cada 7 días se midió el consumo así como el incremento de peso en los animales. La mortalidad se registró al momento que ocurría y se ajustaron los registros de consumo de alimento.

8.4 Dietas experimentales.

Se formularon dietas de tipo práctico por medio de programación lineal empleando el programa Brill Corporation (V.7), se determinó el aporte de proteína cruda en los

ingredientes por el método Kjeldahl (A.O.A.C., 1990), el aporte de aminoácidos y los respectivos coeficientes de digestibilidad para el grano de maíz, pasta de soya y pasta de ajonjolí se obtuvieron de los cuadros publicados por Mariscal et al. (1995). La harina de sardina procesada en el autoclave (0, 30, 60 y 90 minutos) se incorporó a las dietas a niveles de 6, 4 y 2.66 % en tres etapas de acuerdo a la edad de los pollos, iniciación, 0 a 21 días; crecimiento 22 a 35 días; y desarrollo, 36 a 42 días respectivamente, utilizando los datos de aminoácidos y coeficientes de digestibilidad verdadera obtenidos.

Durante la etapa de iniciación se mezcló una cantidad de alimento para el consumo esperado en dos días, en las etapas restantes la cantidad necesaria para una semana. La composición de las dietas utilizadas en el experimento 3 y el análisis calculado de las mismas se muestran en los Cuadros 4, 5 y 6.

CUADRO 4.

DIETAS EMPLEADAS PARA INCORPORAR HARINA DE SARDINA PROCESADA
EN AUTOCLAVE, ETAPA DE INICIACIÓN: 0 A 21 DÍAS

(EXPERIMENTO 3)

| Ingredientes (%) | Tiempo en el autoclave ^a (min) | | | | | | | |
|------------------------------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 0 | | 30 | | 60 | | 90 | |
| | T | D | T | D | T | D | T | D |
| Maíz | 59.50 | 59.56 | 59.53 | 59.55 | 59.51 | 59.50 | 59.51 | 59.53 |
| Pasta de soya | 28.38 | 28.37 | 28.36 | 28.35 | 28.38 | 28.38 | 28.39 | 28.38 |
| Harina de pescado | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00 |
| Aceite de soya | 2.83 | 2.81 | 2.83 | 2.82 | 2.83 | 2.83 | 2.83 | 2.82 |
| Carbonato de calcio | 1.43 | 1.43 | 1.43 | 1.43 | 1.43 | 1.43 | 1.43 | 1.43 |
| Ortofosfato de calcio | 0.88 | 0.88 | 0.88 | 0.88 | 0.88 | 0.88 | 0.88 | 0.88 |
| Vitaminas y minerales ^b | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 |
| Sal | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 |
| DL-Metionina | 0.18 | 0.15 | 0.18 | 0.16 | 0.17 | 0.17 | 0.17 | 0.16 |
| ANÁLISIS CALCULADO: | | | | | | | | |
| Proteína. Cruda % | 22.00 | 22.00 | 22.00 | 22.00 | 22.00 | 22.00 | 22.00 | 22.00 |
| EM Kcal/kg. | 3050 | 3050 | 3050 | 3050 | 3050 | 3050 | 3050 | 3050 |
| Lisina total % | 1.23 | 1.23 | 1.23 | 1.23 | 1.23 | 1.24 | 1.25 | 1.25 |
| Lisina digestible % | 1.11 | 1.10 | 1.10 | 1.10 | 1.09 | 1.10 | 1.10 | 1.10 |
| Metionina total % | 0.50 | 0.41 | 0.49 | 0.45 | 0.50 | 0.43 | 0.50 | 0.42 |
| Metionina digestible % | 0.47 | 0.38 | 0.46 | 0.39 | 0.46 | 0.39 | 0.46 | 0.38 |
| Cistina total % | 0.40 | 0.44 | 0.40 | 0.45 | 0.40 | 0.45 | 0.40 | 0.45 |
| Cistina digestible % | 0.35 | 0.39 | 0.34 | 0.39 | 0.33 | 0.38 | 0.33 | 0.39 |
| Metionina + cistina % | 0.90 | 0.88 | 0.90 | 0.87 | 0.89 | 0.87 | 0.90 | 0.89 |
| Met + Cis digestibles % | 0.82 | 0.78 | 0.80 | 0.78 | 0.79 | 0.77 | 0.79 | 0.77 |
| Arginina total % | 1.42 | 1.41 | 1.44 | 1.44 | 1.42 | 1.42 | 1.42 | 1.42 |
| Arginina digestible % | 1.30 | 1.30 | 1.31 | 1.31 | 1.28 | 1.28 | 1.28 | 1.28 |
| Treonina total % | 0.85 | 0.85 | 0.85 | 0.85 | 0.86 | 0.86 | 0.87 | 0.87 |
| Treonina digestible % | 0.76 | 0.76 | 0.75 | 0.75 | 0.75 | 0.75 | 0.76 | 0.76 |
| Triptófano total % | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.26 | 0.26 | 0.26 | 0.26 |
| Triptófano digestible % | 0.23 | 0.23 | 0.28 | 0.23 | 0.23 | 0.23 | 0.23 | 0.23 |
| Calcio % | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| Fósforo disponible % | 0.45 | 0.45 | 0.45 | 0.45 | 0.45 | 0.45 | 0.45 | 0.45 |

^a A una temperatura de 121 °C y 1kg/cm² de presión.

T Formulación según el NRC, 1994.

D Formulación con la media del requerimiento de aminoácidos digestibles para aves de ambos sexos (Baker, 1997).

^b Concentración por kg de alimento: Vitaminas: A, 8000 UI; D₃, 5000 UI; E, 3.3 UI; B₁₂, 10 mg; Riboflavina, 7 mg; K₃, 1.7 mg; Niacina, 17 mg; Pantotenato de calcio, 6.6 mg; Cloruro de colina, 167 mg. Minerales: Zinc, 67 mg; Hierro, 55 mg; Cobre, 4 mg; Manganeso, 67 mg; Yodo, 0.6 mg; Selenio, 0.15 mg.

CUADRO 5.

DIETAS EMPLEADAS PARA INCORPORAR HARINA DE SARDINA PROCESADA
EN EL AUTOCLAVE, ETAPA DE CRECIMIENTO: 22 A 35 DIAS

(EXPERIMENTO 3)

| Ingredientes (%) | Tiempo en el autoclave ^a (min) | | | | | | | |
|------------------------------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 0 | | 30 | | 60 | | 90 | |
| | T | D | T | D | T | D | T | D |
| Maiz | 67.49 | 68.04 | 67.52 | 67.47 | 67.50 | 67.44 | 67.51 | 67.46 |
| Pasta de soya | 20.66 | 18.78 | 20.44 | 19.24 | 20.57 | 19.69 | 19.79 | 19.02 |
| Pasta de ajonjolí | 4.34 | 6.27 | 4.56 | 5.88 | 4.43 | 5.41 | 5.28 | 6.13 |
| Harina de pescado | 4.00 | 4.00 | 4.00 | 4.00 | 4.00 | 4.00 | 4.00 | 4.00 |
| Carbonato de calcio | 1.32 | 1.20 | 1.31 | 1.25 | 1.31 | 1.27 | 1.27 | 1.23 |
| Aceite de soya | 0.83 | 0.59 | 0.82 | 0.80 | 0.82 | 0.82 | 0.80 | 0.79 |
| Ortofosfato de calcio | 0.64 | 0.39 | 0.64 | 0.63 | 0.64 | 0.63 | 0.63 | 0.63 |
| Vitaminas y minerales ^b | 0.40 | 0.40 | 0.40 | 0.40 | 0.40 | 0.40 | 0.40 | 0.40 |
| Sal | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 |
| DL-Metionina | 0.02 | 0.03 | 0.01 | 0.04 | 0.01 | 0.04 | 0.004 | 0.03 |
| ANALISIS CALCULADO: | | | | | | | | |
| Proteína cruda % | 20.00 | 20.00 | 20.00 | 20.00 | 20.00 | 20.00 | 20.00 | 20.00 |
| EM Kcal/kg. | 3050 | 3050 | 3050 | 3050 | 3050 | 3050 | 3050 | 3050 |
| Lisina total % | 1.00 | 0.97 | 1.00 | 0.98 | 1.00 | 0.95 | 1.00 | 0.99 |
| Lisina digestible % | 0.90 | 0.87 | 0.89 | 0.87 | 0.88 | 0.87 | 0.88 | 0.87 |
| Metionina total % | 0.37 | 0.38 | 0.38 | 0.38 | 0.38 | 0.38 | 0.38 | 0.39 |
| Metionina digestible % | 0.35 | 0.32 | 0.34 | 0.32 | 0.34 | 0.32 | 0.35 | 0.32 |
| Cistina total % | 0.33 | 0.35 | 0.34 | 0.37 | 0.33 | 0.36 | 0.34 | 0.36 |
| Cistina digestible % | 0.28 | 0.33 | 0.28 | 0.33 | 0.27 | 0.33 | 0.28 | 0.33 |
| Met + cis % | 0.71 | 0.74 | 0.72 | 0.75 | 0.71 | 0.75 | 0.72 | 0.75 |
| Met + cis digestible % | 0.63 | 0.65 | 0.63 | 0.65 | 0.68 | 0.65 | 0.63 | 0.65 |
| Arginina total % | 1.32 | 1.34 | 1.34 | 1.36 | 1.32 | 1.33 | 1.33 | 1.35 |
| Arginina digestible % | 1.21 | 1.23 | 1.22 | 1.24 | 1.20 | 1.21 | 1.21 | 1.21 |
| Treonina total % | 0.76 | 0.75 | 0.76 | 0.76 | 0.76 | 0.76 | 0.77 | 0.77 |
| Treonina digestible % | 0.67 | 0.67 | 0.67 | 0.67 | 0.67 | 0.67 | 0.68 | 0.67 |
| Triptófano total % | 0.23 | 0.23 | 0.23 | 0.23 | 0.23 | 0.23 | 0.23 | 0.23 |
| Triptófano digestible % | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 0.20 |
| Calcio % | 0.90 | 0.85 | 0.89 | 0.90 | 0.90 | 0.90 | 0.90 | 0.90 |
| Fósforo disponible % | 0.35 | 0.35 | 0.35 | 0.35 | 0.35 | 0.35 | 0.35 | 0.35 |

^a A una temperatura de 121 °C y 1 kg/cm² de presión.

T Formulación según el NRC, 1994.

D Formulación con la media del requerimiento de aminoácidos digestibles para aves de ambos sexos (Baker, 1997).

^b Concentración por kg de alimento: Vitaminas: A, 6500 UI; D₃, 4000 UI; E, 3.3 UI; B₁₂, 8 mg; Riboflavina, 5 mg; K₃, 1.3 mg; Niacina, 13 mg; Pantotenato de calcio, 5.3 mg; Cloruro de colina, 133 mg; Minerales: Zinc, 53 mg; Hierro, 44 mg; Cobre, 3.2 mg; Manganeso, 53 mg; Yodo, 0.5 mg; Selenio, 0.12 mg.

CUADRO 6.

DIETAS EMPLEADAS PARA INCORPORAR HARINA DE SARDINA PROCESADA
EN AUTOCLAVE, ETAPA DE FINALIZACIÓN: 36 A 42 DIAS

(EXPERIMENTO 3)

| Ingredientes (%) | Tiempo en el autoclave ^a (min) | | | | | | | |
|------------------------------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 0 | | 30 | | 60 | | 90 | |
| | T | D | T | D | T | D | T | D |
| Maíz | 74.69 | 71.93 | 76.07 | 73.17 | 72.36 | 72.55 | 72.65 | 67.46 |
| Pasta de soya | 17.92 | 15.64 | 18.11 | 16.46 | 16.84 | 16.51 | 11.47 | 19.02 |
| Pasta de ajonjolí | 1.29 | 6.35 | ---- | 4.25 | 4.67 | 4.79 | 10.02 | 6.13 |
| Harina de pescado | 2.66 | 2.66 | 2.66 | 2.66 | 2.66 | 2.66 | 2.66 | 2.66 |
| Carbonato de calcio | 1.40 | 1.17 | 1.32 | 1.25 | 1.26 | 1.23 | 0.98 | 1.23 |
| Aceite de soya | 0.70 | 1.00 | 0.47 | 0.87 | 0.97 | 0.95 | 0.86 | 0.79 |
| Ortofosfato de calcio | 0.63 | 0.55 | 0.64 | 0.60 | 0.55 | 0.59 | 0.56 | 0.63 |
| Vitaminas y minerales ^b | 0.40 | 0.40 | 0.40 | 0.40 | 0.40 | 0.40 | 0.40 | 0.40 |
| Sal | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 |
| DL-Metionina | 0.006 | ---- | 0.03 | 0.03 | ---- | 0.01 | ---- | 0.03 |
| L-Lisina-HCl | ---- | ---- | 0.003 | 0.001 | ---- | ---- | 0.09 | ---- |
| L-Treonina | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | 0.02 |
| ANÁLISIS CALCULADO: | | | | | | | | |
| Proteína cruda % | 17.14 | 18.00 | 16.80 | 17.60 | 17.88 | 17.80 | 17.70 | 17.24 |
| EM Kcal/kg. | 3050 | 3050 | 3050 | 3050 | 3050 | 3050 | 3050 | 3050 |
| Lisina total % | 0.85 | 0.83 | 0.85 | 0.84 | 0.85 | 0.84 | 0.85 | 0.83 |
| Lisina digestible % | 0.76 | 0.74 | 0.75 | 0.74 | 0.75 | 0.74 | 0.75 | 0.74 |
| Metionina total % | 0.31 | 0.35 | 0.31 | 0.36 | 0.34 | 0.35 | 0.32 | 0.37 |
| Metionina digestible % | 0.29 | 0.32 | 0.28 | 0.32 | 0.31 | 0.32 | 0.29 | 0.34 |
| Cistina total % | 0.30 | 0.31 | 0.29 | 0.31 | 0.31 | 0.31 | 0.30 | 0.32 |
| Cistina digestible % | 0.24 | 0.26 | 0.24 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.24 | 0.26 |
| Met + cis % | 0.61 | 0.67 | 0.60 | 0.66 | 0.65 | 0.66 | 0.63 | 0.69 |
| Met + cis digestible % | 0.53 | 0.58 | 0.52 | 0.57 | 0.56 | 0.57 | 0.54 | 0.60 |
| Arginina total % | 1.07 | 1.21 | 1.04 | 1.16 | 1.18 | 1.17 | 1.10 | 1.23 |
| Arginina digestible % | 0.99 | 1.11 | 0.95 | 1.06 | 1.07 | 1.07 | 1.00 | 1.11 |
| Treonina total % | 0.65 | 0.68 | 0.64 | 0.68 | 0.68 | 0.68 | 0.67 | 0.67 |
| Treonina digestible % | 0.58 | 0.60 | 0.56 | 0.59 | 0.59 | 0.59 | 0.59 | 0.58 |
| Triptófano total % | 0.19 | 0.20 | 0.18 | 0.19 | 0.20 | 0.20 | 0.19 | 0.20 |
| Triptófano digest. % | 0.17 | 0.18 | 0.16 | 0.17 | 0.18 | 0.18 | 0.17 | 0.18 |
| Calcio % | 0.80 | 0.80 | 0.75 | 0.80 | 0.80 | 0.80 | 0.80 | 0.80 |
| Fósforo disponible % | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.29 | 0.30 | 0.30 | 0.30 |

^a A una temperatura de 121 °C y 1 kg/cm² de presión.

T Formulación según el NRC, 1994.

D Formulación con la media del requerimiento de aminoácidos digestibles para aves de ambos sexos (Baker, 1997).

^b Concentración como se indica en el Cuadro 5.

8.5 Diseño experimental.

Los análisis de laboratorio realizados en los cuatro lotes de harina de pescado con distinto grado de cocción fueron: Análisis químico proximal (materia seca, cenizas, proteína cruda, fibra cruda y extracto etéreo) además de los análisis de nitrógeno amoniacal, fracción no precipitable de la proteína con ácido tricloro acético, concentración de péptidos de bajo peso molecular, así como los resultados obtenidos en la prueba de digestibilidad de proteína determinada con cada una de las técnicas *in vitro* e *in vivo* en las harinas de pescado procesadas en el autoclave se analizaron con un diseño completamente al azar con tres réplicas por tratamiento (SAS, 1994). Las medias obtenidas con las distintas técnicas empleadas para la determinación de la digestibilidad de la proteína con las técnicas *in vitro* e *in vivo* fueron comparadas empleando contrastes ortogonales (SAS, 1994), para determinar los coeficientes de correlación entre las técnicas empleadas para medir la digestibilidad de la proteína de las harinas *in vitro* con los resultados de digestibilidad medidos *in vivo*, se utilizó el paquete estadístico SAS (1994) bajo el mismo modelo indicado.

En la prueba de crecimiento, los pollos fueron distribuidos aleatoriamente en 8 tratamientos (dietas) de 6 repeticiones (corrales) con 20 aves cada una, en un diseño completamente al azar con un arreglo factorial (2 X 4). Uno de los factores fueron dos métodos de formulación, el primer método de acuerdo a lo propuesto por el NRC (1994) con aminoácidos totales (AT); el segundo método de formulación fue, Proteína Ideal propuesto por Baker (1997), con base en un perfil de aminoácidos digestibles (AD). El otro factor estudiado, fue el tiempo de cocción aplicado a la harina de pescado de sardina comercial en un autoclave por 0, 30, 60 y 90 minutos. De los factores estudiados se generaron las siguientes dietas experimentales, para el método AT: AT0, AT30, AT60 y AT90 y en el método AD: AD0, AD30, AD60 y AD90.

El análisis estadístico de los datos (variables dependientes) de ganancia de peso, consumo de alimento, eficiencia alimenticia y mortalidad (transformando su porcentaje a la proporción arcoseno; Snedecor y Cochran, 1982) se realizó con el paquete estadístico SAS (1994).

En los casos en donde se detectaron diferencias entre las medias de las variables de los tratamientos, se utilizó la prueba de Tukey (SAS, 1994) para su comparación.

8.6 Necropsias en las aves.

Ante la posibilidad de problemas de erosión en la molleja de los pollos debido al calentamiento de la harina de pescado en el autoclave, se utilizó la escala propuesta por Castro (1987) en una prueba biotóxica, para clasificar el grado de erosión de mollejas en pollos alimentados con harinas de pescado que contenían mollerossina, ésta se utilizó como referencia para identificar los posibles síntomas de vómito negro en las aves.

En el Experimento 3, se realizaron necropsias en toda la mortalidad y en el instante en el que se detectaba la presencia de aves muertas, para ello se realizó la inspección de la caseta de engorda a intervalos no mayores de seis horas. La escala utilizada se cita a continuación.

Grado 1: Harinas de pescado de toxicidad normal o nula.- No causan ningún daño o lesión en la molleja, valor en la escala de 0.0 - 0.5.

Grado 2: Harinas de pescado de toxicidad leve.- Causa lesiones histopatológicas muy leves en la molleja, que se caracterizan por la presencia de pequeñas úlceras, hemorragias y necrosis o enrojecimiento de las corrugaciones, valor en la escala de 0.5. – 1.0.

Grado 3: Harinas de pescado de toxicidad media.- Causan claros signos de lesiones histopatológicas en extensas áreas de la molleja, valor en la escala de 1.0 – 1.5.

Grado 4: Harinas de pescado de toxicidad grave.- Causan severas lesiones histopatológicas en la molleja, consideradas como mortales, con posibles perforaciones de la molleja, con claros síntomas de vómito negro, este tipo de harina no es recomendable para la alimentación avícola, valor en la escala mayor a 1.5.

RESULTADOS.

Experimento 1.

En el Cuadro 7 se presentan los resultados del análisis químico proximal y nitrógeno amoniacal, practicados en las harinas de pescado de sardina procesadas en el autoclave a intervalos de 30 minutos, se observa que el tiempo de calentamiento no alteró ($P > 0.05$) el contenido inicial de materia seca, proteína cruda y cenizas en la harina comercial.

En el mismo Cuadro 7, se muestran los resultados de las determinaciones de extracto etéreo practicados en los distintos lotes de harina, hubo diferencias ($P < 0.05$) entre el tratamiento 0 minutos y los tratamientos de 30 y 60 minutos, con resultados similares ($P > 0.05$) entre 0 y 90 minutos.

En el análisis de fibra cruda, se presentaron diferencias ($P < 0.05$) entre el tratamiento de 0 minutos con 30, 60 y 90 minutos; sin diferencia ($P > 0.05$) entre las harinas calentadas por 30 y 90 minutos.

En el contenido de nitrógeno amoniacal no se encontraron diferencias ($P > 0.05$) entre los tratamientos de 0 y 60 minutos; los resultados mostraron diferencia ($P < 0.05$) entre el tiempo 0 y las harinas tratadas por 30 y 90 minutos en el autoclave.

CUADRO 7.

**ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL Y CONTENIDO DE NITRÓGENO
AMONIAICAL DE LA HARINA DE SARDINA CALENTADA A
DISTINTOS TIEMPOS EN AUTOCLAVE**

(EXPERIMENTO 1)

| | Valores en base seca ^a | | | |
|----------------------------------|--------------------------------------|--------|--------|--------------------|
| | Minutos en el autoclave ^b | | | |
| | 0 | 30 | 60 | 90 |
| Materia seca % | 94.24a | 93.92a | 93.70a | 94.11 ^a |
| Proteína cruda % | 61.75a | 61.88a | 61.75a | 61.69 ^a |
| Cenizas % | 23.38a | 22.81a | 22.78a | 21.61 ^a |
| Extracto etéreo % | 9.13a | 9.67b | 10.66c | 9.38ab |
| Fibra cruda % | 0.62a | 0.68b | 0.83c | 0.75b |
| Extracto libre de nitrógeno % | 4.92 | 4.76 | 4.88 | 6.47 |
| Nitrógeno amoniaco mg/100g | 157.5a | 170.8b | 163.5a | 179.8c |

^a Medias de tres repeticiones cada una.

^b A una temperatura de 121 °C y 1 kg/cm² de presión.

Valores con literales similares en un mismo renglón son iguales estadísticamente (P > 0.05).

En el Cuadro 8 se presenta el contenido de aminoácidos esenciales analizados en la harina de pescado procesada en el autoclave a intervalos de 30 minutos, no se realizó análisis estadístico de los resultados del análisis químico de aminoácidos, pero se puede apreciar que, el calentamiento de la harina comercial en el autoclave modificó el perfil original de los aminoácidos esenciales analizados químicamente. Se puede observar que se presentó un ligero incremento numérico en la concentración de metionina, cistina, treonina y fenilalanina conforme se expuso a más tiempo de cocción a la harina (30, 60 y 90 min) en comparación con el nivel de los mismos encontrado en la harina testigo (0 min); en el caso de cistina, la concentración de ésta, bajó con 30 min y posteriormente su nivel sube con el tiempo de calentamiento. Esto representó una diferencia en las

concentraciones en el mismo orden de los cuatro aminoácidos antes mencionados entre las harinas calentadas en el autoclave por 0 y 90 min de 8, 9, 13 y 7 %, respectivamente.

CUADRO 8.

CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS ESENCIALES (%) EN LA HARINA DE SARDINA CALENTADA A DIFERENTES TIEMPOS EN AUTOCLAVE

(EXPERIMENTO 1)

| | Minutos en el autoclave ^a | | | |
|---------------------|--------------------------------------|------|------|------|
| | 0 | 30 | 60 | 90 |
| Aminoácidos | | | | |
| Metionina | 1.58 | 1.64 | 1.69 | 1.71 |
| Cistina | 0.53 | 0.51 | 0.55 | 0.60 |
| Metionina + cistina | 2.11 | 2.15 | 2.24 | 2.31 |
| Lisina | 4.14 | 4.24 | 4.18 | 4.52 |
| Treonina | 2.45 | 2.53 | 2.62 | 2.78 |
| Arginina | 3.30 | 3.78 | 3.35 | 3.45 |
| Isoleucina | 2.31 | 2.40 | 2.29 | 2.47 |
| Leucina | 4.12 | 4.27 | 4.21 | 4.44 |
| Valina | 2.97 | 3.00 | 2.98 | 3.25 |
| Histidina | 1.50 | 1.48 | 1.47 | 1.72 |
| Fenilalanina | 2.26 | 2.30 | 2.30 | 2.42 |

^a A una temperatura de 121 °C y 1 kg/cm² de presión.

Concentración de aminoácidos ajustados a 91 % de materia seca (media de dos muestras de dos repeticiones c/u).

No se aprecia una tendencia consistente con el tiempo de calentamiento de la harina en el resto de los aminoácidos esenciales evaluados, ya que los niveles de lisina, arginina, leucina, isoleucina y valina primero ascienden con 30 minutos de exposición al calor en el autoclave, luego descienden con 60 minutos y se incrementan de nuevo con 90 minutos, finalmente, quedan por encima del nivel que se presentaba la harina comercial. En lo referente a isoleucina, se presentó una tendencia similar a los cuatro aminoácidos anteriores, ya que su nivel asciende con 30 min de calor, pero a diferencia de ellos con 60

minutos, su concentración descendió por abajo del nivel de la harina comercial. Por último, con 90 min de calentamiento el nivel de isoleucina queda arriba de la harina testigo. En el caso de histidina, su aporte desciende por debajo de su nivel inicial en los tratamientos de 30 y 60 min, y con 90 minutos de calentamiento termina en un nivel superior al encontrado en la harina comercial.

En el Cuadro 9 se presentan los resultados de digestibilidad verdadera de aminoácidos determinados *in vivo* en la harina de pescado comercial (0 min) y las calentadas en el autoclave por 30, 60 y 90 min. De manera general, se encontró una tendencia lineal negativa ($P < 0.01$) en la digestibilidad de los aminoácidos conforme se incrementó el tiempo de cocción, el efecto es explicado para cada aminoácido por las respectivas ecuaciones de regresión.

Se muestra además (Cuadro 9), que el valor de digestibilidad verdadera encontrada en metionina, cistina, lisina, treonina, valina, histidina y fenilalanina, disminuyó significativamente ($P < 0.05$) en el tratamiento de 30 minutos, con respecto a 0 minutos. No hubo diferencias ($P > 0.05$) entre el tratamiento de 30 min, y los tratamientos de 60 y 90 min en la digestibilidad de metionina, cistina, lisina, treonina, histidina y fenilalanina.

La digestibilidad verdadera de los aminoácidos en el tratamiento de 30 min, fue menor con respecto al tratamiento de 0 min, ya que ésta bajó un 17.2, 9.8 y 8.4 %, en cistina, histidina y metionina, respectivamente; mientras que la digestibilidad de lisina, treonina, valina y fenilalanina disminuyó en un 6.3, 7.1, 6.6 y 7.0 %, respectivamente. En arginina, isoleucina y leucina no se detectaron diferencias ($P > 0.05$) en su digestibilidad con relación a la harina testigo, pero la digestibilidad bajó numéricamente en 6.3, 5.7 y 5.1, respectivamente.

En la harina tratada por 60 minutos, se detectaron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) en todos los valores de digestibilidad de los aminoácidos con respecto a la harina testigo, excepto en leucina ($P > 0.05$). La diferencia en la digestibilidad de los aminoácidos entre el tratamiento 0 min y el de 60 minutos, representó en un orden decreciente los siguientes

valores: cistina (21.8 %), histidina (13.1 %), valina (12.1 %), arginina (11.7 %), treonina (10.0 %), metionina (9.5 %), fenilalanina (9.4 %), lisina (8.8 %), isoleucina (8.0).

Al comparar el tratamiento de 30 minutos con el de 60 minutos, no se encontraron diferencias ($P > 0.05$) entre ambos en la digestibilidad de todos los aminoácidos; excepto en valina, la que bajó su digestibilidad en un 5.5 % ($P < 0.05$) con 60 minutos de calentamiento.

De la comparación del tratamiento de 90 minutos, se encontró una diferencia ($P < 0.05$) en la digestibilidad de todos los aminoácidos, con respecto a los valores encontrados en la harina de pescado comercial. Los coeficientes de digestibilidad en los aminoácidos del tratamiento de 90 min, cayeron con respecto a la harina testigo en los porcentajes que se indican a continuación: cistina (25.1), arginina (16.8), histidina (13.2), valina (12.3), isoleucina (10.3), leucina (9.9), metionina y lisina (9.7) y fenilalanina (8.4).

No hubo diferencias ($P > 0.05$) entre la digestibilidad encontrada en metionina, cistina, lisina, treonina, isoleucina, leucina, histidina y fenilalanina entre los tratamientos de 90 y, los de 30 y 60 minutos. En cambio, las digestibilidades de arginina y valina fueron iguales ($P > 0.05$) a las encontradas en el tratamiento de 60 minutos, pero diferentes ($P < 0.05$) a las del tratamiento de la harina procesada por 30 minutos.

CUADRO 9.
COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDAD VERDADERA (%) EN LOS
AMINOÁCIDOS DE LA HARINA DE SARDINA CALENTADA
A DISTINTOS TIEMPOS EN EL AUTOCLAVE

(EXPERIMENTO 1)

| Aminoácido | Minutos en el autoclave ^a | | | | Regresión* | R ² | Probabilidad* |
|--------------|--------------------------------------|--------------|--------------|--------------|------------------|----------------|---------------|
| | 0 | 30 | 60 | 90 | | | |
| Metionina | 96.2a | 87.8b | 86.7b | 86.5b | Y = 93.8 - 0.99x | 0.63 | 0.018 |
| Cistina | 94.6a | 77.4b | 72.8b | 69.5 b | Y = 90.6 - 2.67x | 0.82 | 0.002 |
| Met + Cis | 96.4a | 85.5b | 81.4b | 82.5b | Y = 93.3 - 1.53x | 0.67 | 0.013 |
| Lisina | 95.6a | 89.3b | 86.8b | 85.9b | Y = 94.3 - 1.07x | 0.84 | 0.001 |
| Treonina | 96.8a | 89.7b | 86.8b | 88.0b | Y = 94.7 - 0.98x | 0.65 | 0.016 |
| Arginina | 93.4a | 87.1ab | 81.7bc | 76.6c | Y = 92.5 - 1.59x | 0.85 | 0.001 |
| Isoleucina | 96.8a | 91.1ab | 88.8b | 86.5b | Y = 95.8 - 1.11x | 0.76 | 0.005 |
| Leucina | 97.0a | 91.9ab | 89.8ab | 87.1b | Y = 96.2 - 1.06x | 0.76 | 0.005 |
| Valina | 95.8a | 89.2b | 83.7c | 83.5c | Y = 94.4 - 1.37x | 0.85 | 0.001 |
| Histidina | 96.2a | 86.4b | 83.1b | 83.0b | Y = 93.6 - 1.43x | 0.70 | 0.009 |
| Fenilalanina | <u>94.0a</u> | <u>87.0b</u> | <u>84.6b</u> | <u>85.6b</u> | Y = 91.9 - 0.91x | 0.68 | 0.012 |
| Promedio | 95.6a | 87.7b | 84.5b | 83.2b | | | |

^a A una temperatura de 121 °C y una presión de 1 kg/cm².

Medias de tres repeticiones.

Literales distintas dentro de un mismo renglón indican diferencias significativas (P < 0.05).

* Efecto lineal significativo del tiempo de cocción.

En el Cuadro 10, se muestran los aportes de aminoácidos esenciales en las harinas de pescado tratadas en el autoclave, se presenta tanto la concentración total como la concentración en base digestible de los aminoácidos, este último valor se obtuvo al multiplicar la concentración total de cada aminoácido por su respectiva digestibilidad. Se puede observar que (a pesar de las diferencias entre los coeficientes de digestibilidad de los aminoácidos en las harinas de pescado), existe un decremento en el aporte de aminoácidos digestibles conforme se expuso a más tiempo de cocción a la harina de pescado en los cuatro tratamientos evaluados (ver el Cuadro 9), se aprecia que ese efecto fue atenuado en distinto grado, ya que de manera general se observa (Cuadro 10) que la

concentración total de todos los aminoácidos esenciales evaluados aumentó conforme se incrementó el tiempo de exposición al calor de las harinas en el autoclave. El aumento de la concentración total de los aminoácidos representó una diferencia en puntos porcentuales entre la harina de pescado comercial (0 min) contra el nivel encontrado en la harina calentada por 90 min (a favor de ésta última) en: metionina, 8.22; cistina, 13.2; lisina, 9.2; treonina, 13.5; arginina, 4.5; isoleucina, 6.9; leucina, 7.8; valina, 9.4; histidina, 15; y fenilalanina de 7.1.

Sólo en el aporte de cistina total en la harina procesada por 30 min, se observó una ligera baja con respecto al nivel original encontrado en la harina comercial. (0 min).

En relación con el efecto del calor, se observó un comportamiento mixto sobre el nivel determinado de aminoácidos digestibles en los distintos lotes de harina, ya que la concentración de metionina digestible bajó en el tratamiento de 30 min, subió con 60, así como con 90 min, en éste último quedó por debajo del nivel de la harina testigo. En el nivel obtenido de cistina digestible, se encontró que desciende con 30 y 60 min de calentamiento, y sube con 90 min, quedando con un nivel menor al de la harina comercial. En lo referente a lisina, su nivel desciende en los tratamientos de 30 y 60 min, pero sube en el tratamiento de 90 min con una concentración menor a la de la harina testigo; otros aminoácidos que presentaron un comportamiento similar al de lisina fueron: treonina, isoleucina, leucina, valina, histidina y fenilalanina; mientras que en arginina digestible, se presenta un ligero incremento en el tratamiento de 30 min y luego desciende paulatinamente con 60 y 90 min de calentamiento.

CUADRO 10.

**APORTE DE AMINOÁCIDOS TOTALES Y DIGESTIBLES PARA AVES DE
LA HARINA DE PESCADO DE SARDINA PROCESADA
A DISTINTOS TIEMPOS DE COCCIÓN.**

(EXPERIMENTO 1)

| Perfil de aminoácidos (%) | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|--|
| Tiempo en el autoclave* (min) | | | | | | | | | | | | | |
| Aminoácido | T | 00 | | | 30 | | | 60 | | | 90 | | |
| | | CDV | D | T | CDV | D | T | CDV | D | T | CDV | D | |
| Metionina | 1.58 | 96.2 | 1.52 | 1.64 | 87.8 | 1.44 | 1.69 | 86.4 | 1.46 | 1.71 | 86.5 | 1.48 | |
| Cistina | 0.53 | 94.6 | 0.50 | 0.51 | 77.4 | 0.39 | 0.55 | 62.4 | 0.34 | 0.60 | 69.4 | 0.42 | |
| Met + Cis | 2.11 | 95.8 | 2.02 | 2.15 | 85.6 | 1.84 | 2.24 | 81.1 | 1.82 | 2.31 | 82.5 | 1.90 | |
| Lisina | 4.14 | 95.6 | 3.96 | 4.24 | 89.3 | 3.79 | 4.18 | 86.3 | 3.61 | 4.52 | 85.6 | 3.87 | |
| Treonina | 2.45 | 96.8 | 2.37 | 2.53 | 89.6 | 2.26 | 2.62 | 86.6 | 2.27 | 2.78 | 88.0 | 2.45 | |
| Arginina | 3.30 | 93.4 | 3.08 | 3.78 | 87.0 | 3.29 | 3.35 | 81.2 | 2.72 | 3.45 | 76.6 | 2.64 | |
| Isoleucina | 2.31 | 96.8 | 2.24 | 2.40 | 91.1 | 2.19 | 2.29 | 88.5 | 2.03 | 2.47 | 86.5 | 2.14 | |
| Leucina | 4.12 | 97.0 | 3.99 | 4.27 | 91.8 | 3.90 | 4.21 | 89.6 | 3.78 | 4.44 | 87.0 | 3.86 | |
| Valina | 2.97 | 95.8 | 2.84 | 3.00 | 89.2 | 2.68 | 2.98 | 83.2 | 2.48 | 3.25 | 86.5 | 2.81 | |
| Histidina | 1.50 | 96.2 | 1.44 | 1.48 | 86.4 | 1.28 | 1.47 | 83.0 | 1.22 | 1.72 | 77.0 | 1.32 | |
| Fenilalanina | 2.26 | 93.9 | 2.12 | 2.30 | 86.9 | 2.00 | 2.30 | 85.3 | 1.96 | 2.42 | 85.6 | 2.07 | |

* A una temperatura de 121 °C y una presión 1 kg/cm².

T = Concentración total del aminoácido.

CDV = Coeficiente de digestibilidad verdadera del aminoácido.

D = Concentración del aminoácido digestible.

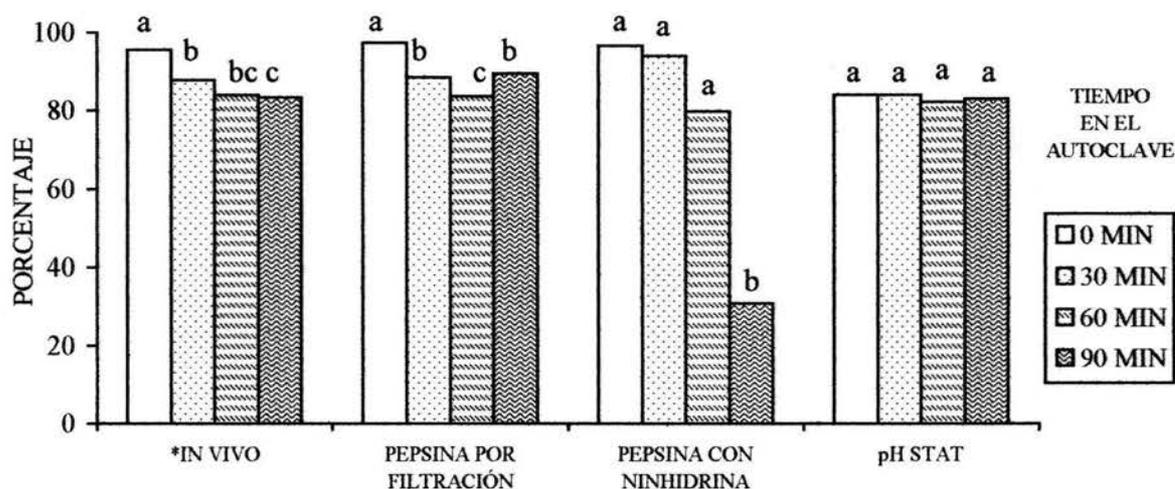
Experimento 2. Determinación de la proteína digestible en harinas de pescado procesadas en el autoclave por medio de técnicas *in vitro*.

En la Figura 4 se presentan los valores promedio de digestibilidad de la proteína en las harinas de pescado calentadas en el autoclave a distintos tiempos, medida con una técnica *in vivo* (promediando la digestibilidad de los aminoácidos esenciales) y tres técnicas *in vitro*: Pepsina por filtración, pepsina con ninhidrina y pH Stat modificada. Los resultados de digestibilidad de la proteína medida *in vivo*, muestran diferencia ($P < 0.05$) entre la digestibilidad (95.5 %) en la harina testigo y los tratamientos de 30 (87.7 %), 60 (84.5 %) y 90 minutos (83.2 %); se observa que no hubo diferencia ($P > 0.05$) entre las

harinas calentadas por 30 y 60 minutos; en cambio si hubo diferencia ($P < 0.05$) entre 30 y 90 minutos.

La digestibilidad de proteína determinada con la técnica de pepsina por filtración fue, en la harina testigo y las procesadas con calor por 30, 60 y 90 minutos, de 96.96 %, 88.33 %, 83.22 % y 89.29 %, respectivamente. Esos resultados son diferentes ($P < 0.05$) entre la harina testigo y las harinas tratadas por 30, 60 y 90 minutos; en cambio no hubo diferencias ($P > 0.05$) en los tratamientos de 30 y 90 minutos; también se encontraron diferencias ($P < 0.05$) entre 30 y 90 minutos con 60 minutos.

FIGURA 4. PROTEINA DIGESTIBLE EN HARINAS DE PESCADO PROCESADAS EN AUTOCLAVE MEDIDA IN VIVO E IN VITRO



*Media de la digestibilidad de los aminoácidos esenciales.
 Literales distintas dentro de cada técnica indican diferencias estadísticas ($P < 0.05$) entre tratamientos.

Al medir la digestibilidad de la proteína con pepsina por el método de ninhidrina, se encontró que los valores promedio de esa variable fueron 96.5 %, 93.88 %, 79.77 % y 30.74 % en las harinas calentadas por 0, 30, 60 y 90 minutos, respectivamente. Esos valores no mostraron diferencias ($P > 0.05$) entre los tratamientos de 0, 30 y 60 minutos, pero si ($P < 0.05$) entre los tratamientos anteriores y el de 90 minutos. Con el método pH

Stat modificado, no se detectó diferencia ($P > 0.05$) entre la digestibilidad promedio de la proteína (84.06 %, 84.00 %, 82.27 % y 82.98 %) en las harinas evaluadas (0, 30, 60 y 90 minutos, respectivamente).

En el Cuadro 11 se presentan los valores de los coeficientes de correlación y comparaciones ortogonales de las medias de digestibilidad de proteína medidas *in vivo*, contra las técnicas *in vitro*. De acuerdo a los resultados del análisis estadístico, se puede observar que, la técnica para medir la digestibilidad de la proteína con pepsina por el método de filtración tuvo una mejor correlación ($P < 0.05$) con la técnica de digestibilidad *in vivo*. La técnica para medir la digestibilidad de proteína con pepsina por el método de ninhidrina, tuvo la menor correlación ($P < 0.05$) con la digestibilidad *in vivo*. Por su parte, el método pH Stat modificado, no correlacionó ($P > 0.05$) con la digestibilidad de la proteína medida *in vivo*.

En el mismo Cuadro 11, se muestran los resultados de las comparaciones ortogonales de las medias de digestibilidad de la proteína que se obtuvieron con la técnica de digestibilidad *in vivo* y tres técnicas de digestibilidad *in vitro*. Al comparar las medias de digestibilidad de las dos técnicas con pepsina, no se encontró diferencia ($P > 0.05$) entre ellas. Sin embargo, al hacer la comparación conjunta de las dos técnicas *in vitro* que emplean pepsina, contra el método pH Stat modificado, se encontró una diferencia en la digestibilidad ($P < 0.05$) entre ambas.

CUADRO 11.

CORRELACIÓN Y CONTRASTES ORTOGONALES ENTRE LAS MEDIAS DE DIGESTIBILIDAD *in vivo* Y LA DIGESTIBILIDAD EVALUADA CON DISTINTAS TÉCNICAS *in vitro* EN LA PROTEÍNA DE HARINAS DE PESCADO PROCESADAS EN EL AUTOCLAVE.

(EXPERIMENTO 2)

| <u>COEFICIENTES DE CORRELACIÓN ¹</u> | | | <u>CONTRASTES ORTOGONALES ¹</u> | |
|---|----------------------|---------------------|--|---------------------|
| <u>Técnica</u> | <u>r²</u> | <u>Probabilidad</u> | <u>Comparación de medias</u> | <u>Probabilidad</u> |
| Pepsina por el método de filtración. | 0.85 | 0.0001* | Pepsina por filtración vs Pepsina con ninhidrina | 0.25 |
| Pepsina con el método de ninhidrina. | 0.64 | 0.024* | Pepsinas vs Técnica multienzimática modificada | 0.005* |
| Método pH Stat modificado. | 0.42 | 0.174 | <i>In vivo</i> vs <i>In vitro</i> | 0.25 |

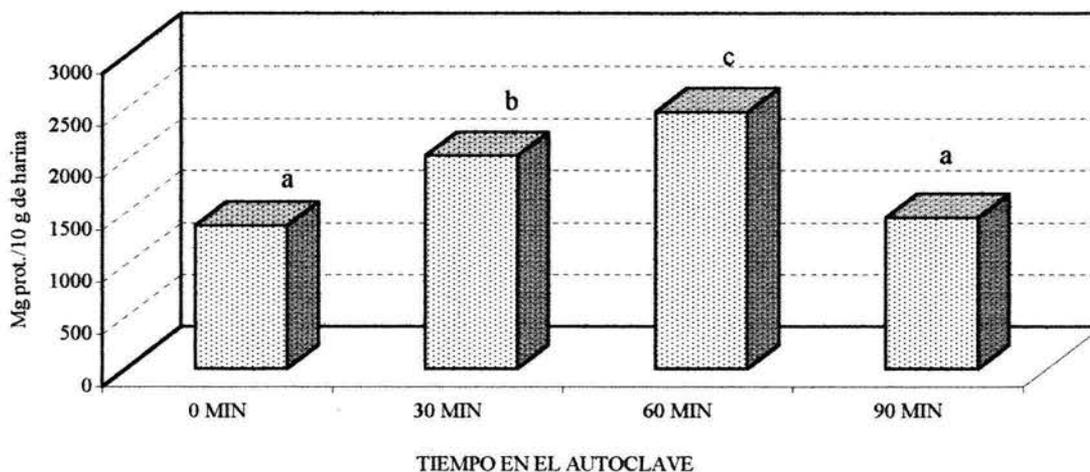
¹ Determinados con tres repeticiones por tratamiento.

* Efecto estadístico significativo ($P < 0.05$).

Proteína soluble medida con la técnica de Bradford.

Por otra parte, en la Figura 5, se presentan los resultados de la fracción soluble de la proteína determinada con la técnica de Bradford en las harinas procesadas en el autoclave, se observa que, el tiempo de calentamiento modificó el contenido original de la fracción soluble (μg de proteína/g de harina) de la proteína en la harina comercial (1374.25), cuando ésta fue calentada por 30 (2042.71) y 60 minutos (2462.75) ($P < 0.05$), mientras que en la calentada por 90 minutos, se encontró una concentración (1446.42) similar ($P > 0.05$) a la testigo.

FIGURA 5. FRACCIÓN SOLUBLE DE PROTEÍNA EN HARINA DE PESCADO CALENTADA EN AUTOCLAVE MEDIDA CON LA TÉCNICA DE BRADFORD



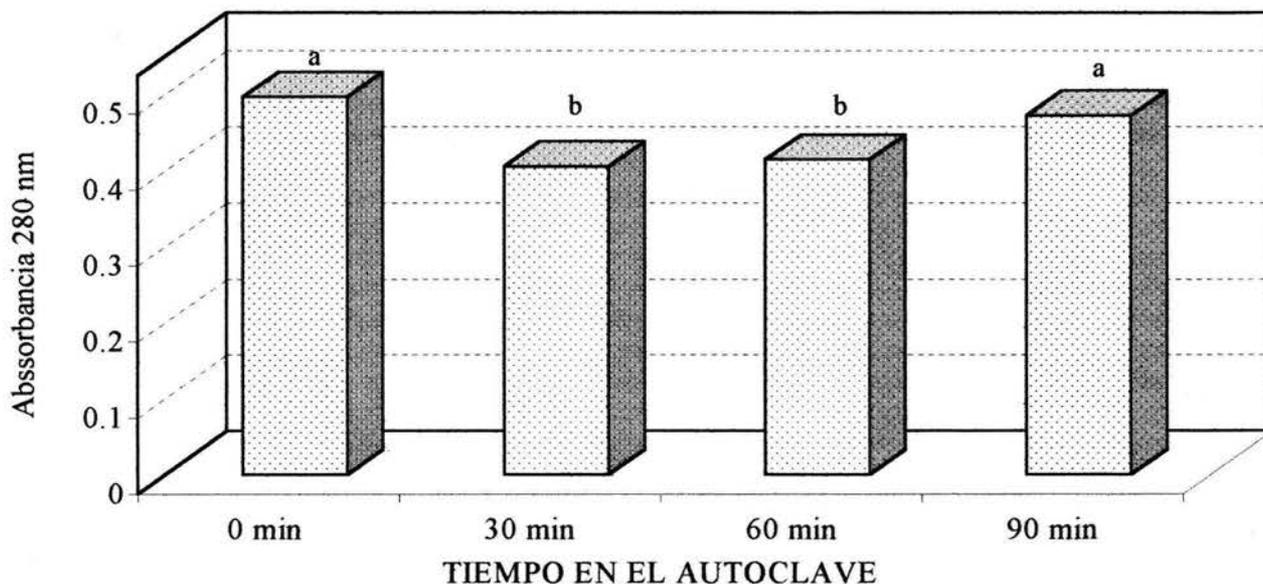
Literales distintas indican diferencias estadísticas ($P < 0.05$)

Péptidos de alto y bajo peso molecular medidos con TCA.

Los valores de los resultados generados de la determinación de la fracción no precipitable de proteína con ácido tricloroacético (TCA), utilizada para medir la concentración de péptidos de alto peso molecular en las harinas de pescado calentadas en el autoclave antes de ser utilizadas en las pruebas de digestibilidad, se muestran en la Figura 6.

Se encontró que la concentración de péptidos de alto peso molecular en las harinas de pescado medida a una absorbancia de 280 nm, fue similar ($P > 0.05$) en los tratamientos de 0 y 90 minutos (0.497 y 0.472), así como ($P > 0.05$) en las harinas calentadas por 30 y 60 minutos (0.405 y 0.472); esos dos pares de tratamientos fueron diferentes ($P < 0.05$) entre sí.

FIGURA 6. PÉPTIDOS DE ALTO PESO MOLECULAR MEDIDOS CON TCA EN HARINAS DE PESCADO CALENTADAS EN AUTOCLAVE



Literales distintas indican diferencias estadísticas ($P < 0.05$)

En la estimación de la concentración de péptidos de bajo peso molecular (medidos con TCA), tomados del sobrenadante de los hidrolizados de la proteína de pescado digerida con pepsina por el método de ninhidrina, se observó que el tiempo de cocción en la harina de pescado comercial en el autoclave a intervalos de 30 minutos hasta 90 minutos, no fue ($P > 0.05$) un factor de modificación en la cantidad de péptidos de bajo peso molecular, los resultados a una absorbancia de 280 nm fueron de 0.404, 0.397, 0.393 y 0.475, en las harinas calentadas por 0, 30, 60 y 90 minutos, respectivamente.

Experimento 3: Prueba biológica de crecimiento.

Los resultados de las variables productivas del pollo a los de 42 días de edad se presentan en el Cuadro 12, éstos indican que no hubo una interacción entre los métodos de formulación x el tiempo de cocción usado en las harinas de pescado ($P > 0.05$). Al estudiar los efectos principales métodos de formulación y tiempo de cocción de la harina de sardina, sólo se encontró efecto al tipo de formulación (Cuadro 12). En los pollos alimentados con las dietas del método AT, la ganancia de peso fue igual ($P > 0.05$) en AT0, AT30 y AT90, pero el tratamiento AT60 fue diferente ($P < 0.05$) a los tratamientos AT0 y AT30. No se detectaron diferencias ($P > 0.05$) en consumo de alimento y eficiencia alimenticia entre los tratamientos del método AT. En la mortalidad, se observó que ésta fue diferente ($P < 0.05$) entre los tratamientos de AT.

En el método de formulación AD (Cuadro 12), no hubo diferencias ($P > 0.05$) en la ganancia de peso, consumo de alimento y eficiencia alimenticia entre tratamientos. En el caso de la mortalidad del sistema AD, no hubo diferencia ($P > 0.05$) entre los tratamientos AD0 y AD30, mientras que los tratamientos AD60 y AD90 fueron diferentes ($P < 0.05$) entre sí, y ambos diferentes a los ($P < 0.05$) tratamientos AD0 y AD30.

Al comparar el efecto del tipo de formulación, se observó que la ganancia de peso, el consumo de alimento y la mortalidad registrada fueron similares ($P > 0.05$) entre ambos métodos de formulación. En lo que se refiere a la eficiencia alimenticia, hubo diferencia ($P < 0.05$) entre los dos sistemas de formulación, siendo más favorable para AD. En las necropsias practicadas en las aves y de la inspección ocular con lupa de las mollejas, se dedujo que no se presentaron síntomas de erosión debido a toxicidad por la posible presencia de mollerossina en ninguno de los ocho tratamientos evaluados, resultando la evaluación en el Grado 1 de la escala propuesta por Castro (1987).

CUADRO 12.

**RESPUESTA DE POLLOS A LOS 42 DÍAS DE EDAD A DIETAS DE MAÍZ + SOYA¹
ADICIONADAS CON HARINA DE SARDINA PROCESADA
A DISTINTO TIEMPO DE COCCIÓN**

(EXPERIMENTO 3)

| Criterio de formulación | Tiempo de cocción ² (min) | Ganancia de peso (g) | Consumo acumulado (g) | Eficiencia Alimenticia (ganancia/consumo) | Mortalidad (%) |
|------------------------------------|---|-------------------------|--------------------------|--|----------------|
| Aminoácidos totales (AT) | 0 | 2204a | 4073a | 0.5411a | 2.50a |
| | 30 | 2154a | 4198a | 0.5131a | 1.66b |
| | 60 | 2286b | 4308a | 0.5306a | 5.00c |
| | 90 | <u>2219ab</u> | <u>4348a</u> | <u>0.5103a</u> | <u>4.16d</u> |
| | Promedio | 2215A | 4232A | 0.5237A | 3.33A |
| Aminoácidos digestibles (AD) | 0 | 2254a | 4124a | 0.5465a | 4.16a |
| | 30 | 2250a | 4063a | 0.5537a | 4.16a |
| | 60 | 2246a | 4210a | 0.5334a | 1.66b |
| | 90 | <u>2246a</u> | <u>4265a</u> | <u>0.5266a</u> | <u>3.33c</u> |
| | Promedio | 2249A | 4165A | 0.5400B | 3.33A |
| | EEM | 0.0093 | 0.0350 | 0.0052 | |

¹ En las etapas de crecimiento y finalización se empleo además pasta de ajonjolí.

² En autoclave a una temperatura de 121 °C y 1 kg/cm² de presión.

AT = Requerimiento en base a aminoácidos totales de acuerdo al NRC (1994).

AD = Promedio del requerimiento a un perfil de aminoácidos digestibles para aves sin sexar (Baker, 1997).

No se encontró efecto del método de formulación x el tiempo de cocción (P > 0.05).

a,b = Valores con distinta letra dentro de los tratamientos de cada método de formulación y columna son diferentes estadísticamente (P < 0.05).

A,B = Diferencia entre métodos de formulación (P < 0.05).

DISCUSIÓN.

Experimento 1.

En los resultados del análisis químico proximal realizado, se observaron ligeras variaciones en el contenido de proteína, cenizas, extracto etéreo y fibra cruda, por efecto del tiempo de calentamiento de la harina de pescado en el autoclave, los niveles estimados en el experimento caen dentro de los intervalos normales encontrados en otras harinas de pescado, según lo informado por Ávila (1986), Allen (1992), NRC (1994), Zabiezo y Dale (1994), y Castrillón (1996).

La concentración de nitrógeno amoniacal encontrada en las harinas de pescado procesadas en el autoclave, concuerda con los valores mencionados en otros reportes (Pike et al., 1990; Abdo, 1994); y se encuentran dentro de los intervalos señalados por Tejada (1983) para harinas cuya frescura corresponde a la categoría de buena calidad. Quizás esto se debió a que en la planta productora de harina, los desperdicios son procesados en una planta reductora anexa a la de enlatado, inmediatamente después de eviscerar a los pescados, esto permite elaborar harina con un alto grado de frescura (Abdo, 1994). También la harina evaluada, se trasladó el día de su fabricación en menos de cuatro horas a la institución en donde se realizaron parte de los experimentos y fue almacenada a una temperatura inferior a 12 °C.

Por otra parte, después de procesar en el autoclave a las harinas de pescado, se analizó su contenido de aminoácidos por la Compañía DEGUSSA, Alemania. La concentración de aminoácidos analizada en la harina de pescado comercial es consistente con la informada por el NRC (1994) y Mariscal et al. (1995). Además, los valores obtenidos están muy cercanos a la media de 71 muestras de harina de sardina analizadas según la base de datos de DEGUSSA (1997). Sin embargo, los resultados de los aminogramas están limitados por la falta de un análisis estadístico y deben ser tomados con reserva, Por ello, se infiere que numéricamente, el tratamiento térmico incrementó el contenido original de aminoácidos encontrado en la harina comercial; esto es similar a lo informado por Wiseman et al. (1991) en otras harinas de pescado procesadas con calor.

Otros autores observaron que, el perfil original de los aminoácidos analizados químicamente en los ingredientes se modificó de forma variable por efecto del tiempo de exposición al calor en ingredientes de origen vegetal, tal es el caso de la pasta de canola (Anderson-Hafermann et al., 1993) y pasta de soya (Vandergrift et al., 1983; Dudley-Cash, 1999). También los resultados del presente trabajo, coinciden con lo encontrado en experimentos desarrollados con otros ingredientes proteicos de origen animal, como en harina de pescado (Castrillón et al., 1996), harina de pelo de cerdo y harina de plumas (Wang y Parsons, 1997), y en harinas de carne y hueso de distinto tipo (Johnson et al., 1998; Douglas y Parsons, 1999).

El cambio observado en el perfil original de aminoácidos analizado en aquellos ingredientes sujetos a tratamiento térmico, puede ser consecuencia de la reacción de Maillard, ya que durante las fases tempranas de la misma, los aminoácidos se unen a otras sustancias generando compuestos nuevos conocidos como productos Amadori. Éstos compuestos se pueden analizar químicamente, al ser separados durante la hidrólisis ácida previa, lo que permite su cuantificación (Fernández, 1996). Sin embargo, cuando la magnitud de la reacción de Maillard llega a fases más avanzadas, los aminoácidos ligados a otros compuestos, no se separan durante la hidrólisis ácida, por ello y al igual que en este caso, el análisis de aminoácidos puede generar valores diferentes en la concentración de aminoácidos en un mismo ingrediente sujeto a distintas condiciones de tratamiento térmico (Carpenter y Booth, 1973; Scott et al., 1973; Dudley-Cash, 1999). También, se ha informado un efecto opuesto a lo antes mencionado, ya que durante la hidrólisis ácida de aminoácidos en el laboratorio, algunos de los residuos de lisina dañados térmicamente, pueden ser separados y rendir de nuevo lisina, con lo cual la concentración analizada de ese aminoácido en los ingredientes permanecería más uniforme (Castrillón et al., 1996). Esto concuerda con lo mencionado por Moughan (1994) y Hendricks et al. (1999), quienes señalan que la lisina puede revertir el daño térmico bajo condiciones de hidrólisis ácida; al igual que en metionina y cisteína (Pienizack et al. 1975).

Los resultados de digestibilidad medida *in vivo* (Cuadro 13) indican que, los valores de la digestibilidad verdadera de los aminoácidos analizados en la harina de sardina

comercial fueron superiores a los publicados en otros reportes (Parsons, 1991; NRC, 1994; Mariscal et al., 1995) y a los indicados por DEGUSSA (1997) en su base de datos; y concuerda además, con la digestibilidad de los aminoácidos en ingredientes de buena calidad (Cuarón, 1991).

CUADRO 13.

APORTES DE PROTEÍNA, AMINOÁCIDOS TOTALES Y DIGESTIBLES PARA AVES EN ALGUNAS HARINAS DE PESCADO REPORTADAS EN LA LITERATURA

| Perfil de aminoácidos ^a | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|---------------|------|------|-----------|-----|-----|-----------------------|------|------|------------------|------|------|
| Aminoácido | Parsons, 1991 | | | NRC, 1994 | | | Mariscal et al., 1995 | | | Presente estudio | | |
| | T | CDV | D | T | CDV | D | T | CDV | D | T | CDV | D |
| Metionina | 1.72 | 92.0 | 1.58 | --- | 92 | --- | 1.75 | 88.0 | 1.54 | 1.58 | 96.2 | 1.52 |
| Cistina | 0.56 | 75.0 | 0.42 | --- | 73 | --- | 0.57 | 80.0 | 0.46 | 0.53 | 94.6 | 0.50 |
| Met + Cis | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 2.11 | 95.8 | 2.02 |
| Lisina | 4.61 | 88.0 | 4.06 | --- | 88 | --- | 4.80 | 86.0 | 4.13 | 4.14 | 95.6 | 3.96 |
| Treonina | 2.55 | 90.0 | 2.30 | --- | 89 | --- | 2.59 | 85.0 | 2.20 | 2.45 | 96.8 | 2.37 |
| Arginina | 3.79 | 92.0 | 3.49 | --- | 92 | --- | 3.74 | 88.0 | 3.29 | 3.30 | 93.4 | 3.08 |
| Isoleucina | --- | --- | --- | --- | 92 | --- | 2.48 | 86.0 | 2.13 | 2.31 | 96.8 | 2.24 |
| Leucina | --- | --- | --- | --- | 92 | --- | 4.51 | 86.0 | 3.88 | 4.12 | 97.0 | 3.99 |
| Valina | 2.83 | 91.0 | 2.58 | --- | 91 | --- | 2.95 | 89.0 | 2.63 | 2.97 | 95.8 | 2.84 |
| Histidina | --- | --- | --- | --- | 89 | --- | --- | --- | --- | 1.50 | 96.2 | 1.44 |
| Fenilalanina | --- | --- | --- | --- | 91 | --- | --- | --- | --- | 2.26 | 93.9 | 2.12 |
| PC % | 62.0 | | | | | | 62.5 | | | 61.7 | | |

a = Concentración tal y como se ofrece.

T = Concentración total del aminoácido (%).

CDV = Coeficiente de digestibilidad verdadera del aminoácido (%).

D = Concentración del aminoácido digestible (%).

Esos resultados se explican por la observación directa del proceso de elaboración de la harina de pescado empleada en el presente trabajo, ya que ésta fue fabricada en condiciones térmicas más favorables a las aplicadas en otras harinas de pescado. Incluso, cuando se compara la metodología de elaboración de la harina de sardina contra la de atún producida en la misma fábrica, se encontró que antes de enlatar al atún se aplica un tiempo de cocción 12 veces mayor y una temperatura 1.4 veces superior a las utilizadas en la harina testigo, que se envía sin cocción a su fabricación. Así mismo, la harina de los

experimentos, fue procesada con calor indirecto (Morales et al., 1991), lo que supone condiciones térmicas más favorables para su calidad (Castrillón et al., 1996).

Lo anterior es distinto a lo mencionado en otros trabajos, en los que el tiempo de cocción usado para fabricar a otras harinas de pescado aparenta ser excesivo, en comparación al tiempo de cocción aplicado en la harina del presente estudio (Antillón, 1987; Abdo, 1994; Pike et al., 1990; Pérez-Mateos y Montero, 1997).

La digestibilidad de los aminoácidos en los ingredientes es una variable muy importante para la formulación con proteína ideal, el uso de calor para la cocción es un elemento para mejorar o empeorar la intensidad con la que se desarrolla la digestión en los aminoácidos, dependiendo del tipo de ingrediente al que se le aplica el calor. Por ejemplo, convencionalmente la harina de plumas ha sido tratada con calor para mejorar su calidad proteica; debido a que sus proteínas tienen cistina y puentes disulfuro, lo que incrementa su estabilidad y resistencia a las enzimas digestivas si no se procesa con calor antes de ser ingerida (Morales et al., 1998). Así mismo, la glicina y la prolina presentes en las proteínas del colágeno y elastina, pueden incrementar su digestibilidad por medio del calor, ya que se gelatinizan incrementando su disponibilidad (Asghar y Henrickson, 1982).

En el extremo opuesto, los valores obtenidos en la digestibilidad de los aminoácidos al incrementar el tiempo de exposición al calor de la harina de pescado en el autoclave; concuerdan con el hecho de que el calor excesivo es un factor detrimental para la digestión de las proteínas en los ingredientes (Parsons, 1991).

Esto se aprecia en los resultados del Experimento 1, en donde el incremento en el tiempo de cocción aplicado en la harina de pescado, disminuyó linealmente la digestibilidad de todos los aminoácidos evaluados. Esto concuerda con otras investigaciones realizadas con aves, en las que se estimó el efecto de la exposición al calor sobre la digestibilidad de los aminoácidos en la pasta de algodón (Fernández et al., 1994), pasta de soya (Parsons et al., 1992; Fernández y Parsons, 1996), pasta de canola

(Anderson-Hafermann et al., 1992), pasta de girasol (Zhang y Parsons, 1994), harinas de pelo de cerdo y plumas (Wang y Parsons, 1997), harina de carne y hueso (Johnson et al., 1998) y lo reportado en cerdos con harina de pescado (Wiseman et al., 1991).

Ese efecto se debe a la reacción de Maillard, en la que el sobrecalentamiento de las proteínas induce la degradación química de los aminoácidos, generando uniones complejas, no hidrolizables por las enzimas digestivas (Carpenter, 1973; Abdo, 1994). En ella, pueden reaccionar aminoácidos con aminoácidos (uniones isopeptídicas) o aminoácidos con azúcares reductores, reduciendo su digestibilidad (Mauron, 1990). Debido a que las uniones isopéptidicas, no permiten la penetración de las enzimas digestivas del animal (Varniz y Carpenter, 1975); se origina una hidrólisis más lenta y una menor digestión de las proteínas (Hurrell y Carpenter, 1977; Cruz y Ruique, 1992). En algunos casos, también puede haber una pérdida en la digestibilidad de una cadena completa de proteína (Hurrell y Finot, 1983). Al respecto, se sabe que los compuestos fructosil aminoácidos rendidos en la reacción de Maillard (Fernández, 1996); como la unión fructosil-lisina, inhiben a la proteasa pancreática tripsina, con la consecuente menor digestibilidad de las proteínas (Valle-Riestra y Barnes, 1970; Ford y Shorrocks, 1971). Ante la inhibición de tripsina, otras proteasas pancreáticas son afectadas negativamente reduciendo todavía más la digestión proteica (Ganong, 1992).

De acuerdo con lo anterior, si baja la actividad de las enzimas proteicas en el animal, la digestibilidad de todos los aminoácidos se verá deprimida, lo que puede ser parte de la explicación de los resultados negativos en la digestibilidad medida *in vivo* en el presente trabajo. Sin embargo, a pesar de que todos los aminoácidos son propensos a la degradación térmica, algunos de ellos son particularmente sensibles, como lo es la lisina, ya que puede ser afectada en las fases tempranas de la reacción de Maillard (Hurrell y Carpenter, 1977).

Actualmente se acepta que dos de los aminoácidos con mayores posibilidades de recibir daño térmico, son en primer lugar la lisina y en segundo la cistina (Parsons, 1990a). En el presente experimento, se observó un decremento en la digestibilidad de la

lisina en las harinas tratadas con calor con respecto a la harina testigo, sin embargo, el detrimento en la digestibilidad de ese aminoácido fue menor al encontrado en otros aminoácidos (cistina, arginina, histidina y valina); un efecto similar fue reportado por Hendricks et al. (1999) en un alimento para gatos calentado a diferentes tiempos, en el cual aparentemente la lisina no reaccionó con otros componentes de la dieta con la intensidad que se suponía. Este resultado no es el esperado, ya que la lisina es el aminoácido más sensible al daño térmico (Boctor y Harper, 1968; Carpenter y Booth, 1973; Hurrell y Carpenter, 1977; Baker, 1981; Cruz y Ricque, 1992; Van Soest, 1994). Esto se debe a que la lisina, contiene un grupo épsilon amino libre altamente susceptible al calor (Weigel, 1991). La reducción paulatina de la digestibilidad de lisina con el tiempo de exposición al calor encontrada en la harina de sardina, concuerda con lo reportado por Castrillón et al. (1996) con harina de atún y por Wiseman (1991) en otra harina de pescado. En ingredientes de origen animal como en la harina del presente trabajo, es posible que la lisina reaccione con azúcares como la ribosa del ácido ribonucleico o glucosa 6 fosfato derivada del glucogéno muscular (Yamanaka et al., 1973; Monotohiro, 1979; citados por Castrillón et al., 1996). En ingredientes de origen vegetal tratados con calor, la digestibilidad de lisina se ha deprimido más severamente que la estimada en otros aminoácidos (Zhang y Parsons, 1992; Anderson-Hafermann et al., 1993); esto se debe al grupo amino libre que posee, ya que éste reacciona con azúcares reductores, un ejemplo de ello son los oligosacáridos (rafinosa y estaquiosa) presentes en pastas de sojas (Parsons et al., 1992)

Por otro lado, la cistina es considerada como uno de los aminoácidos más sensibles al calor (Parsons, 1990a; Moritz y Latshaw, 2001); esto se observó en el presente trabajo, ya que de todos aminoácidos evaluados, la cistina fue la más afectada en su digestibilidad por el tiempo de calentamiento de la harina de pescado. Esto es similar a lo encontrado por Wiseman con cerdos (1991) en harina de pescado sobrecalentada; por Wang y Parsons (1997), y por Moritz y Latshaw (2001) en harina de plumas sujeta a cocción. Durante la degradación térmica, la cistina puede rendir lantionina (Robbins et al., 1980); asimismo, en la hidrólisis térmica en la que participa la cistina, se pueden generar otros

compuestos azufrados volátiles que se pierden durante el proceso (Moritz y Latshaw, 2001).

Además de la lisina y la cistina, en el grupo de aminoácidos susceptibles de participar en la reacción de Maillard se incluyen a la metionina (Boctor y Harper, 1968; Hurrell y Finot, 1983); cisteína y triptófano (Hurrell y Finot, 1983). También, aminoácidos como la arginina y la histidina, cuentan en su molécula con grupos potencialmente degradables ante su exposición al calor (Scott et al., 1973; Tagami et al., 2000). Este último reporte es consistente con el comportamiento observado en la digestibilidad encontrada por efecto del calentamiento en el autoclave de la harina de sardina, ya que las digestibilidades en arginina y histidina fueron la segunda y tercera más afectadas, respectivamente, por el tratamiento térmico. Esto es consistente con lo reportado por Anderson-Hafermann et al. (1983) en pasta de canola, ya que después de la lisina, la arginina y la histidina fueron los aminoácidos en los disminuyó más la digestibilidad debido al calentamiento del ingrediente.

En lo referente a la digestibilidad encontrada en valina, isoleucina, leucina, metionina, treonina y fenilalanina, esa variable tuvo un comportamiento muy similar en ese grupo de aminoácidos. Ese resultado no fue consistente con lo esperado en metionina, ya que se supone que ese aminoácido, debió ser uno de los aminoácidos más afectados por el calor (Boctor y Harper, 1968; Hurrell y Finot, 1983), siendo la digestibilidad de la metionina similar a la digestibilidad ileal encontrada con cerdos por Wiseman (1991) en una harina de pescado tratada a 130 °C (180 min), y mayor a la de otro lote calentado a 160 C° (75 min). En lo referente a treonina, los resultados del presente trabajo, son similares a lo reportado (Smith y Scott; 1965) con pollos alimentados con harina de pescado, ya que su disponibilidad fue menor al sobrecalear el ingrediente.

En los valores de digestibilidad observados en leucina, isoleucina, valina y fenilalanina, se detectó una tendencia similar a la reportada por Zhang y Parsons (1994) en pasta de girasol; a la señalada por Anderson-Hafermann et al. (1993) en pasta de canola; pero distinta a la encontrada por Parsons et al. (1992) en pasta de soya, en lo

referente a isoleucina, fenilalanina y valina, con una tendencia similar a la del presente experimento en lo correspondiente a leucina.

La estimación del valor proteico de materias primas procesadas con calor con la técnica de alimentación precisa, es una herramienta importante, ya que algunos aminoácidos degradados con calor, pueden ser detectados por el analizador de aminoácidos en mayor o menor grado dependiendo del daño térmico (Dudley-Cash, 1999); Pero además, los aminoácidos que intervienen en las fases tempranas de la reacción de Maillard, son desdoblados por las enzimas digestivas y luego absorbidos (Fernández, 1996), pero esos aminoácidos no están disponibles para la síntesis de proteína en el animal (Carpenter, 1973; Sibbald, 1987). Posteriormente, éstos compuestos son recuperados en la orina, y pueden ser medidos junto con el material indigestible de las heces sin ser sobreestimados en las pruebas de digestibilidad con aves (Fernández, 1996; Fernández y Parsons, 1996), ya que se colectan juntos en las heces y orina.

Experimento 2.

Al estudiar los resultados obtenidos en el análisis de correlación y de las comparaciones ortogonales de las medias de digestibilidad de los aminoácidos esenciales obtenidas *in vivo* y de la digestibilidad de proteína medida con las tres técnicas *in vitro*, se demostró que la técnica de digestibilidad con pepsina con el método de filtración reflejó con mayor precisión los resultados obtenidos con las mediciones de digestibilidad hechas con la técnica de alimentación precisa con gallos, esto confirma lo propuesto por Parsons (1991) con respecto a que la digestibilidad de la proteína en los ingredientes de origen animal correlaciona con la digestibilidad de la lisina medida *in vivo*. Además de que la concentración de pepsina empleada en el presente trabajo, es la que mejor correlacionó con la digestibilidad de la proteína, por lo que es la adecuada para los ingredientes de origen animal, como fue demostrado por Parsons (1990) con harina de plumas y harina de carne. Sin embargo, esto no concuerda con lo publicado por Moritz y Latshaw (2001) en una evaluación de la calidad medida con pepsina en harina de plumas procesada a diferente temperatura y presión, ya que la digestibilidad de la proteína no mostró diferencias entre las dos concentraciones de pepsina que fueron comparadas.

La técnica de digestibilidad en pepsina con el método de ninhidrina, tuvo una menor correlación que la técnica anterior, sin embargo la ventaja de la misma es que requiere un tiempo de incubación 32 veces menor a la técnica por filtración por lo que pudiera ser una opción con potencial para la industria de alimentos; además, se observó que la digestibilidad encontrada en la harina de pescado tratada en el autoclave por 90 minutos, tuvo un valor muy lejano al obtenido con la técnica *in vivo*, por lo que esa técnica deberá ser evaluada con detenimiento en ingredientes con mayor tiempo de calentamiento, antes de tomar una decisión al respecto.

En el caso del método pH Stat modificado, no se encontró una respuesta que indique que sea confiable para predecir lo que ocurre con la digestibilidad de la proteína medida con la técnica de alimentación precisa, esto no concuerda con lo expuesto por Parsons (1991), quien señala a esta técnica como una alternativa con potencial para predecir en nivel de calidad de las materias primas. Posiblemente, esto se debió a que en el presente trabajo, sólo se utilizó tripsina porcina durante el desarrollo de la digestión proteica.

Experimento 3.

La respuesta productiva de los pollos al final del experimento se mostró en el Cuadro 12. En lo que se refiere al peso de los pollos alimentados con las dietas elaboradas con el método de formulación AT, los resultados encontrados indicaron un mejor peso en las aves alimentadas con la dieta AT60, similar al del tratamiento AT90, con una menor respuesta en los tratamientos AT0 y AT30.

Posiblemente la diferencia mencionada, se obtuvo al formular la dieta del tratamiento AT60, pensada para cubrir la demanda de aminoácidos totales que marca el NRC (1994), con ello se generó de manera indirecta un aporte (Cuadros 5 y 6) de metionina + cistina digestibles superior (0.68 %), al requerimiento marcado (0.65 %) para la etapa de crecimiento; e igual (0.56 %) al requerimiento sugerido para la etapa de finalización (0.56 %). Esos requerimientos se obtuvieron al promediar las demandas de aminoácidos azufrados digestibles recomendadas por Baker (1997) para la etapa de crecimiento (machos 0.67 % y hembras 0.63 %) y finalización (machos 0.57 % y hembras 0.55 %),

ya que se trabajó en el experimento con una parvada mixta. Esto permitió que en el tratamiento AT60, se pudiera satisfacer el requerimiento más alto de aminoácidos azufrados digestibles de los pollos machos. Lo que a diferencia de las hembras, les permitió expresar su potencial de crecimiento, ganando más peso (Scott et al., 1973; Broadbent et al. 1981).

En cambio, en las dietas AT30 y AT90 elaboradas para la etapa de finalización, el aporte de metionina + cistina total fue correcto, de acuerdo al NRC (1994), pero indirectamente esas dietas aportaron un nivel menor de aminoácidos digestibles al marcado como requerimiento (0.56 %) para una parvada sin sexar (Baker, 1997), esto se reflejó en un menor rendimiento de los pollos en los dos tratamientos mencionados.

Por lo ya expuesto en los dos párrafos anteriores, los resultados obtenidos con el método formulación AT, es una respuesta que en sí misma habla en favor de la formulación con base a un patrón de aminoácidos digestibles.

La respuesta generada con la formulación con base en AT es similar a la obtenida por otros investigadores que incorporaron materias primas proteicas dañadas térmicamente, en donde se presentó una relación inversa entre el tiempo de exposición al calor con el rendimiento productivo de las aves (Anderson-Hafermann et al., 1992; Parsons et al., 1992; Anderson-Hafermann et al., 1993; Fernández et al., 1994; Fernández y Parsons, 1996; Zhang y Parsons, 1994; Wang y Parsons, 1997).

Por otra parte, no se detectaron diferencias en la ganancia de peso entre las aves de los tratamientos del método de formulación con base en aminoácidos digestibles, siendo ésta más favorable y uniforme que la generada en las cuatro dietas del método de aminoácidos totales. A pesar de que no hubo diferencias en las medias de ganancia de peso entre los dos métodos de formulación evaluados, se puede afirmar que, los pollos machos alimentados con las dietas elaboradas con base en aminoácidos digestibles, fueron restringidos en el consumo de aminoácidos azufrados, ya que las dietas aportaron un nivel subóptimo de esos aminoácidos, cantidad que se obtuvo al promediar las

demandas de aminoácidos marcadas para hembras y machos (Baker, 1997) ya que en el presente trabajo se utilizó una parvada mixta, que se comparó contra una similar de acuerdo a la formulación con el NRC (1994).

Otro factor a considerar es que, el aporte de aminoácidos totales y digestibles fue muy parecido en las dietas experimentales usadas en la etapa de iniciación en ambos métodos de formulación, por lo cual durante la mitad de la engorda (21 días), los animales recibieron un alimento de composición muy similar. La respuesta más uniforme que se observó en las aves que recibieron las dietas elaboradas con el método de aminoácidos digestibles, concuerda con los resultados reportados en trabajos de investigación desarrollados con otros ingredientes proteicos de baja calidad (Fernandez et al., 1995); o calidad variable en la cantidad de aminoácidos y en su digestibilidad (Wang y Parsons, 1997; Douglas y Parsons, 1999), lo que permitió generar una mejor respuesta productiva con la formulación a un patrón de aminoácidos digestibles.

La formulación de alimentos balanceados para aves empleando el concepto de la proteína ideal, es una herramienta confiable que permite optimizar el uso de las fuentes de proteína para la alimentación animal, en particular cuando estas son de baja calidad (Fernández, 1996); esta técnica científica fue probada en granjas comerciales (González Rubio et al., 1997); también ha sido evaluada para cubrir demandas específicas de aminoácidos azufrados de aves de emplume lento (González Rubio et al., 1997a); ha permitido mejorar los criterios sobre el uso de ingredientes distintos a los proteicos (González Rubio et al., 1997b); además de evaluar el efecto del grado de procesamiento con calor en ingredientes proteicos de origen vegetal (Martínez et al., 1996); también se ha contrastado con el método de formulación tradicional de aminoácidos totales (Surisdiarto y Farrel, 1991; González Rubio et al., 1997).

Es importante mencionar que esta técnica se sigue evaluando y continúa en expansión hacia otros sistemas de producción avícola (Firman y Boling, 1998; Coon y Zhang, 1999) conforme se genera más información sobre las demandas de aminoácidos digestibles en los animales.

De acuerdo con la información generada en este trabajo experimental se deduce, que el uso del criterio de la proteína ideal, formulando a un perfil de aminoácidos digestibles, permite el uso de ingredientes sobreprocesados con calor de menor calidad, lo que se traduce en un mejor y más uniforme rendimiento en los pollos de engorda. Ésta es una herramienta nueva para algunos nutriólogos, que genera incertidumbre, fundamentalmente, porque se duda de la calidad (digestibilidad de aminoácidos) de las materias primas; sin embargo, ya se cuenta con información confiable del valor de digestibilidad de los aminoácidos en un importante número de materias primas originarias de nuestro país (Mariscal et al., 1995). Un elemento importante a considerar, es el identificar a proveedores de materias primas con un nivel de calidad consistente y uniforme en cada lote empleado en la formulación.

La formulación con aminoácidos digestibles, permite incorporar a las dietas ingredientes proteicos distintos a los convencionales (Fernández et al., 1995), y formular de acuerdo a las distintas condiciones ambientales (Baker y Chung, 1992). Por otra parte, si se optimiza el uso de la proteína dietaria con un mejor balance de aminoácidos, se mejoran las condiciones de alojamiento de los animales por una menor producción de amoníaco (Kerr, 1993). Y en granjas con alta densidad de población, se disminuye el impacto ambiental por la producción de desechos con menos nitrógeno (Kerr, 1995).

La digestibilidad de los aminoácidos idealmente deberá incidir en una mejor respuesta animal al disminuir los excesos y desequilibrios de aminoácidos, además de eliminar los problemas relacionados con la definición de las demandas de aminoácidos al considerar la necesidad de lisina, como un punto de referencia para el cálculo del requerimiento de los aminoácidos restantes (Baker y Chung, 1992).

Por último, es importante seguir informados sobre los avances que se generan en los distintos campos del conocimiento, uno de ellos es el expuesto en el presente trabajo, debemos ser promotores de la aplicación responsable de nuevas tecnologías, en particular de aquellas que sean respetuosas del medio ambiente, como puede ser la alimentación práctica con los criterios que establece la proteína ideal.

CONCLUSIONES.

La harina de pescado elaborada con sardina es un ingrediente proteínico de excelente calidad que puede emplearse en la alimentación de pollos de engorda.

La cocción adicional de la harina de pescado comercial en el autoclave a intervalos de 30 minutos hasta 90 minutos, redujo la digestibilidad verdadera de los aminoácidos.

La formulación con base en un patrón de aminoácidos digestibles es una técnica confiable que tiene un impacto más tangible cuando se incorporan materias primas con menor nivel de calidad a dietas de tipo práctico para pollos, además de que permite obtener una respuesta productiva mejor y más uniforme en los animales.

La formulación de dietas con aminoácidos totales de acuerdo a las normas del NRC, a las que se les incorporó parcialmente harina de pescado con distinto grado de calidad, generó una respuesta variable en los pollos.

La técnica analítica de cromatografía líquida de alta resolución para medir la concentración de aminoácidos en las materias primas, no refleja el nivel real de su calidad proteica, en particular cuando éstas son dañadas térmicamente, por ello la técnica para medir la digestibilidad de aminoácidos *in vivo* es una herramienta importante para evaluar la calidad de insumos proteínicos empleados en la alimentación avícola.

Las dos técnicas *in vitro* para estimar la digestibilidad en pepsina de la proteína, fueron útiles para establecer una relación con la digestibilidad verdadera promedio de aminoácidos esenciales determinada *in vivo*.

LITERATURA CITADA.

- Abdo de la P., M. 1994. Estudio de algunos parámetros de calidad de harinas de pescado utilizadas en la nutrición del camarón blanco *Penaeus vannamei*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Allen, R. 1992. Ingredient analysis table: 1992 edition. Feedstuffs Reference Issue. Jul 16, 64(29), pp. 26-30.
- Anderson-Hafermann, J.C., Y. Zhang and C.M. Parsons. 1992. Effect of heating on nutritional quality of conventional and Kunitz trypsin inhibitor-free soybeans. Poultry Sci. 71:1700-1709.
- Anderson-Hafermann, J.C., Y. Zhang and C.M. Parsons. 1993. Effects of processing on the nutritional quality of canola meal. Poultry Sci. 72:326-333.
- Andrews, J.N. 1988. Control de calidad de molinos de alimentos. National Renderers Association, Inc. Washington, D.C., U.S.A. pp. 13-26.
- Antillón, A. y C. López. 1987. Enfermedades nutricionales de las aves. 1ra. ed. Sistema de Universidad Abierta, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. México, D.F. México. pp. 451-463.
- A.O.A.C. 1990. Official methods of analysis. 15th. ed. Association of Analytical Chemists, Washington, D.C., U.S.A.
- Asghar, A. and R. Henrickson. 1982. Chemical, biochemical, functional, and nutritional characteristics of collagen in food systems. Adv. Food. Res. 28:231-272.
- Araba, M. and N.M. Dale. 1990a. Reliability of protein solubility as an indicator of over processing of soybean meal for broiler chicks. Poultry Sci. 69:76-83.
- Araba, M. and N.M. Dale. 1990. Evaluation of protein solubility as an indicator of under processing of soybean meal for broiler chicks. Poultry Sci. 69:1749-1752.
- Austic, R.E. 1978. Nutritional interactions of amino acids. Feedstuffs. 50(29):24-26.
- Austic, R.E. and M. L. Scott. 1991. Nutritional Diseases Chapter 2, in Diseases of Poultry, 9th ed. Edited by B. W. Calnek. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA. pp. 45-71.
- Ávila, G.E. 1986. Alimentación de las aves. Editorial Trillas, S.A. de C.V. México, D.F., México.

- Ávila, G. E. 1992. Avances recientes sobre las necesidades de aminoácidos de los pollos de engorda. Cuarto Ciclo de Conferencias sobre Aminoácidos Sintéticos. FERMEX. México, D.F. México. pp. 13-19.
- Baker, D.H., R.S. Kats, and R.A. Easter. 1975. Lysine requirements of growing pigs as two levels of dietary protein. *J Anim. Sci.* 40:851-860.
- Baker, D.H. and R.A. Easter. 1976. Soy protein as a source of amino acids for nonruminant animals. In: L.D. Hill (Ed.) *World soybean research*. pp. 969-976. Interstate Printers and Publishers, Danville, Ill: U.S.A.
- Baker, D.H. 1981. Amino acid nutrition for animals. News and review. No. 4. Kyowa Hakko Kogyo Co., LTD. Chesterfield, MO. U.S.A. pp. 1-48.
- Baker, D.H., K.W. Bafundo, K.P. Boebel, G.L. Czarnecki and K.M. Halpin. 1984. Methionine peptides as potential food supplements: efficacy and susceptibility to Maillard browning. *J. Nutr.* 114:292-297.
- Baker, D.H. 1986. Problems and pitfalls in animal experiments designed to establish dietary requirements for essential nutrients. *J. Nutr.* 116: 2339-2349.
- Baker, D.H. 1991. Partitioning of nutrients for growth and other metabolic functions: Efficiency and priority considerations. *Poultry Sci.* 70:1797-1805.
- Baker, D.H. and T.K. Chung. 1992. Ideal protein for swine and poultry. FERMEX Technical Review-4. pp. 1-16. Nutri-Quest, Inc. Chesterfield, MO. U.S.A.
- Baker, D.H. 1994. Utilization of precursor for L-amino acids. In *Amino acids in farm animal nutrition*. pp. 37-61. Edited by J.P.F. D'Mello. CAB INTERNATIONAL. Wallington, U.K.
- Baker, D.H. and Y. Han. 1994. Ideal amino acid profile for chick during the first three weeks pos hatching. *Poultry Sci.* 73:1441-1447.
- Baker, D.H. 1995. Proteína Ideal: Para formulaciones exactas de alimentos para cerdos y aves. Memoria del VII Congreso Nacional AMENA. Veracruz, Ver. pp. 1-9.
- Baker, D.H. 1995a. Ideal protein for broiler chicks. Multi State Poultry Feeding and Nutrition Conference. pp. 7-13.
- Baker, D.H., R.A. Easter, M. Ellis, J.L. Beverly and G.R. Hollis. 1997. Nutrient allowances for swine. *Feedstuffs Reference Issue*. July 24. (69):34. Minnetonka, Minn. U.S.A.
- Baker, D.H. 1997. Ideal amino acid profiles for swine and poultry and their applications in feed formulation. FERMEX Technical Review-9. pp. 1-21. Nutri-Quest, Inc. Chesterfield, MO., U.S.A.

- Barlow, S.M. and I.H. Pike. 1992. Fish and oil production and markets 1990: Future developments. Seminario Internacional sobre Calidad de Harinas de Pescado en Nutrición Animal Acuícola y Pecuaria. Vol. I. Monterrey, Nuevo León. México. pp. 1-3.
- Barlow, S.M. and M.L. Windsor. 1984. Fishing By-products. International Association of Fish Meal Manufacturers, IAFMM. Technical Bulletin No. 19. pp. 1-21.
- Best, P. y C. Gill. 1998. En auge: Ventas de aminoácidos. Alimentos balanceados para animales. Mayo/Junio. Vol. 5. No. 3. Mt. Morris, IL. U.S.A.
- Boctor, A.M. and A.E. Harper. 1968. Measurement of available lysine in heated and unheated foodstuffs by chemical and biological methods. J. Nutr. 94:289-296.
- Bonn, G.D., D.D. Elmhorn, G.G. Ludwigshafen, H.H. Celle, K.K. Cuxhaven, H.T. Hanau. 1991. Los aminoácidos en la nutrición animal. DEGUSSA. Frankfurt, Alemania.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Anal. Biochem. 72:248-254.
- Brenes, A., B.A. Rotter, R.R. Marquart, and W. Guenter. 1993. The nutritional value of raw, autoclaved and dehulled peas (*Pisum sativum* L.) in chicken diets as affected by enzyme supplementation. Can. J. Anim. Sci. 73: 605-614.
- Brill Corporation V.7. Software. Atlanta, Georgia. U.S.A.
- Bourgeois, C. 1986. I. Fundamentos de la producción y aplicación de preparaciones proteínicas. Evolución del valor agregado de las proteínas de origen animal. En: Proteínas animales. C.M. Bourgeois y P.Le Roux. El Manual Moderno S.A. de C.V.
- Broadbent, L.A., B.J. Wilson and C. Fisher. 1981. The composition of the broiler chicken at 56 days of age: output, components and chemical composition. Br. Poultry Sci. 22:385-390.
- Burgoon, K.G., D.A. Knabe and E.J. Gregg. 1992. Digestible tryptophan requirements of starting, growing and finishing pigs. J. Anim. Sci. 70:2493-2500.
- Bustillo, R., M. Cuca G., M. Cervantes R. y E. Ávila G. 1991. Caracterización del valor nutritivo de pastas de soya y frijol soya mediante pruebas de laboratorio. Agrociencia serie Ciencia Animal. Vol. 1. Num. 2: 91-100. Mayo-Agosto.
- Buttery, P.J. and J.P.F. D'Melo. 1994. Amino Acid Metabolism in Farm Animals: An Overview, In: J.P.F. D'Melo (Ed.) Amino Acids in Farm Animal Nutrition. CAB INTERNATIONAL, Wallingford, Oxon, UK, pp. 1-10.

- Carpenter, K.J. and V.H. Booth. 1973. Damage to lysine in food processing: Its measurement and its significance. Commonwealth Bureau of Nutrition. Nutrition Abstracts & Reviews. 43(6):424-451.
- Castaldo, D.J. 1994. Redesigning poultry feeds based on the "new NRC". Feed International, Vol. 15, No. 12, Watt Publishing Company, Mt Morris, IL. U.S.A. pp. 26-32.
- Castaldo, D.J. 1994a. The North American Feed Industry, Chapter 2 in: Feed Manufacturing Technology IV. American Feed Industry Association, Inc. Arlington, VA. U.S.A. pp. 12-18.
- Castañeda, E.O., D.J. Sierra y J.A. Cuarón. 1995. Lisina en función de la proteína, cuando se formula a un perfil ideal de aminoácidos para cerdos en crecimiento. monogástricos. Memorias del VII Congreso Nacional AMENA. 2 - 4 de Noviembre, Veracruz, Ver. México. p. 190.
- Castro-Campos, E. 1987. Erosiones de la molleja y vómito negro aviar: Prevención a través del control de calidad a las harinas de pescado. Avicultura Profesional. Vol. 5 (2): 55-56.
- Castrillón, A.M., M.P. Navarro and M.T. García-Arias. 1996. Tuna protein nutritional quality changes after canning. J. Food Sci. 61: 1250-1253.
- Cave, N.A. 1988. Bioavailability of amino acids in plants feedstuffs determined by in vitro digestion, chick growth assay and true amino acids availability methods. Poultry Sci. 67:78-87.
- Cervantes, R.M., G.L. Cromwell, and T.S. Stahly. 1992. Amino acid supplementation of low protein, grain sorghum –soybean meal diets for pigs. J. Anim. Sci. 70: 115(Abstr.).
- Cervantes, R.M. y G.L. Cromwell. 1997. Adición de aminoácidos, vitaminas y minerales a dietas de sorgo-pasta de soya bajas en proteína, para cerdos en crecimiento. Agrociencia. Vol. 31: Núm. 2:143-148. Abril-Junio.
- Cervantes, R.M., G. Cromwell y D. Knabe. 1997. Digestibilidad de aminoácidos en dietas bajas en proteína, complementadas con aminoácidos en cerdos en crecimiento. Agrociencia. Vol. 31: Núm. 2:149-155. Abril-Junio.
- Church, D.C. y W.G. Pond. 1987. Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. 1ra. Ed. Editorial Limusa S.A. de C.V. México, D.F. México. pp. 23.
- Chuyen, N.V. 1998. Maillard reactions and food processing. Application aspects. Adv. Exp. Med. Biol. 434:213-235.

- Cook, D.A., A.H. Jensen, J.R. Fraley and T.H. Hymowitz. 1988. Utilization by growing and finishing pigs of raw soybean low kunitz trypsin inhibitor content. *J. Anim. Sci.* 66:1686-1691.
- Coon, C. and B. Zhang. 1999. Ideal amino acid profile for layers examined. *Nutrition and health/poultry. Feedstuffs*, April 5. pp. 13, 14, 15 y 31.
- Corrales, R. 1988. Elaboración de Harinas de Pescado. Memorias del Seminario Nacional de Nutrición y Alimentación Acuícola. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, N.L. México. pp. 15-37.
- Cruz, E. y D. Ricque, Compiladores. 1992. Contenido de aminoácidos disponibles en la harina de pescado. AFMM International Association of Fish Meal Manufacturers. Memoria del seminario internacional sobre calidad de harinas de pescado en nutrición animal, acuícola y pecuaria. Vol. I. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. pp. 1-11.
- Cuaron, J.A., R.P. Chapple and R.A. Easter. 1984. Effect of lysine and threonine supplementation of sorghum gestation diets on nitrogen balance and plasma constituents in firts- litter gilts. *J. Anim. Sci.* 58:631-63.
- Cuarón, J.A. 1991. Uso eficiente de los aminoácidos en la alimentación de los cerdos en México. Memorias del Tercer Ciclo de Conferencias sobre Aminoácidos Sintéticos. FERMEX. México, D.F. México. pp. 14-31.
- Cuarón, J.A. 1993. Evaluación de la nutrición de aminoácidos en cerdos en México. Memorias del Quinto Ciclo de Conferencias sobre Aminoácidos Sintéticos. FERMEX. México, D.F. México. pp. 25-34.
- Cuca, G.M., E. Ávila G. y A. Pró M. 1990. Alimentación de las aves. Colegio de Posgraduados. Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. Montecillo, Edo. de México. México.
- Cuca, G.M. 1990. Estudios recientes sobre necesidades de arginina para pollos de engorda. Memorias del Segundo Ciclo de Conferencias sobre Aminoácidos Sintéticos. FERMEX. México, D.F. México. pp. 26-37.
- Czarnecki, G.L. and D.H. Baker. 1982. Utilization of D and L tryptophan by the growing dog. *J. Anim. Sci.* 55: 1405-1410.
- Czarnecki, G.L., D.A. Hirakawa and D.H. Baker. 1985. Antagonism of arginine by excess dietary lysine in the growing dog. *J. Nutr.* 115: 743-752.
- Dale, N. 1994. Solubilidad de la proteína: Indicador del procesado de la harina (pasta) de soya. Departamento de Extensión Aviar, Universidad de Georgia Athens, Georgia, U.S.A. Asociación Americana de la Soya. México, A.N. No.89.

- Dale, N.M., M. Araba, and E. Whittle. 1987. Protein solubility as an indicator of optimum processing of soybean meal. Proceeding of Georgia Nutrition Conference. University of Georgia Athens. p. 88.
- Dale, N.M., and M. Araba. 1988. Protein solubility as an indicator of under processing of soybean meal for broiler chicks. Poultry Sci. 67. (Suppl. 1):11(Abstr.).
- De Groot, A.P. and P Slump. 1969. Effects of severe alkali treatment of proteins on amino acid composition and nutritive value. J. Nutr. 98:45-56.
- DEGUSSA, A.G. 1997. Aminodat V.1.1. Software. Frankfurt, Germany.
- Desrosiers, T. and L. Savoie. 1991. Extent of damage to amino acid availability of whey protein heated with sugar. J. Dairy Res. 58(4):431-441.
- D'Melo, J.P.F. 1994. Amino Acid Imbalance, Antagonisms and Toxicities, In: J.P.F. D'Melo (Ed.) Amino Acids in Farm Animal Nutrition. CAB INTERNATIONAL, Wallingford, Oxon, UK, pp. 63-97.
- Douglas, M.W. and C.M. Parsons. 1999. Dietary formulation with rendered spent hen meals on a total amino acid versus a digestible amino acid basis. Poultry Sci. 78: 556-560.
- Dudley-Cash, W.A. 1994. Ninth revised edition of NRC for poultry is both bigger, better. Feedstuffs, June 6. p. 15. Minnetonka, Minn. U.S.A.
- Dudley-Cash, W.A. 1999. Methods for determining quality of soybean meal protein important. Feedstuffs. January 4. pp. 10-11.
- Easter, R.A. and D.H. Baker. 1980. Lysine and protein levels in corn-soybean meal diets for growing-finishing swine. J. Anim. Sci. 50:467-476.
- Edmonds, M.S. and D.H. Baker. 1987. Amino acids excesses for young pigs: effects of excess methionine, tryptophan, threonine and leucine. J. Anim. Sci. 64: 1664-1671.
- Edmonds, M.S. and D.H. Baker. 1987a. Failure of excess dietary lysine to antagonize arginine in young pigs. J. Nutr. 117:1369-1401.
- Emmert, J.L. and D.H. Baker. 1997. A chick bioassay approach for determining the bioavailable choline concentration in normal and overheated soybean meal, canola meal and peanut meal. J. Nutr. 127:745-752.
- Fernández, S.R. y C.M. Parsons. 1993. Evaluación del procesamiento en pastas de oleaginosas con el colorante azul de commassie. Memoria del XI Ciclo de Conferencias Internacionales sobre Avicultura. Colegio de Posgraduados, AMENA y ANECA. México, D.F. y Montecillo, Edo. de México. pp. 127-145.

- Fernandez, S.R., Y. Zhang, and C.M. Parsons. 1993. Determination of protein solubility in oilseed meals using coomassie blue dye binding. *Poultry Sci.* 72:1925-1930.
- Fernández, S.R., Y. Zhang and C.M. Parsons. 1994. Effect of overheating on the nutritional quality of cottonseed meal. *Poultry Sci.* 73:1563-1571.
- Fernandez, S.R., Y. Zhang and C.M. Parsons. 1995. Dietary formulation with cottonseed meal on a total amino acid versus a digestible amino acid basis. *Poultry Sci.* 74:1168-1179.
- Fernández, S.R. 1996. Aminoácidos digestibles en la formulación de dietas para el pollo de engorda. Memoria del XII Ciclo de Conferencias Internacionales sobre Avicultura. AMENA. Guadalajara, Jal. México. pp. 41-52.
- Fernández, S.R. 1996a. Proteína Ideal en la alimentación del pollo de engorda. Memoria de AFIA-AGRO MÉXICO 96'. Junio 12 - 15. Guadalajara, Jal. México. pp. 1-12.
- Fernandez, S.R. and C.M. Parsons. 1996. Bioavailability of digestible lysine in heat-damage soybean meal for chick growth. *Poultry Sci.* 75:224-231.
- Figueroa, C.J.D., F. Martínez B., J. González H., F. Sánchez S., J.L. Martínez M. y M. Ruiz T. 1994. Modernización tecnológica del proceso de nixtamalización. Avance y Perspectiva. IPN-CINVESTAV. Vol. 13, noviembre-diciembre. pp. 323-329.
- Firman, J.D. and S.D. Boling. 1998. Ideal protein in turkeys. *Poultry Sci.* 77: 105-110.
- Flores, C.E., R.E. Rojas, E. Ávila G. y A.A. Aguilera. 1985. Valor nutritivo de tres harinas de pescado en dietas prácticas para pollos de engorda. *Vet. Mex.* 16: 239-250.
- Ford, J. and C. Shorrock, 1971. Metabolism of heat damage proteins in the rat. Influence of heat damage on the excretion of amino acids and peptides in the urine. *Br. J. Nutr.* 26:311-322.
- Fowler, V.R. 1990. El concepto de proteína ideal. Memorias del Segundo Ciclo de Conferencias Internacionales sobre Aminoácidos Sintéticos. FERMEX. Septiembre. México, D.F. México. pp. 15-25.
- Fuller, M.F. 1991. *In vitro* digestion for pigs and poultry. CAB INTERNATIONAL. United Kingdom.
- Ganong, F.W. 1992. Fisiología Médica. 13a. ed. El Manual Moderno, S.A. de C.V., México, D.F. México. p. 437.
- Gatel, F. and, J. Fekete. 1989. Lysine and threonine balance and requirements for weaned piglets 10-25 kg live weight fed cereal based diets. *Livest. Prod. Sci.* 23: 195-206.

- González Rubio, R., F.J., D. Camacho, E. Ávila G. y J.A. Cuarón I. 1997. Formulación al perfil de proteína ideal para pollos de engorda. Memorias del VII Congreso Nacional AMENA. Octubre 30- Noviembre 1ro. Puerto Vallarta, Jalisco, México.
- González Rubio, R., F.J., D. Camacho, y J.A. Cuarón I. 1997a. Dos métodos de formulación para la estimación de la demanda de aminoácidos azufrados digestibles del pollo de engorda. XXIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Veracruz, Ver. México.
- González Rubio, R., F.J., D. Camacho, y J.A. Cuarón I. 1997b. Sorgo o maíz en dietas para pollo de engorda formuladas a un perfil de aminoácidos digestibles. XXXIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Veracruz, Ver. México
- Green, S. and T. Kiener. 1989. Digestibility of nitrogen and amino acids in soybean, sunflower, meat and rapeseed meals measured with pigs and poultry. *Anim. Prod.* 48: 157-179.
- Han, Y., H. Suzuki, C.M. Parsons, and D.H. Baker. 1992. Amino acid fortification of a low-protein corn and soybean meal diet for chicks. *Poultry Sci.* 71:1168-1178.
- Hendricks, W.H., M.M.A. Emmens, B. Trass and J.R. Pluske. 1999. Heat processing changes the protein quality of canned cat foods as measured with a rat bioassay. *J. Anim. Sci.* 77:669-676.
- Herkelman, K.L., G.L. Cromwell, A.H. Cantor, T.S. Stahly and T.W. Pfeiffer. 1993. Effects of heat treatment on the nutritional value of conventional and low trypsin inhibitor soybeans for chicks. *Poultry Sci.* 72:1359-1369.
- Heusuck, L. and J.D. Garlich. 1992. Effect of overcooked soybean meal on chicken performance and amino acid availability. *Poultry Sci.* 71:499-508.
- Hsu, H.W., D.L. Vavak, L.D. Satterlee and G.A. Miller. 1977. A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *J. Food Sci.* 42: 1269-1273.
- Hurrel, R.F. and K.J. Carpenter. 1977. Nutritional significance of cross-link formation during food processing. *Adv. Exp. Med. Biol.* 86B:225-238.
- Hurrel, R.F. and P.A. Finot. 1983. Food processing and storage as a determinant of protein and amino acid availability. *Experiential Suppl.* 44:135-156.
- Ito, Y., H. Terao, and T. Noguchi. 1988. Gizzerosine raises the intracellular cyclic adenosine-3',5'- monophosphato level in isolated chicken proventriculus. *Poultry Sci.* 67:1290.

- Jensen, L.S. 1991. Broiler performance as affected by intact proteins versus synthetic amino acids. Proceedings Georgia Nutrition Conference for the Feed Industry. Atlanta, Georgia, U.S.A. pp. 54-69.
- Jerez, S.M.P., J.G. Herrera H., A. Pró M. y M. Cuca G. 1991. Evaluación genético nutricional del crecimiento del pollo de engorda. *Agrociencia*, Vol. 1. No. 1:55-68. Enero-Abril.
- Johnson, G.H., D.H. Baker and E.G. Perkins. 1977. Nutritional implications of the Maillard reaction: the availability of fructose-phenylalanine to the chick. *J. Nutr.* 107:1659-1664.
- Johnson, G.H., D.H. Baker and E.G. Perkins. 1979. Nutritional implications of the Maillard reaction. The metabolism of fructose-phenylalanine in the rat. *J. Nutr.* 109:590-596.
- Johnson, M.L., C.M. Parsons, G.C. Fahey, Jr., N.R. Merchen and C.G. Aldrich. 1998. Effects of species raw material source, ash content, and processing temperature on amino acid digestibility of animal by-product meals by cecectomized roosters and ileally cannulated dogs. *J. Anim. Sci.* 76:1112-1122.
- Jones, S.J., E.D. Aberle and M.D. Judge. 1986. Skeletal muscle protein turnover in broiler and layer chicks. *J. Anim. Sci.* 62: 1576-1583.
- Kabat, E.A. y M.M. Mayer. 1968. *Inmunoquímica Experimental*. La Prensa Médica Mexicana. México, D.F. México. pp. 856.
- Katz, S.H., M.L. Hediger and L.A. Valleroy. 1974. Traditional maize processing techniques in the New World. *Science*, No. 184. p. 165.
- Kerr, B.J. 1993. Revisión crítica de la investigación sobre dietas bajas en proteína y suplementadas con aminoácidos cristalinos para pollos de engorda. Memoria del Quinto Ciclo de Conferencias sobre Aminoácidos Sintéticos. FERMEX Sept. 24, México, D.F., México. pp. 35-83.
- Kerr, B.J. 1994. Consideraciones prácticas en la utilización del concepto de la proteína ideal en pollo de engorda. Memoria del Sexto Ciclo de Conferencias sobre Aminoácidos Sintéticos. FERMEX. Sept. 23, México, D.F. México. pp. 28-39.
- Kerr, B.J. 1995. Métodos para reducir la excreción de nitrógeno al medio ambiente en animales monogástricos. Memoria del VII Congreso Nacional AMENA. 2 - 4 de Noviembre, Veracruz, Ver. México. pp. 85-129.
- Knabe, D.A., D.C. LaRue, E.J. Gregg. 1989. Apparent digestibility of nitrogen and amino acids in protein feedstuffs by growing pigs. *J. Anim. Sci.* 67:441-458.

- Leeson, S. 1996a. Regulación del crecimiento del pollo de engorda y composición de la canal. Memoria del XII Ciclo de Conferencias Internacionales sobre Avicultura. AMENA. Guadalajara, Jal. México. pp. 58-62.
- Leeson, S. 1996. Control de calidad en las materias primas. Memoria AFIA-AGRO MÉXICO 96'. Junio 12 - 15. Guadalajara, Jal. México. pp. 1-17.
- Likuski, H.J.A. and H.G. Dorell. 1978. A bioassay for rapid determinations of amino acid availability. *Poultry Sci.* 57:1658-1660.
- Maier, D.E. and F.W. Bakker-Arkema. 1992. The counterflow cooling of feed pellets. *J. Agric. Engng. Res.* 53:305-319.
- Mariscal, G., E. Ávila, I. Tejada, J.A. Cuarón y C. Vásquez. 1995. Contenido de aminoácidos totales y digestibles verdaderos para aves y cerdos de los principales ingredientes utilizados en Latinoamérica. Centro Nacional de Investigación en Fisiología y Mejoramiento Animal, INIFAP, México.
- Mariscal, G. 1997. Digestibilidad Ileal, una herramienta para formular a Proteína Ideal. Memoria del Séptimo Ciclo de Conferencias Internacionales sobre Aminoácidos Sintéticos. FERMEX. Septiembre. México, D.F. México.
- Martínez A., C., M. Cuca G., G. Mendoza M. y J. Herrera H. 1996. Digestibilidad y valor nutritivo de aminoácidos del sorgo y de soya en diversas formas en dietas para pollos de engorda. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 4(1):7-17.
- Masumura, T. and M. Sugahara. 1985. The effect of gizzerosine, a recently discovered compound in overheated fish meal, on the gastric acid secretion in chicken. *Poultry Sci.* 64:356-361.
- Mauron, J. 1990. Influence of processing on protein quality. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 36 Suppl. 1:S57-69.
- Maynard, L.A., J.K. Loosli, H.F. Hintz y R.G. Warner. 1981. *Nutrición Animal*. 7th ed., McGraw-Hill de México, S.A. de C.V. México, D.F. México. p. 145.
- Mc Nab, J.M. 1994. Amino acid digestibility and availability studies with poultry. In *Amino acids in farm animal nutrition*. Edited by J.P.F. D'Mello. CAB INTERNATIONAL. Wallington, U.K. pp. 185-203.
- McNaughton, J.L. and F.N. Reece. 1980. Effect of moisture content and cooking time on soybean meal urease index, trypsin inhibitor content, and broiler growth. *Poultry Sci.* 59: 2300-2306.
- Meade, R.J. 1972. Biological availability of amino acids. *J. Anim. Sci.* 35 (3):713-723.

- Miller, E.L. 1970. F.A.O. Available Amino Acid Content of Fish Meals. F.A.O. Fish, (92).
- Montaño, M.H. y M.M. Terrazas. 2000. Respuesta productiva de la codorniz de postura ante una dieta baja en proteína. Memoria del VIII Congreso Internacional de Nutrición Animal. GNMNA. Chihuahua, Chih. México. pp. 58-59.
- Morales, B.E., E. Ávila G. y E. Flores C. 1991. Efecto en pollo de engorda de la adición de cimetidina a dietas con una harina de pescado causante de vómito negro. *Vet. Mex.*, XXII, 2: 143-149.
- Morales, B.E., J. Alvarado L., D. Soto C., E. Ávila G. y N. Wagner. 1998. Efecto de la adición de DL-metionina en dietas con sorgo con contenido alto y bajo en taninos, sobre el comportamiento productivo de gallinas de postura. *Vet. Méx.*, 29(1):29-33.
- Moritz, J.S., and J.D. Latshaw. 2001. Indicators of nutritional value of hydrolyzed feather meal. *Poultry Sci.* 80:79-86.
- Moughan, P.J. 1994. Modeling amino acid absorption and metabolism in the growing pig. In: J.P.F. D'Melo (Ed.) *Amino Acids in Farm Animal Nutrition*. CAB INTERNATIONAL, Wallingford, Oxon, UK, pp. 133-154.
- Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes y V.W. Rodwell. 1988. III. Metabolismo de proteínas y aminoácidos: Biosíntesis de Aminoácidos. En *Bioquímica de Harper*. 11th ed. Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V., México, D.F., México. pp. 262.
- NRC. 1976. *Nutrient Requirements of Cattle*. Ed. National Academy of Science, Washington, D.C., U.S.A.
- NRC. 1977. *Nutrient Requirements of Poultry*. 7th Ed. National Academy Press, Washington, D.C., U.S.A.
- NRC. 1984. *Nutrient Requirements of Poultry*. 8th. Ed. National Academy Press, Washington, D.C., U.S.A.
- NRC. 1988. *Nutrient Requirements of Swine*. 9th. Ed. National Academy of Science, Washington, D.C., U.S.A.
- NRC. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th. Ed. National Academy Press, Washington, D.C., U.S.A.
- NRC. 1998. *Nutrient Requirements of Swine*. 10th. Ed. National Academy Press, Washington, D.C., U.S.A.
- Palos, R.N., C.G. Vásquez y E. Ávila G. 1991. Velocidad de crecimiento del pollo de engorda comercial y su relación con el síndrome ascítico. *Vet. Mex.*, XXII: 4.

- Parsons, C.M., L.M. Potter and R.D. Brown Jr. 1981. True metabolizable energy and amino acid digestibility of dehulled soybean meal. *Poultry Sci.* 60:2687-2696.
- Parsons, C.M. 1990. Digestibility of amino acids in feedstuffs for poultry. Pages 22-29 in: *Proceedings Maryland Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. Baltimore, MD. U.S.A.
- Parsons, C.M. 1990a. Formulación de dietas prácticas en aves utilizando valores de digestibilidad de aminoácidos. Segundo Ciclo de Conferencias sobre Aminoácidos Sintéticos. FERMEX. México, D.F. México. pp. 38-47.
- Parsons, C.M. 1991. Amino acid digestibilities for poultry: feedstuff evaluation and requirements. FERMEX Technical review-1. pp. 1-15. Nutri-Quest, Inc. Chesterfield, MO., U.S.A.
- Parsons, C.M., K. Hashimoto K.J. Wedekind, Y. Han and D.H. Baker. 1992. Effect of overprocessing on availability of amino acids and energy in soybean meal. *Poultry Sic.* 71:133-140.
- Parsons, CAM. 1993. Disponibilidad de aminoácidos en alimentos para aves. *Avirama*. Feb. 3:20. p 6. México, D.F. México.
- Pearl, G.G. 1995. Proteínas y grasas de origen animal como ingredientes en alimentos para los animales. *Memorias del VII Congreso Nacional AMENA*. Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Animal, A.C. Veracruz, Ver. México. pp. 31-53.
- Pérez, L., I. Fernández-Figares, R. Nieto, J.F. Aguilera and C. Prieto. 1993. Amino acid ileal digestibility of some legume seeds in growing chickens. *Anim. Prod.* 56:261-267.
- Pérez-Mateos, M. and P. Montero. 1997. High-pressure-induced gel of sardine (*Sardian pilchardus*) washed mince as affected by pressure-time-temperature. *J. Food. Sci.* 62:1183-1188.
- Philippe, J.F., D.A. Knabe, and K.Q. Owen. 1992. Low-protein amino acid-supplemented sorghum-based diets for finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 70:235 (Abstr.).
- Pike, I.H., G. Andorsdóttir and H. Mundheim. 1990. The role of fish meal in diets for salmonids. *International Association of Fish Meal Manufacturers*. Norway. pp. 1-33.
- Pro, M.A. 1991. Algunos factores que afectan la incidencia de síndrome ascítico en pollos. *Memorias de la XXIII Reunión Anual de la A.M.P.A.* Saltillo, Coahuila, México.
- Ramírez, N.R. 1987. Normas oficiales para la fabricación de alimento balanceado. *Manual de aditivos y suplementos para la alimentación animal*. 2da. Ed. México, D.F. México. p. 251.

- Robbins, K.R., D.H. Baker and J.W. Finley. 1980. Studies on the utilization of lysinoalanine and lantionina. *J. Nutr.* 110:907-915.
- Robbins, K.R. and J.E. Ballew. 1984. Relationship of sex and body growth rate with daily accretion rates of fat, protein and ash in chickens. *Growth* 48: 44-58.
- Rojo, M.E. 1984. Enfermedades de las aves. Editorial Trillas, S.A. de C.V. México, D.F., México. pp.133-137.
- Rodwell, V.W. 1988. III. Metabolismo de proteínas y aminoácidos. En: *Bioquímica de Harper*. 11ª. Ed. Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V. México, D.F., México.
- Rosenfeld, D.J., A.G. Gernat, J.D. Marcano, J.G. Murillo, G.H. Lopez and J.A. Flores. 1997. The effect of using different levels of shrimp meal in broiler diets. *Poultry Sci.* 76:581-587.
- Russell, L.E., G.L. Cromwell and T.S. Stahly. 1983. Tryptophan, threonine, isoleucine and metionine supplementation of a 12 % protein, lysine-supplemented, corn-soybean meal diet for growing pigs. *J. Animal Sci.* 56: (5)1115-1123.
- SAS Institute , 1994. *Procedures Guide*. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Scanes, C.G. 1991. Symposium: Avian Growth and Development. Introduction. *Poultry Sci.* 70:1763.
- Schreiner, C.L. and E.E. Jones. 1987. Metabolism of methionine and methionine hydroxy analogue by porcine kidney fibroblasts. *J. Nutr.* 117: 1541-1549.
- Scott, M.L., R.J. Young y M.C. Nesheim. 1973. *Alimentación de las aves*. Ediciones GEA. Barcelona, España.
- SECOFI. *Harina de pescado para consumo animal*. NOM-Y-13-1990. México, D.F. México.
- Sibbald, I.R. 1976. A bioassay for true metabolizable energy in feedingstuffs. *Poultry Sci.* 55:303-308.
- Sibbald, I.R. 1979. A bioassay for available amino acids and true metabolizable energy in feedingstuffs. *Poultry Sci.* 58:668-673.
- Sibbald, I.R. 1984. *The T.M.E. system of feed evaluation*. Animal Research Center Ottawa, Ontario. Research Branch Agriculture Canada. Ottawa, Canada. pp. 1-89.
- Sibbald, I.R. 1987. Estimation of available amino acids in feedingstuffs for poultry and pigs: a review with emphasis on balance experiments. *Can. J. Anim. Sci.* 67:221-300.

- Sierra, D.J. y J.A. Cuarón. 1995. Constatación del valor de formulación al contenido de aminoácidos digestibles, usando un esquema de proteína ideal en dietas para cerdos en crecimiento. Memorias del VII Congreso Nacional. AMENA. 2 - 4 de Noviembre, Veracruz, Ver. México. p. 189.
- Sierra, D.J. y J.A. Cuarón. 1995a. Requerimiento de lisina con dietas formuladas a proteína ideal para lechones recién destetados. Memorias del VII Congreso Nacional AMENA. 2 - 4 de Noviembre, Veracruz, Ver. México. p. 187.
- Shimada, A.S. 1987. Fundamentos de nutrición animal comparativa. 3ra. Reimpresión. Sistema de Educación Continúa en Producción Animal en México, A.C. México, D.F., México. p. 90.
- Smith, R.E. and H.M. Scott. 1965. Measurement of the amino acid content of fish meal proteins by chick growth assay. I. Estimation of amino acid availability in fish meal proteins before and after heat treatment. *Poultry Sci.* 44:408-415.
- Smith, N.K. and P. Waldroup. 1988. Investigations of threonine requirements of broiler chicks fed diets based on grain sorghum and soybean meal. *Poultry Sci.* 67:108-112.
- Snedecor, G.W. y W.G. Cochran. 1982. Métodos estadísticos. C.E.C.S.A. S.A. de C.V. México.
- Southern, L.L. 1991. Digestible amino acids and digestible amino acid requirements for swine. FERMEX Technical review-2. pp.1-16. Nutri-Quest, Inc. Chesterfield, M.O. U.S.A.
- Sternberg, M., C.Y. Kim and F.J. Schwende. 1975. Lysinoalanina: Presence in foods and food ingredients. *Science.* Vol.190:992-994.
- Sugahara, M., D.H. Baker and H.M. Scott. 1968. Effect of different patterns of excess amino acids on performance of chicks fed amino acid-deficient diets. *J. Nutr.* 98:29-32.
- Sugahara, M., T. Hattori and T. Nakajima. 1988. Effect of synthetic gizzerosine on growth, mortality, and gizzard erosion in broiler chicks. *Poultry Sci.* 67:1580-1584.
- Sugahara, M. y O. Osuna. 1994. Las harinas de pescado y la mollerossina. *Industria Avícola.* Vol. 41. No. 3. Mount Morris, IL. U.S.A. Marzo. pp.16-17.
- Surisdiarto and D. Farrel. 1991. The relationship between dietary protein and dietary lysine requirement by broilers chicks on diets with and without the ideal amino acid balance. *Poultry Sci.* 70:830-836.
- Tagami, U., S. Akashi, T. Mizukoshi, E. Suzuki and K. Hirayama. 2000. Structural studies of the Maillard reaction products of a protein using ion trap mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* 35(2):131-138.

- Tanaka, M., T. Lee and C.O. Chichester. 1975. Nutritional consequences of the Maillard reaction. The absorption of fructose-L-tryptophan in the large intestine of the rat. *J. Nutr.* 105:989-994.
- Tarao, Y., H. Terao, T. Noguchi and H. Naito. 1988. Gizzerosine raises the intracellular cyclic adenosine-3',5' monophosphate level in isolated chicken proventriculus. *Poultry Sci.* 67:1290-1294.
- Tejada de H. I. 1983. Manual de laboratorio para análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal. Patronato de Apoyo a la Investigación y Experimentación Pecuaria en México, A.C. México, D.F., México.
- Tejada de H. I. 1986. Control de calidad de materias primas y alimentos balanceados para cerdos. Muestreo y Conservación. II Simposio Internacional Avances en la Nutrición del Cerdo. A.M.E.N.A. – A.M.V.E.C. Centro Médico Nacional., México, D.F. pp. 141-167.
- Terrazas, F. M.M. y M.M. Casas V. 1994. Sustitución de harina de pescado por harina de langostilla en dietas para pollos de engorda. XXV Reunión Nacional de la Asociación Mexicana de Producción Animal. Chihuahua, Chih. México.
- Tews, J.K., Y.L. Kim and A.E. Harper. 1980. Induction of threonine imbalance by dispensable amino acids: Relationships between tissue amino acids and diet in rats. *J. Nutr.* 110:394-408.
- Valle-Riestra, J. and R.H. Barnes. 1970. Digestion of heat-damaged egg albumen by the rat. *J. Nutr.* 100:873-882.
- Vandergrift, W.L., D.A. Knabe, T.D. Tanksley Jr. and S.A. Anderson. 1983. Digestibility of nutrients in raw and heated soyflakes for pigs. *J. Anim. Sci.* 57:1215-1224.
- Van Soest, J.P. 1994. Carbohydrates. In: *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2nd Ed. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press, Ithaca, New York, U.S.A. pp. 156-176.
- Varnish, S.A. and K.J. Carpenter. 1975. Mechanisms of heat damage in proteins 5. The nutritional values of heat-damage and propionylated proteins as sources of lysine, methionine and tryptophan. *Br. J. Nutr.* 34:325-337.
- Veltmann, J.R. Jr., B.C. Hansen, T.D. Tanksley Jr., D. Knabe and Sandra S. Linton. 1986. Comparison of the nutritive value of different heat-treated commercial soybean meals: Utilization by chicks in practical type rations. *Poultry Sci.* 65:1561-1570.
- Waldroup, P.W., B.E. Ramsey, H.M. Hellwig and N.K. Smith. 1985. Optimum processing for soybean meal used in broiler diets. *Poultry Sci.* 64:2314-2320.

- Waldroup, P.W. 1992. Dietary nutrient allowances for chickens and turkeys. Feedstuffs Reference Issue. Jul 16, 64(29), p.66.
- Wang, X. and C.M. Parsons. 1997. Effect of processing systems on protein quality of feather meals and hair meals. Poultry Sci. 76:491-496.
- Weigel, J.C. 1991. Medición de la calidad en fuentes de proteína vegetal. Memoria del X Ciclo de Conferencias Internacionales sobre Avicultura. Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Animal, A.C. México, D.F. pp. 75-82.
- Wiseman, J., S. Jaggert, D.J.A. Cole and W. Haresign. 1991. The digestion and utilization of amino acids of heat-treated fish meal by growing/finishing pigs. Anim. Prod. 53:215-225.
- Zaviezo, D. and N. Dale. 1994. Nutrient content of tuna meal. Poultry Sci. 73:916-918.
- Zaviezo, D. 1997. Nutrición proteica de las aves: De proteína cruda a proteína ideal. Memoria Técnica. Archer Daniels Midland Company. Ciales, Puerto Rico 00638-1423, U.S.A.
- Zhang, Y. And C.M. Parsons. 1993. Effects of extrusion and expelling on the nutritional quality of conventional and kunitz trypsin inhibitor free soybeans. Poultry Sci. 72:2299-2308.
- Zhang, Y. and C.M. Parsons. 1994. Effects of over processing on the nutritional quality of sunflower meal. Poultry Sci. 73:436-442.
- Zuprizal, L.M. and A.M. Chagneau. 1992. Effect of age and sex on true digestibility of amino acids of rapeseed and soybean meals in growing broilers. Poultry Sci. 71:1486-1492.

ÍNDICE DE CUADROS

| | | Página |
|-----|--|--------|
| 1. | PERFIL COMPARATIVO DE AMINOÁCIDOS REQUERIDOS POR EL POLLO DE ENGORDA SEGÚN EL NRC Y PROTEÍNA IDEAL, ETAPA DE INICIACIÓN. | 30 |
| 2. | PERFIL COMPARATIVO DE AMINOÁCIDOS REQUERIDOS POR EL POLLO DE ENGORDA SEGÚN NRC Y PROTEÍNA IDEAL, ETAPA DE CRECIMIENTO. | 32 |
| 3. | PERFIL COMPARATIVO DE AMINOÁCIDOS REQUERIDOS POR EL POLLO DE ENGORDA SEGÚN EL NRC Y PROTEÍNA IDEAL, ETAPA DE FINALIZACIÓN. | 34 |
| 4. | DIETAS EMPLEADAS PARA INCORPORAR HARINA DE SARDINA PROCESADA EN AUTOCLAVE, ETAPA DE INICIACIÓN: 0 A 21 DÍAS (EXPERIMENTO 3). | 89 |
| 5. | DIETAS EMPLEADAS PARA INCORPORAR HARINA DE SARDINA PROCESADA EN EL AUTOCLAVE, ETAPA DE CRECIMIENTO: 22 A 35 DÍAS (EXPERIMENTO 3). | 90 |
| 6. | DIETAS EMPLEADAS PARA INCORPORAR HARINA DE SARDINA PROCESADA EN AUTOCLAVE, ETAPA DE FINALIZACIÓN: 36 A 42 DÍAS (EXPERIMENTO 3). | 91 |
| 7. | ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL Y CONTENIDO DE NITRÓGENO AMONIACAL DE LA HARINA DE SARDINA CALENTADA A DISTINTOS TIEMPOS EN AUTOCLAVE (EXPERIMENTO 1). | 95 |
| 8. | CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS ESENCIALES (%) EN LA HARINA DE SARDINA CALENTADA A DIFERENTES TIEMPOS EN EL AUTOCLAVE (EXPERIMENTO 1). | 96 |
| 9. | COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDAD VERDADERA (%) EN LOS AMINOÁCIDOS DE LA HARINA DE SARDINA CALENTADA A DISTINTOS TIEMPOS EN EL AUTOCLAVE (EXPERIMENTO 1). | 99 |
| 10. | APORTE DE AMINOÁCIDOS TOTALES Y DIGESTIBLES PARA AVES DE LA HARINA DE PESCADO DE SARDINA PROCESADA A DISTINTOS TIEMPOS DE COCCIÓN. | 101 |

11. CORRELACIÓN Y CONTRASTES ORTOGONALES ENTRE LAS MEDIAS DE DIGESTIBILIDAD *in vivo* Y LA DIGESTIBILIDAD EVALUADAS CON DISTINTAS TÉCNICAS *in vitro* EN LA PROTEÍNA DE HARINAS DE PESCADO PROCESADAS EN EL AUTOCLAVE. (EXPERIMENTO 2) 104
12. RESPUESTA DE POLLOS A LOS 42 DÍAS DE EDAD A DIETAS DE MAÍZ + SOYA ADICIONADAS CON HARINA DE SARDINA PROCESADA A DISTINTO TIEMPO DE COCCIÓN. (EXPERIMENTO 2) 108
13. APORTES DE PROTEÍNA, AMINOÁCIDOS TOTALES Y DIGESTIBLES PARA AVES EN ALGUNAS HARINAS DE PESCADO REPORTADAS EN LA LITERATURA. 111

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Página |
|--|--------|
| 1. FLUJO DE PROTEÍNAS Y UTILIZACIÓN DE AMINOÁCIDOS EN LOS SITIOS EN DONDE SE MIDE LA DIGESTIBILIDAD Y DISPONIBILIDAD. | 42 |
| 2. FASES DE LA REACCIÓN DE MAILLARD ENTRE GRUPOS AMINO ÉPSILON LIBRES Y UN AZÚCAR ALDO-HEXOSA. | 59 |
| 3. DIAGRAMA DE LA METODOLOGÍA EMPLEADA EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA HARINA DE SARDINA Y PRUEBAS EXPERIMENTALES CON AVES. | 80 |
| 4. PROTEÍNA DIGESTIBLE EN HARINAS DE PESCADO PROCESADAS EN AUTOCLAVE MEDIDA <i>in vivo</i> E <i>in vitro</i> . | 102 |
| 5. FRACCIÓN SOLUBLE DE PROTEÍNA EN HARINAS DE PESCADO CALENTADAS EN AUTOCLAVE MEDIDA CON LA TÉCNICA DE BRADFORD. | 105 |
| 6. PÉPTIDOS DE ALTO PESO MOLECULAR MEDIDOS CON TCA EN HARINAS DE PESCADO PROCESADAS EN AUTOCLAVE. | 106 |