

**DESARROLLO DE METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA
DIGESTIBILIDAD DE MATERIAS PRIMAS NO CONVENCIONALES EN
CACHAMA BLANCA *Piaractus brachypomus***

LAURA CRISTINA CLAVIJO RESTREPO

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA SEDE PALMIRA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
COORDINACIÓN GENERAL DE POSGRADOS
PALMIRA**

2011

**DESARROLLO DE METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA
DIGESTIBILIDAD DE MATERIAS PRIMAS NO CONVENCIONALES EN
CACHAMA BLANCA *Piaractus brachypomus***

LAURA CRISTINA CLAVIJO RESTREPO

**Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para
optar el título de MAGÍSTER EN CIENCIAS AGRARIAS CON ÉNFASIS EN
PRODUCCIÓN ANIMAL TROPICAL**

DIRECTOR: JOSÉ ADER GÓMEZ P. Zoot. Ph.D.

CO-DIRECTOR: VICTORIA EUGENIA QUINTERO P. Zoot. M.Sc.

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA SEDE PALMIRA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
COORDINACIÓN GENERAL DE POSGRADOS
PALMIRA**

2011



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE PALMIRA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ACTA DE JURADO DE TESIS

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRARIAS
LINEA DE INVESTIGACIÓN PRODUCCIÓN ANIMAL TROPICAL

En Palmira a los 28 días del mes de Noviembre de 2011, se reunió en esta Sede el Jurado Calificador de Tesis, integrado por los doctores LUCENA VASQUEZ GAMBOA y CARLOS ALBERTO JARAMILLO CRUZ

Para calificar la Tesis de Grado de:

LAURA CRISTINA CLAVIJO RESTREPO

Titulada:

“DESARROLLO DE METODOLOGÍA DE DIGESTIBILIDAD DE MATERIAS PRIMAS NO CONVENCIONALES EN CACHAMA BLANCA *Piaractus brachypomus*”
bajo la dirección de José Ader Gómez Peñaranda y Victoria Eugenia Quintero Vallejo.

Después de oír el informe del jurado evaluador compuesto por los docentes LUCENA VASQUEZ GAMBOA y CARLOS ALBERTO JARAMILLO CRUZ, y de haber cumplido con el proceso de evaluación, la tesis fue calificada como:

APROBADA

REPROBADA

LUCENA VASQUEZ G.

CARLOS ALBERTO JARAMILLO C.

“La Facultad y los Jurados de Tesis no son responsables de las ideas emitidas por el o los autores de la misma.”

Artículo 24, Resolución 04 de 1974.

Dedico este documento a las siguientes personas, por su amor, confianza y apoyo, porque a ellos les debo el haber llegado hasta aquí:

A mis padres, Luis Fernando y María Cristina.

A mi hermana Alejandra.

A mi mamita Deyanira.

A mi profesor y amigo Carlos Alberto Jaramillo.

Y a todos mis amigos de Arauca, bella tierra llanera: Yelli, Alexander, Alexis, Tineo, Néstor, Geovanna, Angela, Deicy, Miguel Balta, Miguel Montilla, Angel, Mauricio, don Salvador, Elías Hidalgo, Liñán, doña Rosa, doña Irina, doña Eva, Alberto, Pedro, don Eugenio, Jean Paul, Nataly, Diego Camuan, Andrés López y José Uscategui.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por haberme dado no sólo la oportunidad de vivir esta vida, sino de haber podido llegar hasta aquí, aprendiendo mucho, conociendo maravillosas personas a las que hoy puedo llamar amigos, y de viajar a la bella tierra llanera de Arauca.

A mis padres, Luis Fernando y María Cristina, a mi hermana Alejandra y a mi mamita Deyanira, por apoyarme desde el principio, por sus sacrificios, sus consejos, por no dejarme caer e impulsarme a seguir adelante.

A mi director de tesis José Ader Gómez P., Zootecnista Ph.D., por haber depositado su confianza en mí para esta investigación.

A mi co-directora Victoria Eugenia Quintero P., Zootecnista M.Sc., por estar pendiente de mí, por creer en mí, por ser estricta conmigo buscando sacar lo mejor de mí.

Quiero darle un agradecimiento muy especial, a mi profesor y amigo Carlos Alberto Jaramillo, Zootecnista M.Sc., por haber estado siempre pendiente de mí, por guiarme en el desarrollo de esta investigación y por animarme en los momentos más críticos.

Un agradecimiento especial a mi maestro Sanín Ortíz G., Zootecnista Ph.D., a quien le debo desde mis estudios de pregrado, el aprender a investigar y el importante manejo de una bitácora, y por haberme facilitado la Harina de zapallo *Cucurbita moschata* Dutch para este estudio.

A mi querida amiga Yuleidy, que a pesar de la distancia, siempre pensó en mí, y sabe entender lo duro que es luchar con una tesis por tanto tiempo.

A mis amigos cercanos de posgrado Margarita (mi Secretaria estrella), Ana María, Ever, Eleonora, Nelson y Oscar Eduardo, que fueron mi hombro para desahogarme en momentos de crisis, mi apoyo, y que supieron sacarme una sonrisa para levantarme y seguir adelante.

Un agradecimiento muy especial a mis amigos de Arauca: Yelli, Alexander, Alexis, Tineo, Néstor, Geovanna, Angela, Deicy, Miguel Balta, Miguel Montilla, Angel, Mauricio, don Salvador, Elías Hidalgo, Liñán, doña Rosalba, doña Irina, doña Eva, Alberto, Pedro, don Eugenio, Jean Paul, Nataly, don Victoriano, Diego Camuan, Andrés López, José Uscategui; por haberme recibido con mucha calidez, por su bella amistad, su cariño, su apoyo en momentos difíciles, y por tantos momentos maravillosos que recordaré por siempre.

A mis profesores de Maestría Jaime Eduardo Muñoz F., Ingeniero Agrónomo Ph.D.; Luz Stella Muñoz A., Zootecnista Ph.D.; Ricardo Malagón M., Zootecnista M.Sc.; Javier Benavides, Médico Veterinario M.Sc.; John Joseprah Selvaraj, Ingeniero Pesquero Ph.D.; y Nancy Barrera M., Ingeniera Agrónoma Ph.D.; por los conocimientos que impartieron en mí, por sus consejos y por estar pendientes de mí durante este proceso.

A mis profesores Luz Ángela Álvarez F., Zootecnista Ph.D. y Patricia Isabel Sarria B., Zootecnista M.Sc., por su apoyo incondicional, sobretodo en momentos críticos, por sus sugerencias y consejos.

Al Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT, por haberme facilitado las Harinas de yuca *Manihot sculenta* Crantz y de caupí *Vigna unguiculata*.

Un agradecimiento especial al director de la Universidad Nacional de Colombia Sede Orinoquia, Rodrigo Enrique Cárdenas A., Administrador de Empresas M.Sc., por haberme permitido montar mi tesis en esta Sede, dándome el acceso a la infraestructura, al material biológico y al personal de la Granja Experimental El Cairo; por todo el apoyo brindado durante este proceso, para no sentirme en un principio como forastera en tierra extraña, y por la confianza que depositó en mí.

Un agradecimiento muy especial al Decano de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, Mario Augusto García D., Ingeniero Agrónomo Ph.D., al anterior Director de Posgrados, Juan Carlos Mengívar F., Ingeniero Ph.D., y a la actual Directora de Posgrados, Nora Cristina Mesa, Bióloga Ph.D., por darme todo el apoyo para viajar a la Sede Orinoquia para montar mi tesis, por estar pendientes de mí, por estar dispuestos a ayudarme cuando más lo necesité, y por animarme en momentos críticos para seguir adelante y obtener mi graduación como Magíster.

Al Secretario General de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, Héctor Fabio Ramos Rodríguez, Ingeniero Agrónomo M.Sc., por todo el apoyo brindado durante mi proceso de viaje a Arauca, y por estar pendiente de mí durante la última etapa de mi tesis.

Un agradecimiento muy especial a Julio Castro, administrador del Laboratorio Experimental Mario González Aranda, a don José, Nelson y Jairo, por colaborarme en el proceso de elaboración de los tratamientos de mi tesis, por estar pendientes de mí y de mi tesis, y por facilitarme la Harina de bore *Alocasia macrorrhiza*.

A Raúl Madriñán, director del Laboratorio de Física de Suelos, y a Miguel Antonio Beltrán, Laboratorista, por el préstamo de la Bomba de vacío, por su comprensión y paciencia.

Un agradecimiento especial a don Jairo Mosquera, Laboratorista del Laboratorio de Operaciones Unitarias y Procesos Agroindustriales, por su valiosa colaboración en el proceso de secado de mis materias primas.

A doña María Cristina, directora del departamento de Almacén e Inventarios, por toda la colaboración brindada en los trámites de envío y de manejo de equipo e inmuebles.

Un agradecimiento especial a Fernando Estrada y a Jefferson, del Laboratorio de Nutrición Animal, por todo el apoyo, colaboración y comprensión brindada, durante los análisis de laboratorio, en la última fase de mi tesis.

Un agradecimiento especial a Marzory Bernal, por escucharme y orientarme con mis análisis de SAS.

Un agradecimiento muy especial a doña Stella, doña Ana Freddy, doña Myriam, y doña Luz Stella, Secretarias de Bienestar Universitario; de Decanatura de la Facultad de Ciencias Agropecuarias; de Secretaría Académica de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y de Secretaría General respectivamente; y a don Gustavo Gavilán de Presupuesto; por todo su apoyo desde el comienzo hasta el final, por todo lo que aprendí en el ámbito administrativo gracias a ustedes.

Al personal administrativo de Tesorería, DIPAL, de Recepción y Correspondencia de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, por toda la colaboración que me brindaron con los trámites que necesité, durante el desarrollo de mi tesis.

A Alexis Landaeta, Jherson, Paola y demás personal de la Granja Experimental El Cairo; del Laboratorio de Suelos; Aguas y Foliare, por todo el apoyo brindado para el montaje mi tesis.

A todos los administrativos de la Universidad Nacional de Colombia Sede Orinoquia, por todo el apoyo brindado durante mi estadía en esta Sede, mientras montaba mi tesis.

A Adriana Patricia Muñoz R., Zootecnista Ph.D., Directora del Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá, y a demás personal de esta dependencia, por su colaboración y apoyo durante este proceso.

Y demás personas, amigos y compañeros que me rodearon durante estos años de maestría.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	19
1. JUSTIFICACIÓN	21
2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	23
2.1. Definición del Problema de Investigación	23
2.2. Hipótesis	23
3. OBJETIVOS	24
3.1. Objetivo General	24
3.2. Objetivos Específicos.....	24
4. ESTADO DEL ARTE.....	25
4.1. Taxonomía de la especie	25
4.2. Características de la especie.....	25
4.3. Condiciones de agua en cultivo para Cachama:.....	27
4.4. Técnicas de recolección de heces.....	28
4.5. Uso de marcadores en las dietas experimentales	30
4.6. Estudios de Digestibilidad realizados en Characiformes	30
4.7. Otros estudios de digestibilidad en otras especies	37
4.8. Estudios de digestibilidad de las materias primas a evaluar	38
5. MATERIALES Y MÉTODOS	39
5.1. Localización	39
5.2. Material biológico.....	39
5.3. Jaula flotante	40
5.4. Condiciones fisicoquímicos del agua:.....	42
5.5. Tratamientos	42
5.6. Diseño Experimental.....	47
5.7. Manejo de la máquina de succión	48

5.8. Periodo Experimental.....	49
5.9. Manejo de las muestras recolectadas	51
5.10. Otros equipos y materiales.....	52
5.11. Análisis de laboratorio	52
5.12. Cálculo de los Coeficientes de digestibilidad fecal aparente	54
5.13. Análisis estadísticos.....	55
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
7. CONCLUSIONES	60
BIBLIOGRAFÍA	61
ANEXOS	68

LISTADO DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Parámetros de calidad de agua, obtenidos semanalmente durante 192 días de cultivo de cachama blanca (<i>P. brachypomus</i>), en un sistema de cero recambio (SCR) y en un sistema de recirculación abierta (SRA).....	28
Tabla 2. Coeficientes de digestibilidad aparente de aminoácidos, proteína, y energía en ingredientes evaluados para pacú.....	32
Tabla 3. Coeficientes de digestibilidad aparente en juveniles de pacú, alimentados con dietas prácticas que contienen diferentes niveles de macronutrientes.....	34
Tabla 4. Coeficientes de digestibilidad de proteína bruta para los diferentes métodos de recolección de heces.....	35
Tabla 5. Valor promedio de proteína cruda (PB) y energía bruta (EB), coeficiente de digestibilidad aparente para proteína (CDAPB), coeficiente de digestibilidad aparente para energía (CDAEB), proteína digestible (PD) y energía digestible (ED) de las materias primas para pacú.....	35
Tabla 6. Composición nutricional de los ingredientes de las dietas experimentales.....	43
Tabla 7. Formulación y composición nutricional de las dietas experimentales.....	44
Tabla 8. Digestibilidad dada en porcentaje de la materia seca, proteína bruta y energía, de los tratamientos.....	57
Tabla 9. Tabulación para la construcción de la Curva de calibración para la determinación de contenido de Cr ₂ O ₃	73
Tabla 10. Concentración real de Cr ₂ O ₃ en los tratamientos.....	76
Tabla 11. Concentración real de Cr ₂ O ₃ en las heces.....	76

TABLA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. <i>Colossoma macropomum</i>	26
Figura 2. <i>Piaractus brachypomus</i>	26
Figura 3. Fabricación de la jaula flotante.....	41
Figura 4. Distribución de los tratamientos en la jaula flotante.....	41
Figura 5. Captura de los animales experimentales (Cachama blanca <i>Piaractus brachypomus</i>), y posterior ubicación en las unidades experimentales.....	42
Figura 6. Preparación de los tratamientos.....	46
Figura 7. Presentación de los tratamientos extrudizados.....	47
Figura 8. Máquina de succión de heces.....	48
Figura 9. Alimentación de los ejemplares, con los diferentes tratamientos.....	50
Figura 10. Proceso de recolección y almacenamiento de las heces de cada tratamiento.....	51
Figura 11. Secado de las muestras en laboratorio, a 60°C durante 36 horas, y su posterior almacenamiento.....	52
Figura 12. Proceso para realizar análisis de proteína por método Kjeldhal.....	53
Figura 13. Proceso para realizar análisis de energía por método de Bomba calorimétrica.....	54
Figura 14. Primera parte del proceso de análisis de cromo Cr ₂ O ₃	75
Figura 15. Segunda parte del proceso de análisis de cromo Cr ₂ O ₃	75

TABLA DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico 1. Curva de calibración para la medición de la concentración de Cr_2O_3	73

TABLA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Análisis fisicoquímico de agua, del estanque 2, de la Universidad Nacional de Colombia Sede Orinoquia.....	69
Anexo B. Contenido de materia seca analítica, cenizas y de proteína bruta dados en porcentaje, y de energía dada en calorías por gramo, en los tratamientos.....	69
Anexo C. Contenido de materia seca analítica, cenizas y de proteína bruta dados en porcentaje, y de energía dada en calorías por gramo, en heces.....	70
Anexo D. Protocolo de medición de las Concentraciones de Cr ₂ O ₃ , para tratamientos y para heces.....	70

RESUMEN

Este trabajo pretendió, adaptar la metodología de *stripping* (masaje abdominal), para recolectar heces fecales de Cachama blanca *Piaractus brachypomus*, y determinar la digestibilidad fecal aparente de combinaciones de cuatro materias primas no convencionales: caupí, bore, zapallo y yuca, en cuatro dietas, con un diseño experimental de bloques completos al azar, en la Granja Académica y Experimental El Cairo, de la Universidad Nacional de Colombia Sede Orinoquia, en Arauca (Arauca). Durante su implementación, hubo precipitaciones abundantes en la región. Sin embargo, se armó un sencillo dispositivo compuesto de una bomba de vacío, dos mangueras plásticas, y 21 recipientes plásticos, cerca al estanque donde permaneció la jaula flotante alojando 120 cachamas (580 ± 20 g). Éstas mostraron gran resistencia y mortalidad de 0%. Se adquirió destreza en la precisión de la intensidad de presión ejercida en el *stripping*, y en el momento de succionar las heces sin lastimar al animal y sin perder muestra. Se recolectó en promedio, 21,41 g de heces fecales en seco por tratamiento. La digestibilidad fue muy baja en todos los tratamientos, aunque la dieta que contenía zapallo fue la más digestible (38,51% para proteína y 37,74% para energía).

Se concluye que la implementación propuesta en este estudio, de la metodología de *stripping* usando bomba de vacío, para determinación de digestibilidad en peces, mejora este método porque disminuye el tiempo de recolección de heces, así como también disminuye la contaminación de las mismas, y permite hacer investigaciones en digestibilidad en condiciones de campo abierto, obteniendo buenos resultados. En cuanto a la digestibilidad de los tratamientos, los altos contenidos de fibra y de ceniza probablemente causaron la baja digestibilidad de éstos. Por lo tanto, no se recomienda utilizar niveles de inclusión del 10% de harina de yuca, caupí y bore, en alimentación para *P. brachypomus*.

Palabras clave: *Piaractus brachypomus*, caupí, bore, zapallo, yuca.

ABSTRACT

This study pretended to adapt the stripping method (abdominal massage), to collect tambaqui *Piaractus brachypomus* faeces, and determinate the faecal apparent digestibility of four unconventional raw materials: cowpea, bore, pumpkin and cassava flour, experimental design with a randomized complete blocks, in the Academic and Experimental Farm “El Cairo”, of the “Universidad Nacional de Colombia” –Orinoquia headquarters, in Arauca (Arauca). During its implementation, heavy rainfall happened in the region. However, it was possible to assemble simple device consisting of a vacuum pump, two plastics hoses and 21 plastics containers, near to pond where the floating cage stayed accommodating 120 juveniles tambaqui (580 ± 20 g). They showed great resistance and 0% mortality. Skill was acquired in pressure intensity accuracy made it in the stripping process, as well as in the moment of suction faeces without hurting the animals and losing samples. It collected 21,41 g of dry faeces in average in each treatment. Digestibility was lower in all treatments, even the diet that contained pumpkin was the most digestible (38,51% to and 37,74% to energy).

Concluding, the implementation of the stripping method to determine fishes digestibility, proposed in the present study using a vacuum pump, improved this method because minimize the faeces collection time as well as minimize the faeces contamination, and allows digestibility research in open field conditions, to achieve good results. As for the digestibility of the treatments, the high content of fiber and ash probably caused the low digestibility of them. Therefore, it isn't recommended to use 10% levels of inclusion of cassava flour, cowpea and bore, for *P. brachypomus* food.

Keywords: *Piaractus brachypomus*, cowpea, bore, pumpkin, cassava.

INTRODUCCIÓN

El éxito de la producción de peces depende, entre otros factores, del aporte nutricional de las dietas, que contengan niveles adecuados de proteína y energía y con balance apropiado de nutrientes, que permitan el crecimiento más efectivo del animal así como el mantenimiento de la salud y la calidad del agua en el sistema. Se puede considerar que hasta el momento, los alimentos para organismos acuáticos han sido evaluados en términos de crecimiento y composición corporal de los animales, confiriendo poca atención a la digestibilidad de los ingredientes o de las dietas completas.

Esto ha impedido el aprovechamiento de una amplia gama de ingredientes que pueden ser incorporados a las dietas. A esto se suma, la dificultad que genera realizar pruebas de digestibilidad en peces, ya que la recolección de las heces fecales es mucho más complicada en un medio acuático, comparado con animales terrestres donde representa poca dificultad.

Ante esta situación, desde la década de los años 40, se han venido mejorando los métodos para la recolección de heces. Los métodos más utilizados son: Sifoneo, *stripping* (masaje abdominal), y el método de Guelph. De igual manera, buscando métodos eficientes para la determinación de digestibilidad, desde 1918 con Edin (citado por Austreng, 1978) se ha venido implementando el uso de marcadores inertes. Los más utilizados son óxido de cromo, óxido de Itrio e isótopos de P^{32} .

Todos estos esfuerzos, han permitido avances en el proceso de determinación de digestibilidad, proceso que aún no termina, pues cada vez se pretende adaptar más especies de peces, y de otros organismos acuáticos al cautiverio, para establecer sistemas de producción piscícolas económicamente viables y ecológicamente sostenibles.

La finalidad de este estudio, es adaptar la metodología de *stripping* para la recolección de heces de Cachama blanca *Piaractus brachypomus*, y realizar pruebas de digestibilidad de combinaciones de cuatro materias primas no convencionales, que contribuyan al mejoramiento de la dieta tanto en su valor nutricional como en su valor económico sin incidir negativamente en el crecimiento de los peces.

1. JUSTIFICACIÓN

La comprensión y estudio de la energética nutricional y de la digestibilidad de los alimentos, es un requisito básico para determinar requerimientos nutricionales y para evaluar la calidad de los ingredientes empleados en las dietas para peces.

La primera fase a abordar a la hora de valorar el potencial de un alimento para considerar su inclusión en una dieta es medir su digestibilidad. Resulta difícil separar las heces del pez del agua y evitar su contaminación con la dieta no ingerida, este problema necesita del uso de técnicas muy distintas de las utilizadas para medirla en aves y mamíferos. El conocimiento de la digestibilidad de las materias primas, permite la formulación precisa de dietas completas, donde se disminuye el impacto ambiental al minimizar desechos nitrogenados fecales en el agua.

El Laboratorio de Nutrición que actualmente posee la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, está dotado para el análisis de composición nutricional de los ingredientes y dietas, pero no se dispone de la infraestructura para realizar pruebas de digestibilidad en peces. Existen diseños de acuarios o tanques para digestibilidad, que se pueden adaptar y fabricar a partir del uso de materiales como el vidrio, la fibra de vidrio y PVC, y adecuar los equipos requeridos como columnas de sedimentación de heces, instrumentos para medir O₂, temperatura, controlar temperatura y pH. Una vez adaptado y construido el sistema de determinación de digestibilidad, se pueden diseñar pruebas que evalúen el valor nutricional de materias primas tanto convencionales como no convencionales, y alimentos balanceados utilizados en la alimentación de peces.

El departamento de Ciencia Animal y el programa de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, en los últimos años, han venido intentando desarrollar el área de Acuicultura y específicamente la de nutrición de peces.

Departamentos como el Valle del Cauca y Arauca, muestran necesidad de fortalecer el área piscícola. Por este motivo, las Sedes Palmira y Orinoquia de la Universidad Nacional de Colombia, consideran importante la dirección de proyectos de investigación en las áreas de genética, nutrición y patología de peces, para brindar así el servicio de análisis de alimentos y diagnóstico de patologías para los piscicultores de estas regiones, con lo cual se contribuye al cumplimiento del compromiso que tiene la Universidad Nacional de Colombia con la sociedad.

Estos hechos, apoyan la idea de adaptar una de las metodologías usadas para la recolección de heces, en la determinación de la digestibilidad de materias primas no convencionales en peces dulceacuícolas.

2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

2.1. Definición del Problema de Investigación:

La complejidad de las metodologías para la determinación de la digestibilidad de materias primas tanto convencionales como no convencionales y de alimentos balanceados para peces, ha impedido un adecuado aprovechamiento de una amplia gama de materias primas que pueden utilizarse en la alimentación de peces, en este caso, de cachama blanca *Piaractus brachypomus*, lo que repercute en dietas diseñadas mediante procesos matemáticos, sin ninguna comprobación biológica, que garantice el nivel de aprovechamiento de la dieta por parte de estos peces.

2.2. Hipótesis:

Adaptando y ajustando la técnica de *stripping* o masaje abdominal, que ha sido desarrollada para pruebas de digestibilidad, se puede construir un sistema para determinación de digestibilidad, que facilite el estudio de diferentes materias primas no convencionales, con potencial en alimentación de cachama blanca *Piaractus brachypomus*.

3. OBJETIVOS

3.1. *Objetivo General:*

- ✓ Estandarizar una metodología para determinar la Digestibilidad fecal aparente de materias primas no convencionales en la especie dulceacuícola Cachama blanca *Piaractus brachypomus*.

3.2. *Objetivos Específicos:*

- ✓ Adaptar el protocolo de manejo, procedimiento y uso del equipo del sistema de digestibilidad por el método de *stripping*, para determinar la digestibilidad fecal aparente de los diferentes tratamientos.
- ✓ Determinar la digestibilidad fecal aparente de la materia seca, proteína y energía, de cuatro dietas constituidas por combinaciones de materias primas convencionales con no convencionales, así: Tres materias primas proteicas, Harina de pescado, Harina de caupí *Vigna unguiculata* y Harina de bore *Alocasia macrorrhiza*; y dos materias primas energéticas, Harina de zapallo *Cucurbita moschata* Dutch y Harina de yuca *Manihot sculenta* Crantz.

4. ESTADO DEL ARTE

4.1. Taxonomía de la especie:

De acuerdo a Lauzanne y Loubens (1985):

- ✓ Superclase: *Gnathostomata*
- ✓ Clase: *Teleostomi*
- ✓ Orden: *Characiformes*
- ✓ Familia: *Serrasalminidae*
- ✓ Género: *Colossoma* y *Piaractus*
- ✓ Especie: *Colossoma macropomum*.

Piaractus brachypomus.

4.2. Características de la especie:

Distribución geográfica. Según Aliaga (2004), los géneros *Colossoma* y *Piaractus*, están ampliamente distribuidos en los ríos Amazónicos de América del Sur. *C. macropomum* se encuentra distribuido en las cuencas del Amazonas y Orinoco, principalmente en los sistemas de ríos de la Amazonía Central. Según Loubens y Panfili (2001), la distribución de *P. brachypomus* es similar a la de *C. macropomum*, sin embargo está alargando su área de distribución a los bajos Andes de Bolivia y Guyana.

Morfología. Martínez (1984; citado por Aliaga, 2004), y Lauzanne y Loubens (1985), comentan que *C. macropomum* presenta una coloración verde amarillento negro en todo el cuerpo, excepto en la parte ventral del abdomen que tiende a blanquecino (ver figura 1). Esta especie puede pesar 30kg y medir 90cm.

P. brachypomus es un poco más pequeño que la especie anterior, mide 85cm y puede pesar hasta 20kg. Tiene una coloración más clara, blanco plateado, a veces azuladas en el dorso y flancos. El abdomen es blanquecino, con ligeras manchas anaranjadas (ver figura 2).



Figura 1. *Colossoma macropomum*.



Figura 2. *Piaractus brachypomus*.

Hábitos alimenticios. Lauzanne & Loubens (1985), plantean que ambas especies presentan fuertes dientes molariformes, permitiéndoles alimentarse de hojas grandes, semillas o frutas que caen de los árboles. Para el caso de *C. macropomum*, desde su etapa de juvenil se observa un rápido engorde en la época de grandes inundaciones, donde se alimenta solo con frutos y semillas que caen de los árboles. En cuanto a *P. brachypomus*, en estado juvenil es omnívoro pues se alimenta principalmente de frutas,

semillas y zooplancton (Roubach, 1994; citado por Aliaga, 2004); cuando el nivel de agua decrece, se observa un adelgazamiento que se prolonga hasta la mitad de la crecida siguiente, dándose una etapa de largo ayuno, siendo total para los adultos y parcial para los juveniles (Loubens & Panfili, 1997).

4.3. Condiciones de agua en cultivo para Cachama:

De acuerdo a OLDEPESCA (2010), tanto para cachama negra *C. macropomum* como para cachama blanca *P. brachypomus*, las condiciones fisicoquímicas del agua de cultivo son:

Temperatura: El rango óptimo está entre 25°C – 32°C.

Oxígeno disuelto: Los niveles óptimos están entre 4 – 12 ppm.

pH: Para que sea adecuado, debe estar entre 6.5 – 8.5.

Dureza: El rango óptimo se mueve entre 50 – 350 ppm.

Alcalinidad: Los niveles óptimos están entre 50 – 300 ppm.

De acuerdo a una investigación hecha en Sistemas productivos con y sin recambio de agua en cachama blanca *P. brachypomus*, Poleo *et al.* (2011) encontró los siguientes resultados, presentados en la tabla 1:

Tabla 1. Parámetros de calidad de agua, obtenidos semanalmente durante 192 días de cultivo de cachama blanca *P. brachypomus*, en un sistema de cero recambio (SCR) y en un sistema de recirculación abierta (SRA).

Parámetro	SRA	SCR
	Promedio	
Oxígeno disuelto (mg/L)	5,0	4,8
pH	7.6	7.8
Nitrito (mg/L)	0,49	0,69
Alcalinidad (mg/L)	147,3	127,9
Dureza (mg/L)	457,8	458,7
Temperatura (°C)	27,4	26,9

En el SRA el cambio mínimo de agua diario fue de 5.0%, y en el SCR fue de 1.8%. **Fuente:** Poleo *et al.* (2011).

4.4. Técnicas de recolección de heces:

Para la determinación de coeficientes de digestibilidad aparente de una dieta o una materia prima, es común utilizar la recolección de las heces del animal, pues es un procedimiento económico y que no representa mayor esfuerzo. En animales terrestres es fácil realizar este procedimiento, pero en peces se dificulta por la existencia del medio acuático.

Tunison *et al.* (1942; citados por Austreng, 1978), fueron pioneros al adaptar un método directo para determinar digestibilidad en trucha de arroyo *Salvelinus fontinalis* (Mitchell), que consistía en filtrar las heces del agua; este método necesitaba de muchos análisis y cálculos, además de generar muchos errores al contaminarse las muestras de heces con compuestos nitrogenados excretados a través de las branquias y la orina. A partir de estos autores, se han venido desarrollando múltiples técnicas para la recolección de heces de los peces, buscando determinar la digestibilidad aparente de la manera más precisa posible. Los métodos más usados son los siguientes:

Masaje abdominal o *Stripping*. Consiste en practicarle al animal un masaje firme en su abdomen en sentido craneal – caudal, para extraer muestras de heces (Fernández *et al.*, 1996; Percival *et al.*, 2001; Vidotti, Dalton, y Macedo V., 2002; Adeparusi & Komolafe, 2006; Gaylord *et al.*, 2009; Rawles *et al.*, 2009).

Austreng (1978) evaluó la eficiencia de 2 métodos de *stripping* para la extracción de heces vs. Heces obtenidas directamente por disección de los segmentos anterior y posterior del intestino. El método I de *stripping* consistía en practicarle el masaje al animal en sentido craneal – caudal desde las aletas pectorales hasta el ano, tal y como se hace para la extracción de ovas. El método II de *stripping* consistía en practicarle el masaje desde las aletas ventrales hasta el ano. Con este último se encontraron altos coeficientes de digestibilidad, al igual que con el método de disección. Austreng (1978) comenta que en ambos métodos se puede presentar contaminación de la muestra, mostrándose en un aumento en los niveles de nitrógeno, a causa de la presencia de los jugos digestivos o de orina, pero el error que esto pudiese generar puede ser ignorado, pues Forster y Goldstein (1969); citados por Austreng (1978), establecieron que solo una pequeña fracción del nitrógeno total es excretado en la orina, y Smith (1971); citado por Austreng (1978), encontró que cerca del 80% del nitrógeno no fecal era excretado como amonio a través de las branquias.

Sifoneo. Es el método más usado. Como su nombre lo indica, consiste en extraer del fondo del tanque o acuario las heces que se encuentren allí reposadas, por medio de una manguera (Adeparusi & Komolafe, 2006; Cruz–Suárez *et al.*, 2009).

Método de Guelph. Consiste en acuarios diseñados con un vértice bajo en el fondo del acuario, permitiendo la colecta de las heces (Adamidou *et al.*, 2009).

4.5. Uso de marcadores en las dietas experimentales:

Para determinar de manera indirecta la digestibilidad aparente de una materia prima, se utiliza un marcador inocuo, cumpliendo con tres (3) requisitos muy importantes: Debe ser totalmente indigerible y con una tasa de evacuación igual a la del contenido estomacal; debe analizarse en laboratorio fácilmente; y no debe afectar la palatabilidad de la dieta ni causarle algún daño al animal. Los indicadores más usados son: Itrio (Davies y Gouveia, 2006; y Xiao-Yi, Yong-Jian y Li-Xia, 2006), P^{32} (Hirao, Yamada y Kikuchi, 1960; y Yamada *et al.*, 1962) y óxido de cromo (Oliveira *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2008). Edin (1918; citado por Austreng, 1978), fue un pionero en el uso de marcadores inertes, proponiendo el uso del óxido de cromo. Furukawa y Tsukahara (1966) mejoraron la técnica de determinación de este marcador, por lo que muchos investigadores desde entonces, utilizan su metodología cuando aplican óxido de cromo en sus estudios de digestibilidad.

4.6. Estudios de Digestibilidad realizados en Characiformes:

Gutierrez, Zaldívar y Contreras (2009) determinaron los coeficientes de digestibilidad aparente de la materia seca, proteína cruda, lípidos y energía bruta de harina de pescado peruana y de maíz amarillo duro en juveniles de *Colossoma macropomum*. Los ejemplares tenían un peso de $150,0 \pm 25,5$ g. Se manejó una dieta referencia, que se mezcló con las materias primas a evaluar, en una relación de 70:30. Se utilizó 1% Cr_2O_3 como marcador. Las muestras fecales fueron colectadas por sifoneo. Los resultados obtenidos como coeficientes de digestibilidad aparente fueron: $88,06 \pm 0,83\%$, $87,08 \pm 1,34\%$, $85,87 \pm 2,69$ y $87,29 \pm 1,57\%$ para materia seca, proteína cruda, lípidos y energía bruta respectivamente, para la harina de pescado peruana; y $82,38 \pm 1,02\%$, $75,46 \pm 1,53\%$, $76,17 \pm 2,43\%$ y $75,04 \pm 1,80\%$ para materia seca, proteína cruda, lípidos y energía bruta respectivamente, para maíz amarillo duro. La energía digestible aparente calculada fue de 3.950 kcal/kg para la harina de pescado peruana y de 2.830 kcal/kg para el maíz amarillo duro.

Abimorad, Squassoni y Carneiro (2008), determinaron en un estudio los coeficientes de digestibilidad aparente de proteína, energía, aminoácidos esenciales y no esenciales; de las siguientes materias primas: Harina de pescado brasilera, harina de soya, harina de gluten de maíz, levadura, maíz y salvado de trigo; en pacú *Piaractus mesopotamicus*. Los ejemplares tenían un peso de 34.2 ± 13.8 g. Las dietas se prepararon en una proporción de 70% de dieta referencia y 30% de la materia prima a evaluar. Se utilizó 1% de Cr_2O_3 como marcador. Las heces fueron colectadas en una cámara terminal, antecedida por una válvula, ubicada en la base de los tanques cilindrico-cónicos. Los resultados obtenidos se pueden apreciar en la tabla 2. De esta investigación se concluye, que la harina de gluten de maíz, la harina de soya y la harina de pescado brasilera son altamente digestibles en cuanto a aminoácidos. Sin embargo, la harina de soya presentó el mejor índice de aminoácidos esenciales digestibles, siendo la mejor fuente de proteína. Ante esto, los autores de este estudio recomiendan, que la formulación de dietas para pacú, puede hacerse con valores de aminoácidos digestibles, hecho que reduciría excesos o deficiencias potenciales, que traerían pérdidas económicas y ambientales.

Tabla 2. Coeficientes de digestibilidad aparente de aminoácidos, proteína, y energía en ingredientes evaluados para pacú.

Amino acids	Apparent digestibility coefficient (%)					
	FM	SM	AY	CG	WB	CN
EAA						
Arginine	94.8 ± 0.5 ^{ab}	95.7 ± 0.2 ^a	93.7 ± 1.1 ^{ab}	95.7 ± 0.2 ^a	94.3 ± 0.8 ^{ab}	92.5 ± 2.0 ^b
Histidine	93.5 ± 0.6 ^{abc}	94.2 ± 0.3 ^{ab}	92.2 ± 1.2 ^{bc}	94.4 ± 0.2 ^a	92.6 ± 1.0 ^{abc}	91.8 ± 1.7 ^c
Isoleucine	88.0 ± 1.0 ^a	88.8 ± 0.6 ^a	85.6 ± 1.7 ^{ab}	88.9 ± 0.4 ^a	83.8 ± 3.0 ^{ab}	80.9 ± 4.9 ^b
Leucine	92.6 ± 0.9 ^{ab}	93.3 ± 0.5 ^a	90.9 ± 1.8 ^{ab}	94.1 ± 0.2 ^a	89.4 ± 2.7 ^b	91.1 ± 1.8 ^{ab}
Lysine	89.3 ± 0.7 ^a	90.0 ± 0.5 ^a	88.3 ± 1.0 ^a	88.7 ± 0.9 ^a	86.7 ± 1.9 ^{ab}	81.7 ± 5.3 ^b
Methionine	89.8 ± 0.7 ^a	89.3 ± 1.0 ^a	85.1 ± 2.5 ^{ab}	90.4 ± 0.3 ^a	82.8 ± 4.3 ^{ab}	79.8 ± 6.6 ^b
Phenylalanine	92.6 ± 0.8 ^{abc}	93.6 ± 0.4 ^{ab}	91.1 ± 1.5 ^{abc}	94.1 ± 0.2 ^a	90.6 ± 1.9 ^{bc}	90.2 ± 2.3 ^c
Threonine	87.5 ± 1.0 ^a	88.1 ± 0.6 ^a	84.3 ± 1.7 ^{ab}	88.6 ± 0.5 ^a	83.9 ± 2.6 ^b	81.1 ± 4.4 ^b
Valine	87.5 ± 1.0 ^a	88.1 ± 0.7 ^a	85.3 ± 1.7 ^{ab}	88.5 ± 0.4 ^a	84.2 ± 2.5 ^{ab}	81.3 ± 4.3 ^b
Average EAA	90.6 ± 0.8 ^a	91.2 ± 0.5 ^a	88.5 ± 1.5 ^{ab}	91.5 ± 0.4 ^a	87.6 ± 2.3 ^{ab}	85.6 ± 3.7 ^b
NEAA						
Aspartic acid	91.0 ± 0.8 ^a	92.3 ± 0.3 ^a	89.7 ± 1.2 ^{ab}	92.2 ± 0.3 ^a	88.7 ± 1.9 ^b	86.3 ± 3.7 ^b
Glutamic acid	94.1 ± 0.8 ^{abc}	95.4 ± 0.3 ^{ab}	92.8 ± 1.6 ^c	95.8 ± 0.2 ^a	93.6 ± 1.1 ^{abc}	93.2 ± 1.5 ^{bc}
Alanine	88.2 ± 1.0 ^{ab}	88.7 ± 0.8 ^{ab}	85.1 ± 2.3 ^{ab}	89.6 ± 0.3 ^a	84.2 ± 3.1 ^b	83.8 ± 3.5 ^b
Cystine	91.6 ± 0.9 ^{ab}	92.4 ± 0.4 ^a	83.8 ± 4.8 ^c	91.3 ± 0.3 ^{ab}	89.3 ± 1.5 ^{ab}	86.4 ± 2.9 ^{bc}
Glycine	85.8 ± 0.9 ^a	86.2 ± 0.8 ^a	81.8 ± 2.6 ^{ab}	86.0 ± 0.8 ^a	83.4 ± 2.0 ^{ab}	77.8 ± 5.6 ^b
Serine	91.4 ± 0.9 ^{abc}	92.5 ± 0.4 ^{ab}	89.7 ± 1.4 ^{abc}	93.0 ± 0.3 ^a	89.4 ± 1.9 ^{bc}	88.3 ± 2.7 ^c
Proline	91.8 ± 0.9 ^{ab}	92.9 ± 0.5 ^a	88.7 ± 2.7 ^b	93.5 ± 0.2 ^a	90.8 ± 1.6 ^{ab}	90.6 ± 1.7 ^{ab}
Tyrosine	93.5 ± 0.7 ^{ab}	94.2 ± 0.3 ^a	91.7 ± 1.4 ^{ab}	94.8 ± 0.2 ^a	90.9 ± 2.1 ^b	90.6 ± 2.4 ^b
Average NEAA	90.9 ± 0.8 ^{abc}	91.8 ± 0.5 ^{ab}	87.9 ± 2.2 ^{bc}	92.0 ± 0.3 ^a	88.8 ± 1.9 ^{abc}	87.1 ± 3.0 ^c
Average total AA	90.8 ± 0.8 ^a	91.5 ± 0.5 ^a	88.2 ± 1.9 ^{ab}	91.7 ± 0.3 ^a	88.2 ± 2.1 ^{ab}	86.3 ± 3.4 ^b
Protein	84.6 ± 4.9 ^{ab}	90.6 ± 4.2 ^{ab}	81.5 ± 6.5 ^b	95.6 ± 2.0 ^a	87.7 ± 4.4 ^{ab}	85.8 ± 1.0 ^{ab}
Energy	74.5 ± 2.6 ^b	78.1 ± 3.5 ^b	73.0 ± 2.0 ^b	86.0 ± 3.1 ^a	74.4 ± 2.3 ^b	75.8 ± 0.8 ^b

Means ($n = 3$) ± standard deviation; Values followed by the same letter in the row do not differ statistically (Tukey $P < 0.01$). FM, fish meal; SM, soybean meal; AY, alcoholic yeast; CG, corn gluten meal; WB, wheat bran; CN, corn.

Fuente: Abimorad, Squassoni y Carneiro (2008).

Gutiérrez y Vásquez (2008) determinaron los coeficientes de digestibilidad aparente de la proteína y de la energía de la soya *Glicine max*, en dietas para cachama *P. brachypomus*. Se utilizó como marcador inerte óxido de cromo, y se recolectaron las heces por el sistema Guelph modificado. Se utilizaron juveniles de 91 ± 24 g de peso. Las dietas consistían de 69,5% de dieta referencia semipurificada, 0,5% de Cr_2O_3 y 30% soya integral cruda, soya integral tostada y torta de soya. Los resultados obtenidos como coeficientes de digestibilidad aparente fueron los siguientes: 75,6% para soya integral cruda, 81,1% para soya integral tostada y 83,2% para torta de soya. La digestibilidad de la soya integral cruda fue significativamente menor que la de las otras dos presentaciones de la soya. En cuanto a la energía, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos, resultando 65,7% para soya integral cruda, 59,1% para soya integral tostada y 59,9% para torta de soya.

Oliveira *et al.* (2008) estimaron el coeficiente de digestibilidad aparente de plantas C3 y C4 en dietas experimentales para juveniles de tambaqui *C. macropomum*, por medio de dos (2) métodos: Aplicando Cr_2O_3 como marcador (0,2%), y proponiendo una expresión matemática basada en la composición isotópica ($\delta^{13}\text{C}$). Se utilizaron 240 ejemplares de *C. macropomum*, con un peso de $\pm 48,2$ g y una longitud de $\pm 9,8$ cm, los cuales se alojaron en ocho (8) acuarios de 500 L, diseñados especialmente para la recolección de heces. Los resultados obtenidos como coeficiente de digestibilidad aparente fueron de 75,6% y 76,2% para C3 con óxido de cromo y con composición isotópica respectivamente; y de 74,4% y 72,8% para C4 con óxido de cromo y con composición isotópica respectivamente. No se observaron diferencias significativas entre los dos métodos, aunque el método de composición isotópica presentó menos variación en los datos, que el óxido de cromo. Se concluye entonces que el método propuesto de composición isotópica es alternativo, pues puede reducir errores y el esfuerzo que implica la recolección de heces; sin embargo, es importante tener en cuenta que este método se vuelve limitado en su uso, para dietas o alimentos que tengan signos isotópicos distintos.

Abimorad y Carneiro (2007), evaluaron en un estudio los coeficientes de digestibilidad aparente de la materia seca, de proteína cruda y de carbohidratos, en una dieta práctica con diferentes niveles de proteína, lípidos y carbohidratos, para juveniles de pacú *P. mesopotamicus*. Los ejemplares tenían un peso inicial de $29,1 \pm 5,0$ g. Las heces fueron recolectadas a través de tanques cilindro-cónicos tipo Guelph. Se utilizó 0,5% de Cr_2O_3 como marcador. Los resultados obtenidos se pueden apreciar en la tabla 3:

Tabla 3. Coeficientes de digestibilidad aparente en juveniles de pacú, alimentados con dietas prácticas que contienen diferentes niveles de macronutrientes.

Dietary levels (g kg ⁻¹)			Retention efficiency (%)			Digestibility coefficients (%)		
Protein	Lipid	Carbohydrate	PPV	EPV	LPV	ADC _{DM}	ADC _{CP}	ADC _{GE}
Mean of main effects ¹								
220			24.1 ± 3.2	18.5 ± 2.5	27.5 ± 7.1	78.3 ± 3.8	90.0 ± 1.5	80.7 ± 3.4
250			24.0 ± 3.8	21.9 ± 3.8	14.6 ± 8.2	79.1 ± 6.4	90.1 ± 3.1	82.0 ± 5.4
	40		24.2 ± 2.8	20.4 ± 2.9	19.4 ± .54 a	80.2 ± 5.7	91.8 ± 1.9	82.4 ± 4.7
	80		23.9 ± 4.1	20.0 ± 4.3	22.8 ± 3.8 b	77.1 ± 4.7	88.3 ± 1.4	80.4 ± 4.4
		410	22.7 ± 2.5	18.4 ± 2.2	19.1 ± 7.1	72.6 ± 3.4 b	89.8 ± 2.0	76.3 ± 2.7
		460	24.5 ± 3.7	21.1 ± 3.4	22.9 ± 9.8	80.5 ± 2.3 a	90.4 ± 2.6	82.6 ± 2.1
		500	24.9 ± 3.9	21.2 ± 4.4	21.3 ± 5.9	82.4 ± 3.3 a	89.8 ± 2.7	85.1 ± 2.9

PPV, protein productive value; EPV, energy productive value; LPV, lipid productive value; ADC_{DM}, apparent dry matter digestibility coefficients; ADC_{CP}, apparent crude protein digestibility coefficients; ADC_{GE}, apparent gross energy digestibility coefficients.

Fuente: Abimorad y Carneiro (2007).

Abimorad y Carneiro (2007) concluyeron que los ejemplares alimentados con la dieta que contenía 220 g/kg de proteína en dieta, mostraron una mejor tasa de conversión alimenticia, así como un mejor uso de la energía proveniente de los carbohidratos contenidos en la dieta, reflejado en mejores ganancias de peso, consumo de proteína cruda y coeficiente de digestibilidad aparente de la energía bruta; por lo que recomiendan el uso de este nivel de proteína en dieta, para la alimentación de juveniles de pacú. En cuanto a los niveles óptimos de carbohidratos y lípidos, los autores de este estudio consideran que dependen de las combinaciones que se utilicen.

Abimorad y Carneiro (2004), evaluaron en un estudio cuatro métodos de recolección de heces, que fueron Disección, *stripping*, Guelph y Guelph modificado, para determinar digestibilidad en pacú *P. mesopotamicus*. Para el primer experimento, correspondiente a la evaluación de los métodos de recolección, los ejemplares tenían en promedio 250 g. Para el segundo experimento, los ejemplares tenían en promedio 310 g de peso vivo, que correspondía a la determinación de coeficientes de digestibilidad de proteína y energía de una dieta referencia, con 30% de inclusión de materias primas a evaluar como harina de pescado, harina de carne y hueso, harina de vísceras de pollo, harina de plumas, harina de sangre, harina de soya, soya cruda integral, soya tostada, harina de algodón, levadura, harina de trigo, harina de arroz, millo y sorgo; manejando 0,5% de

Cr₂O₃ como marcador. Los resultados del experimento 1 se pueden apreciar en la tabla 4:

Tabla 4. Coeficientes de digestibilidad de proteína bruta para los diferentes métodos de recolección de heces.

Métodos de recolección de heces	Coeficiente de digestibilidad de para Proteína bruta (%)
Guelph	81,44±3,53
Guelph modificado	82,83±2,55
<i>Stripping</i>	86,66±0,76
Disección	84,52±0,38

Fuente: Abimorad y Carneiro (2004).

Los resultados del experimento 2 se pueden apreciar en la tabla 5:

Tabla 5. Valor promedio de proteína cruda (PB) y energía bruta (EB), coeficiente de digestibilidad aparente para proteína (CDAPB), coeficiente de digestibilidad aparente para energía (CDAEB), proteína digestible (PD) y energía digestible (ED) de las materias primas para pacú.

Materias primas	%PB	%CDAPB	%PD	EB (kcal/kg)	%CDAEB	ED (kcal/kg)
Harina de soya	44,59	81,14±6,74	36,18	4.203,70	63,68±2,70	2.676,92
Soya tostada	37,06	92,04±2,74	34,11	5.438,34	91,45±2,26	4.973,36
Harina de algodón	38,90	86,00±1,83	33,45	4.268,43	59,55±4,54	2.541,85
Soya cruda integral	39,58	83,46±5,11	33,03	5.086,27	92,71±3,22	4.715,48
Levadura	40,13	68,86±14,68	27,63	3.837,37	45,77±3,78	1.756,36
Harina de trigo	16,20	93,89±1,33	15,21	4.081,90	81,16±1,03	3.312,87
Sorgo	14,37	92,93±1,96	13,35	3.719,10	93,36±4,02	3.472,15
Harina de arroz	13,40	80,82±3,94	10,83	4.541,45	92,73±2,40	4.211,29
Maíz	8,79	84,38±11,00	7,42	3.996,90	86,96±2,69	3.464,91

Fuente: Tomado de Abimorad y Carneiro (2004).

Abimorad y Carneiro (2004), concluyeron que los cuatro métodos pueden ser utilizados. En cuanto a las materias primas, todas son adecuadas para pacú, excepto harina de sangre y levadura.

Batista, Lochmann y Alcantara (2004) determinaron la digestibilidad aparente de la materia seca, energía, proteína y lípidos de la harina de soya, harina de pescado, maíz y mogolla de trigo en Pacú *P. brachypomus*. Para este ensayo, utilizaron ejemplares de 370,21±17,56g, una dieta referencia con 24,5% de proteína cruda y dietas experimentales con 1% de Cr₂O₃ como marcador. Todas las dietas fueron suministradas a los ejemplares de *P. brachypomus* en forma de pelets, a saciedad. Las heces fueron colectadas por el método de sifoneo. Los resultados obtenidos como coeficientes de digestibilidad aparente fueron los siguientes: 2.382, 3.826, 3.353 y 1.784 kcal/kg para harina de soya, harina de pescado, maíz y mogolla de trigo para energía respectivamente; 83,72; 90,14; 89,13; y 82,05% para harina de soya, harina de pescado, maíz y mogolla de trigo para materia seca respectivamente; 75,88; 90,49; 85,06; y 61,62% para harina de soya, harina de pescado, maíz y mogolla de trigo para proteína cruda respectivamente; y 63,03; 77,00; 83,01; y 82,45% para harina de soya, harina de pescado, maíz y mogolla de trigo para lípidos respectivamente. Se observó que la digestibilidad aparente de la proteína, lípidos y energía fue baja para el caso de la harina de soya, en comparación con datos de otros omnívoros de agua dulce, aunque fueron similares a los valores reportados para *P. mesoporumirus*.

Vazquez *et al.* (2004) realizaron dos experimentos que pretendían comparar técnicas de digestibilidad en cachama, usando Cr₂O₃ (1%) y carbonato de bario (0,5%) como indicadores externos; ceniza insoluble en ácido, ceniza insoluble en detergente ácido, fibra bruta y fibra detergente ácida como indicadores internos; y la técnica de determinación directa. Las materias primas a evaluar fueron harina de maíz para el primer experimento, y harina de soya para el segundo. Se usaron ejemplares con 100 g de peso vivo en promedio. Como técnica de colección de heces, utilizaron acuarios tipo Guelph. Los resultados fueron: Con Cr₂O₃ se obtuvo una recuperación de 95,80% y 99,07%; con carbonato de bario fue de 98,67% y 98,97%; con fibra cruda fue de 81,24% y 82,24%; con fibra detergente ácida fue de 85,47% y 84,52%; con ceniza insoluble en ácido fue de 88,21% y 99,71%; y con ceniza insoluble en detergente ácido fue de 87,64% 98,66% para harina de maíz y de soya respectivamente. Estos valores

fueron un poco más altos, que los obtenidos por determinación directa. Ante esto, los autores concluyen que los indicadores externos (óxido de cromo y carbonato de bario), y la ceniza insoluble en ácido y la ceniza insoluble en detergente ácido son muy convenientes para determinación de digestibilidad, por sus altos porcentajes de recuperación.

4.7. Otros estudios de digestibilidad en otras especies:

Zhi *et al.* (2008) determinaron coeficientes de digestibilidad fecal aparente de materia seca, proteína cruda, lípidos, energía y aminoácidos en harina de pescado peruana, harina de crustáceo china, harina de carne, harina de soya, harina de colza y salvado de arroz, en ejemplares de cangrejo chino con mitones *Eriocheir sinensis*, por medio del método de pipeteo. Los resultados obtenidos como coeficientes de digestibilidad aparente fueron más altos para materia seca en harina de pescado (90,1%) y más bajos en salvado de arroz (74,9%). La digestibilidad de la proteína cruda, superó el 90% para harina de pescado y de carne, y el salvado de arroz fue el más bajo de todos los tratamientos. La digestibilidad de lípidos fue más alta para harina de pescado y más baja para harina de carne. La energía digestible fue más alta en harina de pescado, seguido de harina de crustáceo, y el valor más bajo fue para salvado de arroz. La disponibilidad de aminoácidos eran más altas en las harinas animales marinas que en la harina de carne, aunque la digestibilidad de lisina y cistina en ésta fueron ligeramente más altas que en la harina de pescado.

Stone *et al.* (2008) determinaron los coeficientes de digestibilidad aparente y de disponibilidad de nutrientes en trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss*, de ingredientes importantes en la formulación de dietas para peces. El método de recolección de heces usado fue el *stripping*. También evaluaron los efectos de estrés y daño físico al usar este método tres veces en un periodo de 5 días, en niveles de cortisol plasmático, factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y daño físico en la porción distal del tracto digestivo. Los niveles de cortisol plasmático fueron significativamente altos, indicando estrés en *O.*

mykiss. La expresión del gen de TNF- α indicó un efecto crónico en la respuesta inmune innata de los ejemplares utilizados. En contraste, la histología microscópica de la porción distal del tracto digestivo no presentó signos aparentes de daño físico. Los coeficientes de digestibilidad aparente de materia seca, materia orgánica, proteína, aminoácidos y energía, no se vieron afectados por el uso del método de *stripping*. Sin embargo, este método afectó significativamente la digestibilidad del lípido dietario y de la energía de los ingredientes, así como también los coeficientes de digestibilidad y disponibilidad de la dieta y de los ingredientes en cuanto a minerales.

Hemre *et al.* (2003) determinaron coeficientes de digestibilidad aparente de dietas extruídas, que contenían harina de pescado, aceite de pescado y harina de trigo, marcadas con óxido de itrio, en el bacalao del Atlántico *Gadus morhua*. Las heces fueron recolectadas por el método de *stripping* y por disección de la última porción del intestino. No se encontraron diferencias significativas entre los coeficientes de digestibilidad de la materia seca, proteína, almidón y lípidos, obtenidos por ambos métodos. En general, se encontraron altos valores de digestibilidad para estos parámetros. Sin embargo, se encontró una gran variación de la digestibilidad aparente del almidón, de 60% a 90%.

4.8. Estudios de digestibilidad de las materias primas a evaluar:

Parra *et al.* (2002) determinaron la digestibilidad total aparente de tres tipos de presentación del alimento preparado con raíz y follaje de yuca (*Manihot esculenta Crantz*) en lechones. Los tratamientos son: Harina seca, harina humedecida y pasta. Los resultados obtenidos para los coeficientes de digestibilidad total aparente de materia seca, materia orgánica, fibra detergente neutra y energía, fueron superiores en el tratamiento con pasta, siendo 87,82%, 89,55%, 95,04% y 85,04% respectivamente. En cuanto a proteína cruda los resultados fueron similares.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización:

El trabajo de campo se llevó a cabo en la Granja Académica y Experimental El Cairo, perteneciente a la Universidad Nacional de Colombia – Sede Orinoquia. Ésta se encuentra localizada en el municipio de Arauca (Arauca), hacienda El Cairo, Km 9 vía Arauca – Tame, vereda Gallineral, a una altura de 135 m.s.n.m. En esta zona se presenta una Temperatura promedio anual de 30°C, una Precipitación promedio anual de 1.700 mm y una Humedad Relativa promedio anual de 85% (Lugo, 2006).

El trabajo de laboratorio, se realizó en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. Ésta se encuentra localizada en el municipio de Palmira (Valle del Cauca), a una altura de 1.001 m.s.n.m. En esta zona se presenta una Temperatura promedio anual de 30,26°C, una Precipitación promedio anual de 992 mm y una Humedad Relativa promedio anual de 75,50% (CVC – Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca, GEAUR Palmira y Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira; 2008).

5.2. Material biológico:

Se utilizaron 120 ejemplares de Cachama blanca *Piaractus brachypomus*, a los cuales no se les clasificó por sexo. La cantidad y tamaño de los peces utilizados como unidad experimental es muy importante, ya que de ésta depende la cantidad de heces colectadas y la dificultad de su colección, por lo que se manejaron animales con pesos de 580±20 g cada uno.

5.3. Jaula flotante:

Se fabricó una jaula flotante, con los siguientes materiales: Polisombra al 75%, Nylon, hilo grueso para coser, agujas gruesas y tubería de PVC con sus accesorios. Esta jaula presentó las siguientes dimensiones: 1,50 m de ancho x 1,40 m de profundidad x 12 m de largo, y se dividió en 8 secciones, separadas entre sí cada 1,50 m, las cuales fueron consideradas como unidades experimentales. Esta jaula se ubicó en un estanque que cuenta con un área de 1.892 m² aproximadamente, y una profundidad de 2 m. Cada sección representó una repetición de cada tratamiento, y cada tratamiento manejó dos secciones. Cada sección alojó 15 cachamas, para finalmente obtener 30 ejemplares por tratamiento.

En la figura 3, se puede apreciar la fabricación de la jaula flotante, con los materiales mencionados en la metodología. El proceso de fabricación de esta jaula es muy sencillo, que procede como sigue:

- ❖ Se extendieron 2 guías con Nylon, a las cuales fueron cosidos los extremos del tendido de polisombra.
- ❖ Paso seguido, se insertó el esqueleto hecho en PVC, que consiste en cuadros de 1,50 m de largo x 1,40 m de alto. Éstos se ubicaron cada 1,50 m, para formar las unidades experimentales.
- ❖ Se cosieron los cuadros a la polisombra.

La instalación de la jaula flotante en el estanque, requirió la utilización de diez estacas, para poderla fijar al fondo del estanque, mientras los extremos de la jaula se amarraron a los troncos de los árboles que rodean el estanque (ver figura 3):



Fuente: Laura Cristina Clavijo R.

Figura 3. Fabricación de la jaula flotante.

En la figura 4, se puede apreciar la distribución de los tratamientos y las repeticiones en la jaula flotante:



Figura 4. Distribución de los tratamientos en la jaula flotante. T1R1: Tratamiento 1-Repeticón 1; T1R2: Tratamiento 1-Repeticón 2; T2R1: Tratamiento 2-Repeticón 1; T2R2: Tratamiento 2-Repeticón 2; T3R1: Tratamiento 3-Repeticón 1; T3R2: Tratamiento 3-Repeticón 2; T4R1: Tratamiento 4-Repeticón 1; T4R2: Tratamiento 4-Repeticón 2.

En la figura 5, se puede apreciar el proceso de captura y ubicación de los ejemplares experimentales en cada unidad experimental. Para lograr esto, se lanzaba alimento al estanque, buscando atraer las cachamas. Logrado esto, se procedía a lanzar el chinchorro para capturarlas. Éstas se encontraban en el mismo estanque en el que se ubicó la jaula flotante. Luego se procedió a seleccionar los peces, de acuerdo al peso requerido para el ensayo, manejando en promedio 580 ± 20 g por individuo. Las

cachamas seleccionadas se llevaban en un balde con agua, hacia la jaula, y se repartieron 15 animales por unidad experimental.



Fuente: Laura Cristina Clavijo R.

Figura 5. Captura de los animales experimentales (Cachama blanca *Piaractus brachypomus*), y posterior ubicación en las secciones de la jaula flotante.

5.4. Condiciones fisicoquímicos del agua:

Se monitorearon al principio y al final de esta investigación, los parámetros fisicoquímicos del agua, como son Temperatura, contenido de Oxígeno disuelto, Nitritos, y pH, buscando controlar estos parámetros para que se mantengan dentro de los rangos normales para la especie, de tal manera que no haya influencia sobre los tratamientos y no generen estrés a los peces (ver anexo 1).

5.5. Tratamientos:

Adaptando la metodología propuesta por Cho y Slinger (1979), se manejaron cuatro dietas iso-proteicas (28% proteína) e iso-energéticas ($\pm 17,5$ MJ/g), en un diseño que

consiste en utilizar dos materias primas no convencionales que aportan proteína (harina de caupí y harina de bore), las cuales suministraron el 10% de la proteína en la dieta, combinadas con dos materias primas que aportan energía (harina de yuca y harina de zapallo); más una materia prima convencional que aporta proteína (harina de pescado), la cual suministró el 28% de la proteína de la dieta, quedando las dietas así:

- ✓ Dieta 1 (Control) (T1): Harina de pescado – Harina de yuca.
- ✓ Dieta 2 (T2): Harina de pescado – Harina de yuca – Harina de caupí.
- ✓ Dieta 3 (T3): Harina de pescado – Harina de yuca – Harina de bore.
- ✓ Dieta 4 (T4): Harina de pescado – Harina de zapallo.

Las dietas fueron almacenadas en recipientes individuales, de capacidad de 30 L, debidamente etiquetados. La composición química de las materias primas proteicas y energéticas mencionadas anteriormente, se pueden apreciar en la tabla 6:

Tabla 6. Composición nutricional de los ingredientes de las dietas experimentales.

Ingredientes	PB	EE	ELN	FB	Cenizas	ED
			%			Mj/kg
Harina de Pescado	60,9	10,49	0	1	17,4	16.242,25
Harina de Yuca	2,5	0,5	85,8	5	6,2	10.728,6
Harina de Caupí	16,5	1,6	48,2	24,9	7,8	9.623,9
Harina de Bore	16	8	36,5	22	17,5	10.294,5
Harina de Zapallo	8,12	2,85	76,6	4	8,4	11.614,03
Aceite de Palma	0	100	0	0	0	33.500

PB: Proteína bruta, EE: Extracto etéreo, ELN: Extracto libre de nitrógeno, FB: Fibra bruta, ED: Energía digestible.

Los ingredientes para la elaboración de las dietas fueron los siguientes: Harina de pescado, harina de caupí *Vigna unguiculata*, harina de zapallo *Cucurbita moschata* Dutch, harina de bore *Alocasia macrorrhiza*, harina de yuca *Manihot sculenta* Crantz,

premezcla de vitaminas y minerales, y aceite de palma. La formulación de las dietas se puede apreciar en la tabla 7:

Tabla 7. Formulación y composición nutricional de las dietas experimentales.

Ítem	Dietas			
	T1 ¹	T2	T3	T4
Harina de Pescado (g/kg)	445	375	378	389
Harina de Yuca (g/kg)	470	247	274	-
Harina de Zapallo (g/kg)	-	-	-	533
Harina de Caupí (g/kg)	-	295	-	-
Harina de Bore (g/kg)	-	-	270	-
Aceite de Palma (g/kg)	55	55	50	50
Premezcla de vitaminas y minerales(g/kg) ³	25	25	25	25
Cr ₂ O ₃ (g/kg)	2,5	2,5	2,5	2,5
Total	1.000	1.000	1.000	1.000
% PB ²	28,05	28,32	28,03	28,02
% EE	10,4	10,0	11,26	10,6
% ELN	40,84	35,41	33,36	40,83
% FB	2,82	8,96	7,69	2,52
% Cenizas	10,62	13,22	10,54	10,93
ED (Mj/kg)	14.112,21	13.422,36	13.533,72	14.183,51

1T1: Harina de pescado-harina de yuca, T2: Harina de pescado-harina de yuca-harina de caupí, T3: Harina de pescado-harina de yuca-harina de bore, T4: Harina de pescado-harina de zapallo. ²PB: Proteína bruta, EE: Extracto etéreo, ELN: Extracto libre de nitrógeno, FB: Fibra bruta, ED: Energía digestible, PD: Proteína digestible. ³Premezcla: Vitamina A (11.925 UI); vitamina D3 (2.250 UI); vitamina E (9 UI); vitamina K3 (1,8 mg); vitamina B12 (0,02 mg); tiamina (1,1 mg); riboflavina (9 mg); piridoxina (1,8 mg); biotina (0,1 mg); ácido pantoténico (9,9 mg); niacina (38,25 mg); ácido fólico (0,9 mg); colina (680 mg); yodo (1,2 mg); selenio (0,18 mg); hierro (70 mg); cobre (10 mg); zinc (60 mg); manganeso (70 mg).

Se utilizó Óxido de cromo Cr₂O₃ como marcador inerte, para determinar digestibilidad fecal aparente de manera indirecta, en una inclusión de 0,25% del total de la dieta. Se manejó esta medida, tomando la experiencia de Gil, Ordoñez y Ospina (2,5 mg/kg) (2006), donde se maneja una proporción menor de marcador en el alimento a evaluar.

Elaboración de las dietas experimentales

Una vez diseñadas las dietas, se procedió a moler las materias primas, seguidamente se mezclaron manualmente junto con los demás ingredientes. Al aceite de palma se le adicionó el óxido de cromo Cr_2O_3 , para garantizar una mejor distribución, cuando se mezclaran con los demás ingredientes. Finalmente, la mezcla se llevó a un Extruder, facilitado por el Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá, para conseguir un pellet más estable físicamente, que nos garantizara flotabilidad y duración en el medio acuático, para facilitar su consumo por parte de los peces. Estos pellets fueron enfriados a temperatura ambiente, para que pierdan calor y se puedan almacenar hasta el momento en que sean suministrados a los peces.

En la figura 6, se puede apreciar el proceso de elaboración de los 4 tratamientos. Se prepararon 16 kg de cada tratamiento, para poder alimentar los 120 ejemplares experimentales de cachama blanca *P. brachypomus*. La mezcla de los ingredientes debió hacerse de manera manual, ya que la mezcladora pequeña que se encuentra en la granja Mario González Aranda, de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, sólo mezcla a partir de 20 kg.



Fuente: Laura Cristina Clavijo R.

Figura 6. Preparación de los tratamientos.

En la figura 7, se puede apreciar como lucían los diferentes tratamientos, ya extrudizados:



Figura 7. Presentación de los Tratamientos extrudizados.

5.6. Diseño Experimental:

Para determinar la Digestibilidad fecal aparente, se planteó un Diseño de Bloques Completos al Azar, con cuatro tratamientos y dos repeticiones por tratamiento, considerándose las repeticiones como bloques, quedando el modelo como sigue:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + B_j + \varepsilon_{ijk}$$

En donde:

Y_{ij} = Digestibilidad observada para el Tratamiento i en la Repetición j .

μ = Media general de los tratamientos.

τ_i = Efecto del Tratamiento i .

B_{ij} = Efecto de la Repetición j en el Tratamiento i .

ϵ_{ijk} = Error experimental asociado al Tratamiento i en la Repetición j .

5.7. Manejo de la máquina de succión:

Se contó con una bomba de vacío facilitada por el Laboratorio de Física de Suelos de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, a la cual se le adaptaron dos tuberías plásticas, para que cumplan con el siguiente recorrido: Una comunicará la bomba de vacío con el vaso recolector de heces (pipeta de tapa azul), la segunda saldrá de esta pipeta para ubicarla en el esfínter anal del pez (ver figura 8).

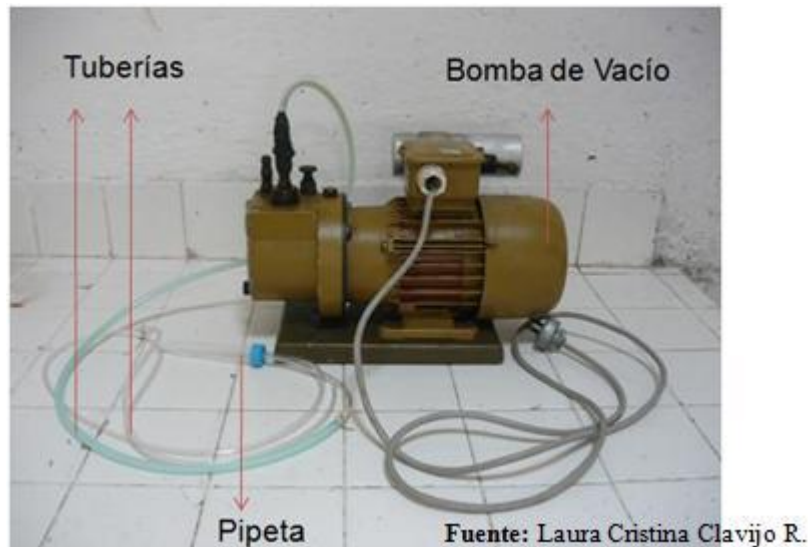


Figura 8. Máquina de succión de heces.

El procedimiento a seguir es el siguiente:

- Se preparó una mesa de trabajo donde se ubicó la máquina.
- En un recipiente o balde de capacidad de 10 L de agua, se ubicaron de cinco a diez peces.
- Con la ayuda de otra persona, se tomó el pez y se ubicó en posición ventral para despejar el esfínter anal. No se utilizó anestésico para este procedimiento.

- Se conectó la máquina de succión y se ubicó la tubería que sale de la pipeta en el esfínter anal.
- Se realizó un masaje presionando el abdomen (*stripping*) en un solo sentido, craneal–caudal desde las aletas ventrales hasta el ano, hasta que salieron las heces. Se repitió el masaje cuantas veces fue necesario, hasta que no salió más muestra; luego se pasó al siguiente pez.
- Los peces muestreados se colocaron en otro balde de 10 L con agua; luego se devolvieron a sus secciones de la jaula flotante.
- Cuando se terminaba con cada repetición o sección de la jaula, se debió desenroscar la pipeta y verter la muestra en un recipiente etiquetado, para almacenar la muestra recolectada, luego se volvió a colocar y se siguió con la extracción del siguiente grupo.

5.8. Periodo Experimental:

Comprendió dos fases:

La primera fase correspondió al periodo de acostumbramiento de los peces a los tratamientos y a la jaula, la cual tuvo una duración de cinco días aproximadamente. Al tercer día de estar las cachamas dentro de la jaula, se procedió a alimentarlas con concentrado comercial, para observar su comportamiento de adaptación. Se pudo observar entonces que consumían el concentrado, demostrando buena adaptación al cautiverio en la jaula. No se observaron peces muertos.

La segunda fase correspondió a la aplicación de los cuatro tratamientos o dietas, ofrecidas a saciedad en una toma diaria a las 11:00 a.m., buscando el máximo consumo (ver figura 9). Como debe suministrarse en alimento a cada animal, el equivalente al 10% de su peso vivo, y teniendo en cuenta que se distribuyeron 30 animales por tratamiento, es decir, 15 animales por repetición, se ofreció 1.740 g de cada tratamiento, repartiendo 870 g a cada repetición. Al cuarto día de consumo, se inició el proceso de *stripping* para la extracción de heces, realizándolo en dos tratamientos por día, ya que

es un proceso dispendioso y en una tarde no se lograría recolectar muestra de los cuatro tratamientos (ver figura 10).

Se llevó en formatos de registro el alimento suministrado a cada unidad experimental, para cada tratamiento. La extracción de las heces se realizó a las cuatro horas siguientes de la toma, es decir, alrededor de las 3:30 p.m., por medio de *stripping*, con el fin de garantizar un intervalo de tiempo en el que todo el alimento haya transitado por el tracto intestinal, y que no haya contaminación con alimento no consumido ni con el agua del estanque (ver figura 10).



Fuente: Laura Cristina Clavijo R.

Figura 9. Alimentación de los ejemplares, con los diferentes tratamientos.



Figura 10. Proceso de recolección y almacenamiento de las heces de cada tratamiento.

Como en el proceso de *stripping*, las heces pierden su consistencia de solidez, debido a la fuerza de succión que ejerce la bomba de vacío sobre ellas, se debieron lavar la manguera y la pipeta recolectora con agua destilada, para poder almacenar las muestras en sus respectivos recipientes plásticos, debidamente rotulados, de capacidad de 100 g. Éstos fueron rotulados y almacenados a temperatura de congelamiento de -9°C , en la nevera del Laboratorio de Foliarés, de la Universidad Nacional de Colombia Sede Orinoquia (ver figura 10).

Pasados tres días, se alimentaron nuevamente, permitiendo que los peces se recuperen del estrés, producto del proceso de *stripping*. Este proceso se repitió hasta que se colectaran aproximadamente 15 g de heces por tratamiento.

5.9. Manejo de las muestras recolectadas:

Se depositaron en cajas de petri y se llevaron al horno de secado, a una temperatura de 60°C durante 24 a 36 horas (ver figura 11). Pasado el tiempo de secado, se recuperaron

las muestras, se pesaron y depositaron en un recipiente etiquetado, de capacidad de 100 g, y se precintaron las tapas para evitar humedad.

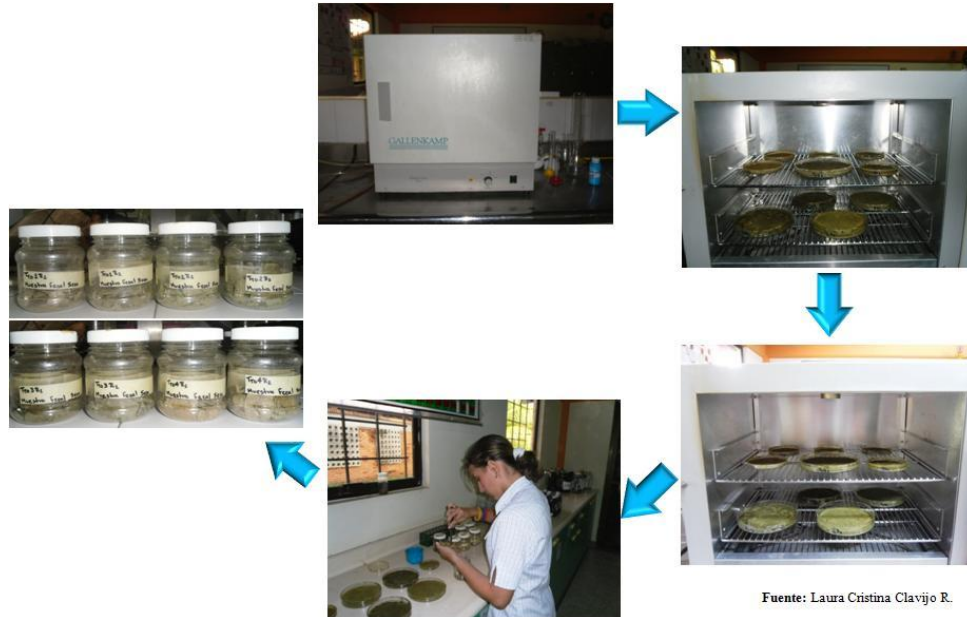


Figura 11. Secado inicial de las muestras en laboratorio, a 60°C durante 36 horas, y posterior almacenamiento.

5.10. Otros equipos y materiales:

- Chinchorros.
- Computador e impresora.

5.11. Análisis de laboratorio:

Se determinó en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, mediante el análisis de Weende, la composición química de los tratamientos y de las heces recolectadas, de acuerdo a la metodología propuesta por AOAC (1990):

Materia seca analítica. Las muestras de heces secadas inicialmente a 60°C, son molidas con un tamiz de 0,5 mm; posteriormente se determina materia seca analítica, pesando 2 g de cada muestra, para luego someterla a 105°C en un horno por 6 horas. Para determinar la materia seca de los tratamientos, se realiza el mismo procedimiento utilizado para determinar la materia seca analítica de las heces.

La cantidad de heces en seco, recolectada en promedio, fue de 21,41 g, por cada tratamiento.

Cenizas. Se determinan por incineración de 1g de cada muestra, en una mufla a una temperatura de 550°C.

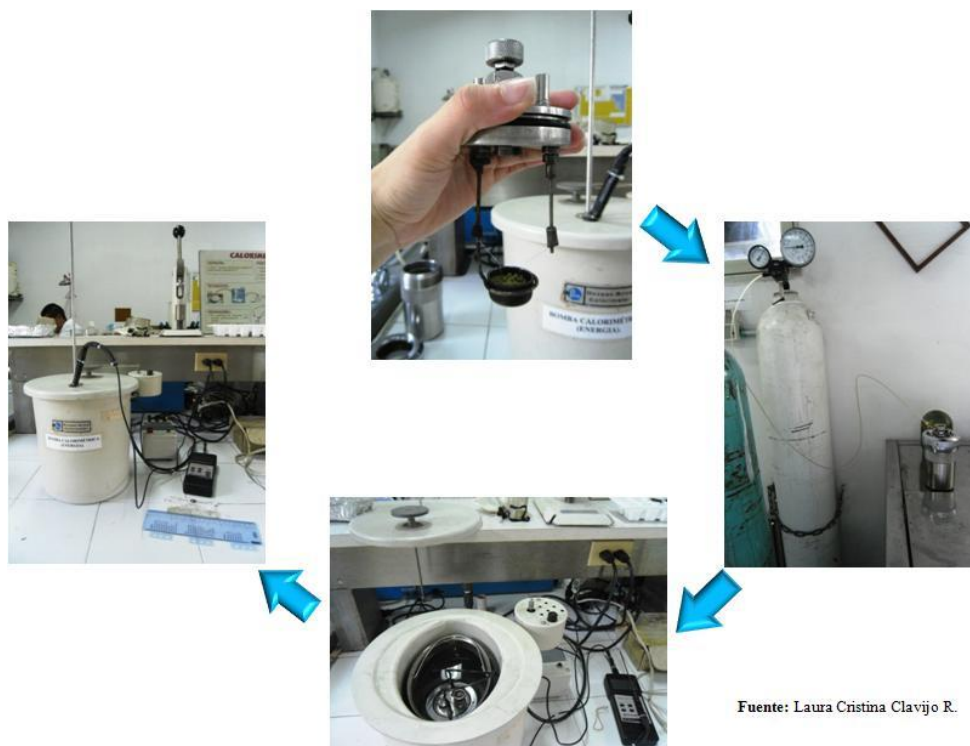
Proteína bruta. Por el método Kjeldhal, con el cual se determina el contenido de nitrógeno de la muestra, donde éste es multiplicado por el factor 6,25 para hallar el contenido de proteína bruta en la muestra (ver figura 12).



Fuente: Laura Cristina Clavijo R.

Figura 12. Proceso para realizar análisis de proteína por el método Kjeldhal.

Energía: Es determinada en una bomba calorimétrica, en cal/g de muestra (ver figura 13).



Fuente: Laura Cristina Clavijo R.

Figura 13. Proceso para realizar análisis de energía por el método de Bomba calorimétrica.

Óxido de cromo. El contenido de cromo en las muestras de alimento y heces, son determinados utilizando la técnica propuesta por Furukawa y Tsukahara (1966), en donde se determina el contenido de óxido de cromo en 100 mg de muestra, haciendo una digestión con ácidos nítrico y perclórico; el producto de la digestión es diluido con agua destilada en un matraz aforado, para luego leer en el espectrofotómetro calibrado a 340 nm. Para realizar los análisis de contenido Cr_2O_3 , se tuvo que realizar una Curva de calibración de Cr_2O_3 , procedimiento que se describe con detalle en el Anexo 4.

Los resultados de estos análisis se pueden observar en el Anexo 2 y 3, figuras 14 y 15.

5.12. Cálculo de los Coeficientes de digestibilidad fecal aparente:

Se determinaron a través de ecuaciones de método indirecto, como lo plantea Maynard y Loosli (1969; citados por Austreng, 1978):

$$(1) \text{ Digestibilidad Total (\%)} = 100 - 100 * \left(\frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en la dieta}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en las heces}} \right)$$

$$(2) \text{ Digestibilidad aparente de nutriente (\%)} = 100 - 100 * \left(\frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en la dieta} * \% \text{Nutriente en las heces}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en las heces} * \% \text{Nutriente en la dieta}} \right)$$

5.13. Análisis estadísticos:

Para el análisis de la información, se realizó el respectivo Análisis de Varianza, propio del diseño experimental usado, para observar el efecto de los tratamientos y de las repeticiones sobre la media de la Digestibilidad fecal aparente de la materia seca, proteína y energía; y una comparación de Prueba de medias para los tratamientos a través de la Prueba de Rango Múltiple de Duncan (Padrón, 2003).

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS), versión 9.1. del año 2011.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el proceso de adaptación de la metodología de *stripping* con bomba de vacío, se tuvo que enfrentar a inclemencias del clima, representadas en precipitaciones abundantes en la región. Sin embargo, se logró implementar esta metodología, armando el sencillo dispositivo descrito en los materiales y métodos, cerca al estanque donde permaneció la jaula flotante. Aunque Stone *et al.* (2008) reportó que el proceso de *stripping* causa estrés, las cachamas utilizadas en este estudio mostraron gran resistencia que se evidenció en una mortalidad de 0%, buen apetito y buen estado de salud, hechos que nos permite suponer que los animales pudieron manejar el estrés generado, ya que en este estudio no se midieron niveles de estrés.

La aplicación del *stripping* en las cachamas, usando una bomba de vacío, requirió precisión en la intensidad de presión ejercida en el masaje, aspecto en el que se adquirió destreza rápidamente. En cuanto a la recolección de heces, se debió ser preciso en el momento de acercar la manguera para succionarla, y así no perder muestra, ya que en algunos animales las heces salían lenta y firmemente, mientras que en otros salía semilíquida y muy rápidamente. De este modo, se pudo mejorar este método de recolección de heces, ya que se evitó la contaminación de éstas con alimento no ingerido, con amonio excretado por las cachamas al medio acuático, y con partículas que estuviesen adheridas a su piel.

Otro factor a tener en cuenta, fueron las condiciones fisicoquímicas del agua del estanque, con un 0,65 mg/L de Oxígeno disuelto (ver Anexo 1), que está muy por debajo de 4 – 12 mg/L propuesto por OLDEPESCA (2010) para cultivos de esta especie, y muy por debajo de lo hallado por Poleo *et al.* (2011) para sistemas productivos sin recambios de agua. Las cachamas usadas para esta investigación, parecen estar muy adaptadas a estas condiciones, en estanques sin ninguna posibilidad de recambio de agua, debido a que no tiene sistema de

desagüe y el modo de entrada de agua es por medio de la lluvia, al terreno totalmente plano en el que se hallan, al área tan grande de espejo de agua, que haría realmente dispendioso su vaciado; que no presentaron ningún rasgo de mal estado de salud. Además, la Granja Experimental El Cairo, de la Universidad Nacional de Colombia Sede Orinoquia, maneja un sistema de producción piscícola semi-extensivo con esta especie dulceacuícola, bajo estas condiciones, realizando cosechas cada dos meses aproximadamente, vendiendo al personal universitario hasta 200 kg, con pesos individuales que oscilan entre 700 g–1,5 kg, siendo una carne muy apetecida por el personal universitario, que la califica como de buen sabor.

En cuanto a la determinación de digestibilidad, aplicando la ecuación por método indirecto, propuesta en la metodología, se obtuvieron los siguientes resultados, a los cuales se les realizó análisis de varianza y prueba de medias por la Prueba de Rango Múltiple de Duncan, apreciados en la tabla 8:

Tabla 8. Digestibilidad dada en porcentaje de la materia seca, proteína bruta y energía, de los tratamientos.

Tratamientos	%DMS	%DPB	%DE
Harina de pescado-Harina de yuca (T1)	15,096b	18,930a	15,389b
Harina de Pescado-Harina de yuca-Harina de caupí (T2)	23,704a,b	25,393a	20,878a,b
Harina de Pescado-Harina de yuca-Harina de bore (T3)	24,480a,b	32,073a	22,584a,b
Harina de Pescado-Harina de zapallo (T4)	32,739a	38,519a	37,745a
SEM	1,72	2,67	2,03
DMS	15,56	24,08	18,34

n = 8. Medias con la misma letra no presentan diferencias significativas ($P < 0,05$). SEM: Error estándar.

DMS: Diferencia mínima significativa para prueba de medias por la prueba de rango múltiple de Duncan.

%DMS: Digestibilidad de la materia seca dada en porcentaje. %DPB: Digestibilidad de la proteína bruta dada en porcentaje. %DE: Digestibilidad de la energía dada en porcentaje.

Observando los resultados presentados en la tabla 8, se aprecia que hubo una digestibilidad muy baja en todos los tratamientos.

La baja digestibilidad del tratamiento T1 no se podría adjudicar al contenido de fibra, ya que éste fue muy bajo siendo de 2,82% (ver tabla 7), pero si se puede adjudicar al contenido de cenizas que fue de 13,93% (ver anexo 1), el cual es bastante alto y genera un proceso antinutricional en el animal. Aunque el contenido de cenizas en el T1 fue un poco más bajo que el contenido de cenizas en el T4, la digestibilidad no se vio favorecida en el T1 mientras que en el T4 sí, lo cual podría deberse a la existencia de posibles metabolitos contenidos en el bulbo de yuca, que fueron pasados por alto en el momento de realizar esta investigación. También podría deberse al hecho de que el bulbo de yuca es una fuente muy buena de carbohidratos, y los peces no producen suficiente amilasa para procesarlos ya que ellos son más eficientes en el metabolismo de la proteína para obtener energía.

Los tratamientos T2 y T3 fueron bajos en digestibilidad, debido al alto contenido de fibra que fue de 8,96% y de 7,69% respectivamente (ver tabla 7), además de los altos contenidos de cenizas, siendo de 13,30% y 14,10% respectivamente (ver anexo 1).

El tratamiento T4, fue el más digestible de los cuatro tratamientos. Su contenido de fibra fue muy bajo, siendo de 2,52% (ver tabla 7), aunque el contenido de cenizas fue de 14,77% (ver anexo 1), que fue bastante alto. Esto indica que las cenizas fueron la causa de la baja digestibilidad de este tratamiento. Aún así, las cachamas pudieron metabolizar mejor la harina de zapallo, por lo que sería interesante realizar investigaciones más profundas acerca del uso de la harina de zapallo en alimentación para cachamas y otras especies de peces.

Aunque no se han encontrado otros estudios de este tipo en *Characiformes*, usando las harinas de yuca, de caupí, de bore y de zapallo, los resultados hallados en este estudio contrastan con los hallados por Gutierrez, Zaldívar y Contreras (2009); Abimorad, Squassoni y Carneiro (2008); Gutiérrez y Vásquez (2008); Oliveira *et al.* (2008); Abimorad y Carneiro (2007); Abimorad y Carneiro (2004); Batista, Lochmann y Alcantara (2004) y Vazquez *et al.* (2004); donde se utilizaron materias primas de origen vegetal como maíz, soya, sorgo, mogolla de trigo, arroz, donde la digestibilidad de la proteína y la energía superan el 70%, indicando que las materias primas de origen vegetal sí se pueden utilizar

sin inconvenientes en la alimentación de *Characiformes*. Este hecho se ve soportado en que los *Characiformes* son animales de hábitos alimenticios omnívoros, de acuerdo a Lauzanne y Loubens (1985), lo que indica que tienen la capacidad de digerir y metabolizar bastante bien los alimentos de origen vegetal.

Otra característica que pudo afectar la digestibilidad de los tratamientos en este estudio, pudo haber sido el peso de los animales experimentales, que fue de 580 ± 20 g cada uno, mientras que en los estudios realizados por Gutierrez, Zaldívar y Contreras (2009); Abimorad, Squassoni y Carneiro (2008); Gutiérrez y Vásquez (2008); Oliveira *et al.* (2008); Abimorad y Carneiro (2007); Abimorad y Carneiro (2004); Batista, Lochmann y Alcantara (2004) y Vazquez *et al.* (2004), los animales experimentales no superaban los 350 g de peso vivo. Esto puede indicar que animales en etapa de levante aprovechan mejor el alimento suministrado, para cumplir con su proceso de crecimiento, mientras que los animales en etapa de engorde, como los usados en este estudio, podrían llegar a un punto donde su eficiencia en cuanto a digestibilidad disminuye un poco porque su proceso de crecimiento empieza detenerse.

Otra posible causa de la baja digestibilidad de los tratamientos evaluados, pudo haber sido los niveles de oxígeno disuelto en el sistema, que son de 0,65 mg/L, que son muy bajos frente a lo reportado como óptimo por OLDEPESCA (2010) y por Poleo *et al.* (2011), porque aunque los animales mostraban una adaptabilidad aparente bajo estas características ambientales, el proceso de metabolismo digestivo podrían verse afectado por este hecho.

Ante estos resultados, se determina entonces no recomendar la inclusión de niveles del 10% de harina de yuca, de bore y de caupí en las dietas para la alimentación de *P. brachypomus*, mientras que sí se recomienda seguir investigando el desempeño de la harina de zapallo en alimentación para cachamas.

7. CONCLUSIONES

La implementación de la metodología de *stripping* usando bomba de vacío, para determinar digestibilidad en peces, propuesta en este estudio, mejora notablemente este método porque disminuye el tiempo de recolección de heces, así como también disminuye la contaminación de las mismas con alimento no ingerido o con partículas adheridas a su piel que pudiesen generar error en la determinación de digestibilidad, además permite hacer investigaciones en digestibilidad en condiciones de campo abierto, obteniendo buenos resultados.

En cuanto a la digestibilidad de los tratamientos, los altos contenidos de fibra y de ceniza en las dietas aportadas por las materias primas evaluadas, posiblemente fueron la causa de la baja digestibilidad de los tratamientos. Por lo tanto, no se recomienda utilizar niveles de inclusión del 10% de harina de caupí y harina de bore, ni ofrecer la harina de yuca como única fuente de energía en la alimentación para cachama blanca *Piaractus brachypomus*.

BIBLIOGRAFÍA

ABIMORAD, E. G. y CARNEIRO, D. J. Digestibility and performance of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles — fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. En: Aquaculture nutrition. Vol 13 (2007); p. 1–9.

_____. Métodos de Coleta de Fezes e Determinação dos Coeficientes de Digestibilidade da Fração Protéica e da Energia de Alimentos para o Pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). En: Revista Brasileira de Zootecnia. Vol. 33, No. 5, (2004); p. 1101–1109.

ABIMORAD, E. G.; SQUASSONI, G. H. y CARNEIRO, D. J. Apparent digestibility of protein, energy, and amino acids in some selected feed ingredients for pacu *Piaractus mesopotamicus*. En: Aquaculture Nutrition. Vol. 14, (2008); p. 374–380.

ADAMIDOU, S. *et al.* Apparent nutrient digestibility and gastrointestinal evacuation time in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing different levels of legumes. En: Aquaculture. Vol. 289, (2009); p. 106–112.

ADEPARUSI, E. O. y KOMOLAFE, A. Effect of Faecal Collection Methods on Nutrient Digestibility in *Oreochromis niloticus* fed Soya Bean Diets. En: Journal of Food Technology. Vol. 4, No. 1. (2006); p. 4–9.

ALIAGA P., C. Variabilidad genética de *Colossoma macropomum* y *Piaractus brachypomus* en la región del Alto Madera (Amazonía Boliviana) para el análisis del Polimorfismo de la longitud de secuencias intrónicas (Epic-Pcr). La Paz (Bolivia), 2004, 103 p. Trabajo de grado (Licenciada en Biología). Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Ciencias Puras y Naturales. Instituto de Biología Molecular y Biotecnología.

AOAC (ASSOCIATION of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis. 15 ed. Virginia (USA): Association of Official Analytical Chemists, 1990. 1298 p.

AUSTRENG, E. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. En: Aquaculture. Vol. 13, (1978); p. 265–272.

BATISTA K. F., J.; LOCHMANN, R.; y ALCANTARA B., F. Apparent digestible energy and nutrient digestibility coefficients of Diet ingredients for Pacu *Piaractus brachypomus*. En: Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 35, No. 2 (Junio 2004); p. 237–244.

CHO, C. Y. y SLINGER, S. J. Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout. En: Proceedings, World Symposium on Finfish Nutrition and Fishfeed Technology. Heenemann (Berlin): Halver, J. & Tiews, K. 1979, vol. 2. p. 239–247.

CRUZ S., L. E. *et al.* Apparent dry matter, energy, protein and amino acid digestibility of four soybean ingredients in white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. En: Aquaculture. Vol. 292, (2009); p. 87–94.

CVC (Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca), GEAUR Palmira y Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. Informe final Convenio 063 de 2007: Avance de los temas de investigación Clima, Biodiversidad y Calidad del Hábitat. Palmira: BIOPALMIRA, Observatorios para el desarrollo sostenible, 2008. 21 p.

DAVIES, S. J. y GOUVEIA, A. Comparison of yttrium and chromic oxides as inert dietary markers for the estimation of apparent digestibility coefficients in mirror carp *Cyprinus carpio* fed on diets containing soybean, maize and fish-derived proteins. En: Aquaculture Nutrition. Vol. 12, (2006); p. 451–458.

FERNÁNDEZ, F. Comparisons of faecal collection methods for digestibility determinations in gilthead sea bream. En: Journal of Fish Biology. Vol. 49, (1996); p. 735–738.

FURUKAWA, A. y TSUKAHARA, H. On the acid digestion method for the determination of Chromic Oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. En: Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. Vol. 32, No. 6, (1966); p. 502–506.

GAYLORD, T. G. *et al.* Apparent digestibility of nutrients and energy in extruded diets from cultivars of barley and wheat selected for nutritional quality in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. En: Aquaculture Nutrition. Vol. 15, (2009); p. 306–312.

GIL LL., J. L.; ORDONEZ C., I. A. y OSPINA P., Bernardo. Nutrición de la tilapia roja (*Oreochromis* sp.) con el uso de materias primas alternativas. Colombia: 2006. p.143.*Disponibilidad:* Restringido.

GUTIERREZ, F. W.; ZALDÍVAR, J. y CONTRERAS, G. Coeficientes de digestibilidad aparente de harina de pescado peruana y maíz amarillo duro para *Colossoma macropomum* (*Actinopterygii, Characidae*). En: Revista Peruana de Biología. Vol. 15, No. 2, (Febrero 2009); p. 111–115.

GUTIÉRREZ E., M. C. y VÁSQUEZ T., W. Digestibilidad de *Glicine max* L, soya, en juveniles de cachama blanca *Piaractus brachypomus* Cuvier 1818. En: Orinoquia. Vol. 12, No. 2, (2008); p. 141–148.

HEMRE, G. -I. *et al.* Digestibility of dry matter, protein, starch and lipid by cod, *Gadus morhua*: comparison of sampling methods. En: Aquaculture. Vol. 225, (2003); p. 225–232.

HIRAO, S., YAMADA, J. y KIKUCHI, R. On improving the efficiency of feed for fish culture – I. Transit and digestibility of diet in eel and rainbow trout observed by use of P³². En: Bulletin of Tokay Regional Fisheries Research Laboratory. Vol. 7 (1960); p. 67–72.

LAUZANNE, L. y LOUBENS, G. Peces del río Mamoré. Orstom-Cordebeni-UTB: 1985.

LIU, H. *et al.* Nutrients apparent digestibility coefficients of selected protein sources for juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt), compared by two chromic oxide analyses methods. En: Aquaculture Nutrition, (2008); p. 1–7.

LOUBENS, G. y PANFILI, J. Biologie de *Colossoma macropomum* (teleostei: serrasalmidae) dans le bassin du mamoré (amazonie bolivienne). En: Ichthyological Exploration of Freshwaters. Vol. 8, (1997); p. 1–22.

_____. Biologie de *Piaractus brachypomus* (Teleostei: Serrasalmidae) dans le bassin du Mamoré (Amazonie bolivienne). Ichthyological Exploration of Freshwaters. Vol. 12, (2001); p. 51–64.

LUGO, P. A. Implementación de cultivo de cachama (*Piaractus brachypomus*) como una alternativa productiva para el departamento de Arauca. Arauca: Universidad Nacional de Colombia Sede Orinoquía, 2006. 11 p.

OLDEPESCA. ESTUDIO SOBRE LOS EFECTOS DEL CAMBIO CLIMÁTICO EN LAS ESPECIES ACUÍCOLAS MÁS IMPORTANTES DE LA REGIÓN, JUNIO 2009. (21° : 2010 : San Francisco de Campeche, México). Memorias de la XXI Conferencia de Ministros. San Francisco de Campeche (México): OLDEPESCA, 2010. 74 p.

OLIVEIRA, A. C. B. *et al.* Determination of apparent digestibility coefficient in fish by stable carbon isotopes. En: Aquaculture Nutrition. Vol. 14, (2008); p. 10–13.

PADRÓN C., E. Diseños Experimentales con aplicación a la Agricultura y la Ganadería. México (México): Editorial Trillas, 2003. p. 5–66.

PARRA, F. *et al.* Efecto de tres tipos de presentación de alimento preparado con raíz y follaje de yuca (*Manihot esculenta Crantz*) sobre la digestibilidad aparente en cerdos. En: Revista Científica. Vol. 12, Suplemento 2, (Octubre 2002); p. 471–474.

PERCIVAL, S. B. *et al.* Validation of a technique for determining apparent digestibility in large (up to 5 kg) Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seaweeds. En: Aquaculture. Vol. 201, (2001); p. 315–327.

POLEO, G. *et al.* Cultivo de cachama blanca en altas densidades y en dos sistemas cerrados. En: Pesquisa agropecuaria brasileira. Vol. 46, No. 4, (Abril 2011); p. 429–437.

RAWLES, S. D. *et al.* A comparison of two faecal Collection methods for proteína and amino acid digestibility coefficients of menhaden fish meal and two grades of poultry by-product meals for market-size sunshine bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). En: Aquaculture Nutrition. (2009); p. 1–10.

SAS. System for Windows. SAS Institute Inc., Cary. NC. 2011, Versión 9.1.

STONE, D. A. J. *et al.* Evaluation of the effects of repeated fecal collection by manual stripping on the plasma cortisol levels, TNF- α gene expression, and digestibility and

availability of nutrients from hydrolyzed poultry and egg meal by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). En: Aquaculture. Vol. 275, (2008); p. 250–259.

VASQUEZ V., M. Jr. *et al.* Determinação da digestibilidade da matéria seca e da proteína bruta do fubá de milho e do farelo de soja para Tambaqui (*Colossoma macropomum*), utilizando-se técnicas com uso de indicadores internos e externos. En: Revista Brasileira de Zootecnia. Vol. 33, No. 6, Supl. 3, (2004); p. 2193–2200.

VIDOTTI, R. M.; DALTON, J. C. y MACEDO V., E. M. Acid and fermented silage characterization and determination of apparent digestibility coefficient of crude protein for pacu *Piaractus mesopotamicus*. En: Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 33, No. 1, (Marzo 2002); p. 57–62.

XIAO-YI W.; YONG-JIAN, L. y LI-XIA, T.. Apparent digestibility coefficients of selected feed ingredients for yellowfin seabream, *Sparus latus*. En: Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 37, No. 3, (Septiembre 2006); p. 237–245.

YAMADA, J. *et al.* On improving the efficiency of feed for fish culture – II. Digestibilities of feedingstuff for rainbow trout and some trials on the improvement. En: Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. Vol. 28, (1962); p. 905–908.

ZHI, L. Apparent digestibility coefficients of selected feed ingredients for Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*. En: Aquaculture. Vol. 285, (2008); p. 141–145.

ANEXOS

Anexo A. Análisis fisicoquímico de agua, del estanque 2, de la Universidad Nacional de Colombia Sede Orinoquia.

Parámetro	Resultado	Método
pH	6,87	Potenciométrico
Nitritos (mg/L NO ₂ ⁻)	0,0013	Espectrofotométrico
Dureza total (mg/L CaCO ₃)	35,16	Volumétrico EDTA
Alcalinidad (mg/L CaCO ₃)	216,06	Volumétrico H ₂ SO ₄
Temperatura (°C)	28,30	Potenciométrico
Oxígeno disuelto (mg/L O ₂)	0,65	Potenciométrico

Fuente: Laboratorio de Suelos, Aguas y Foliare, Universidad Nacional de Colombia Sede Orinoquia, 2011.

Anexo B. Contenido de Materia seca analítica, Cenizas, Proteína bruta, Energía bruta, dada en porcentaje, de los tratamientos.

Tratamientos	%MS Analítica	% Cenizas	% PB	EB Cal/g
Tto 1	93,7876	13,9721	25,1086	3.280,4046
Tto 2	92,8591	13,3016	21,0232	4.339,7347
Tto 3	94,2232	14,1033	25,0922	4.281,5793
Tto 4	93,3781	14,7745	28,5163	4.306,9202

MS: Materia seca, PB: Proteína bruta, EB: Energía bruta. **Fuente:** Laboratorio de Nutrición Animal, Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, 2011.

Anexo C. Contenido de Materia seca analítica, Cenizas, Proteína bruta, Energía bruta, dada en porcentaje, de las heces.

Heces	%MS Anal.	% Cenizas	% PB	% EB
T1 R1	92,5967	19,2673	23,4598	4092,3847
T1 R2	93,0162	15,0886	24,4521	4481,8060
T2 R1	92,4372	15,9080	20,9322	4361,4190
T2 R2	93,0499	14,5800	20,1545	4448,6892
T3 R1	92,8324	17,5682	21,3784	4463,1400
T3 R2	92,4452	16,6783	23,6068	4505,4566
T4 R1	92,1250	22,5950	24,7125	3984,5447
T4 R2	92,1362	18,0242	27,3042	3988,1395

MS: Materia seca, PB: Proteína bruta, EB: Energía bruta. **Fuente:** Laboratorio de Nutrición Animal, Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, 2011.

Anexo D. Protocolo de medición de las Concentraciones de Cr_2O_3 , para tratamientos y para heces.

El protocolo usado para este análisis, de acuerdo a Furukawa y Tsukahara (1966), fue el siguiente:

Se prepara una Solución madre de Dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), para diseñar una curva de calibración, con la cual se medirán los niveles de Cr_2O_3 en las muestras. Esta solución se prepara de la siguiente manera:

- * Se determina el peso molecular (PM), que permitirá conocer el contenido de cromo, dado en porcentaje, en el $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$:

$$\left. \begin{array}{l} \text{K: } 39.1 \text{ g} * 2 = 78.2 \\ \text{Cr: } 52 \text{ g} * 2 = 104 \\ \text{O: } 16 \text{ g} * 7 = 112 \end{array} \right\} \text{ El PM de } \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \text{ es } 294.2 \text{ g}$$

- * Se determina el contenido cromo en $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$:

Peso Molecular Cr: 104 \rightarrow $(104 / 294.2) * 100 = 35.35\%$ de cromo en $K_2Cr_2O_7$.

- * Se calcula la cantidad de $K_2Cr_2O_7$ para tener una solución con una concentración de 200.000 μg de Cr:

$$\left. \begin{array}{l} 200.000 \mu\text{g} \rightarrow 35.35\% \\ X \rightarrow 100\% \end{array} \right\} X = 565.770,86 \mu\text{g}$$

$$565.770,86 \mu\text{g} * \frac{1 \text{ g}}{1.000.000 \mu\text{g}} = 0.5658 \text{ g/L}$$

$$0.5658 \text{ g/L} * \div 10 = 0.05658 \text{ g/100 mL}$$

- * Se calcula la cantidad de ácido nítrico a agregar:

PM del ácido nítrico (Ác. Nítrico) de 0,4N = 63 g.

Pureza = 65%

Densidad = 1,68 g

$$0,1 \text{ L SLN } 0,4\text{N} * \frac{0,4 \text{ Eq/g}}{1 \text{ L SLN } 0,4 \text{ N}} * \frac{63 \text{ g}}{1 \text{ Eq/g}} * \frac{1 \text{ mL}}{1,68 \text{ g}} * \frac{1}{0,65} = 2,307 \text{ mL Ác. Nítrico}$$

$$2,307 \text{ mL Ác. Nítrico para } 100 \text{ mL} \rightarrow 2,307/2 = 1,153 \text{ mL Ác. Nítrico para } 50 \text{ mL}$$

- * Se pesa en una balanza de precisión, 56,6 mg de $K_2Cr_2O_7$, en un beaker de 50 mL, luego se agrega 1,153 mL de ácido nítrico y agua destilada. Luego se lleva al vórtex para mezclar bien. Acto seguido, se lleva a un balón aforado de 100 mL, y se completa el volumen con agua destilada, lavando bien las paredes para evitar pérdida de reactivo. Esta mezcla debe cubrirse con papel aluminio, para protegerla de la luz ya que ésta la degrada. Finalmente, almacenar la solución madre en nevera, hasta su uso.

La curva de calibración para medir las concentraciones de Cr_2O_3 , se construyó de la siguiente manera:

- * Se determinan los puntos de la curva de calibración, con esta fórmula:

$$C_1V_1 + C_2V_2 = C_3V_3$$

Donde:

C_1V_1 = Solución madre $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$.

C_2V_2 = Agua destilada.

C_3V_3 = Diluciones.

Entonces:

$$C_1V_1 + C_2V_2 = C_3V_3 \rightarrow (200 \mu\text{g Cr}) V_1 + \overset{0}{\cancel{C_2V_2}} = (10 \mu\text{g Cr/mL}) (10 \text{ mL})$$

$$\rightarrow V_1 = \frac{10 \mu\text{g Cr/mL} * 10 \text{ mL}}{200 \mu\text{g Cr/mL}} = 0,5 \text{ mL}$$

Y así sucesivamente, se establecen los puntos de la curva de calibración para esta investigación.

- * Se preparan 8 balones aforados de 10 mL, con la solución madre de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, y un blanco con ácido nítrico 0,4N, el cual se utilizará para calibrar la lectura de las alícuotas.
- * Se calibra el espectrofotómetro a 340 nm, para leer absorbancia (ABS) las alícuotas.
- * Se adicionan aproximadamente 2 mL de la dilución en las celdas de lectura, para el espectrofotómetro.

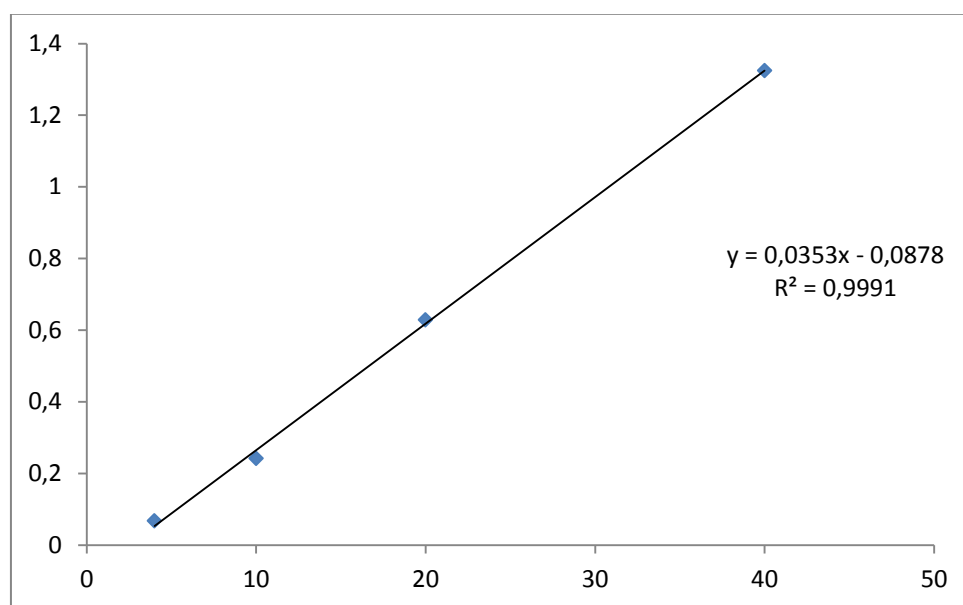
Teniendo la lectura de las alícuotas, se construye la Curva de calibración, como se observa a continuación en la tabla 9:

Tabla 9. Tabulación para la construcción de la Curva de calibración.

$\mu\text{g Cr}_2\text{O}_3$ Real	$\mu\text{g Cr}_2\text{O}_3$ Teórico	%ABS
4,4	4	0,0675
9,3	10	0,242
20,3	20	0,628
40,0	40	1,324

Fuente: Laboratorio de Nutrición Animal, Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, 2011.

Gráfico 1. Curva de calibración para la medición de la concentración de Cr_2O_3 .



Fuente: Laboratorio de Nutrición Animal, Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, 2011.

Teniendo esta curva, el procedimiento a seguir para medir la concentración de Cr_2O_3 tanto en tratamientos como en heces, es el siguiente (ver figuras 14 y 15):

- * Se pesaron 100 μg por muestra de tratamiento y de heces, en balones de 100 mL, teniendo tres repeticiones por cada muestra, en una balanza de precisión. Con precaución, se adicionaron 10 mL de ácido nítrico (HNO_3) a cada balón, y se colocaron en el digestor en la cámara de extracción, hasta que desaparezcan los vapores amarillos, cuando la cantidad de líquido disminuya y sigan los vapores nitrosos, se retiran los balones cuidadosamente del digestor, para adicionarles 5 mL

más de ácido nítrico, y así poder continuar la digestión. Durante el proceso de digestión, se deben agitar con frecuencia y cuidado los balones, para revisar el cambio de color de las muestras.

- * Cuando la muestra presente un color verdoso y claro, sin desprender más vapores ocre, se bajan los balones y se dejan enfriar unos 10 o 15 minutos. Pasado este lapso de tiempo, se agregan cuidadosamente 3 mL de ácido perclórico, dentro de la cámara de extracción. Nuevamente se colocan en el digestor, continuando la digestión, agitando con frecuencia los balones. Cuando se logre el cambio de color de verde a amarillo limón, se retiran los balones y se dejan enfriar, observando la formación de un anillo rojizo en el borde del líquido.
- * Terminado este paso, se vierte la muestra en un balón volumétrico de 10 ml, enjuagando el balón varias veces con H₂O destilada, hasta aforar. Se pone en el vórtex para mezclar bien.
- * Se calibra el espectrofotómetro a 340 nm, donde se realizan las lecturas (ABS) de las alícuotas.
- * Se adicionan aproximadamente 2 mL de la dilución en las celdas de lectura, para el espectrofotómetro.

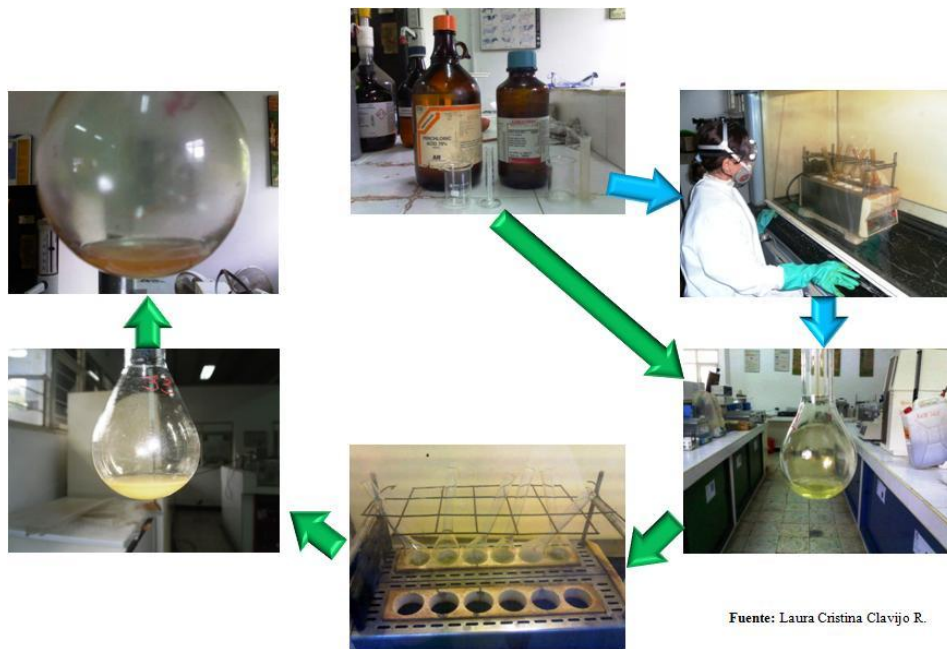


Figura 14. Primera parte del proceso de análisis de cromo Cr_2O_3 .

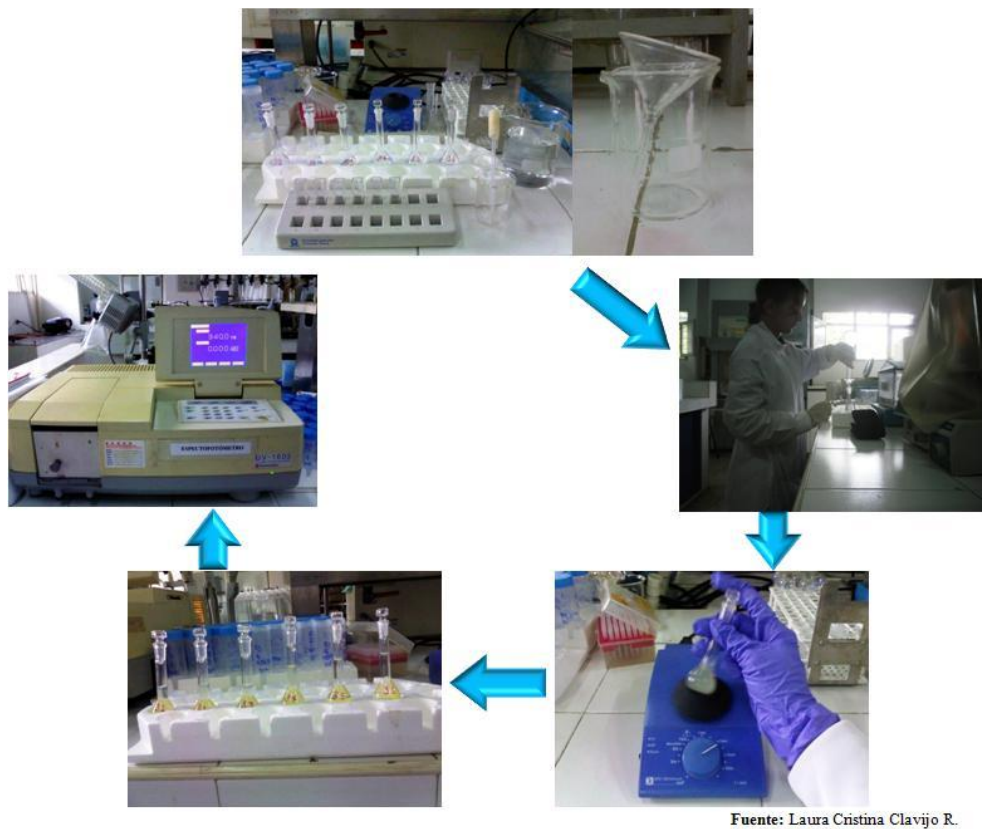


Figura 15. Segunda parte del proceso de análisis de cromo Cr_2O_3 .

Teniendo la lectura de las alícuotas, se introducen estos datos en la fórmula de regresión que se obtuvo con la Curva de calibración, para determinar las concentraciones de Cr_2O_3 tanto en tratamientos como en heces. Los resultados obtenidos se pueden apreciar en las tablas 10 y 11:

Tabla 10. Concentración real de Cr_2O_3 en los tratamientos.

Tratamientos	Media % $\text{Cr}_2\text{O}_3/\text{kg}$ dieta
Tto 1	0,1609
Tto 2	0,1763
Tto 3	0,1616
Tto 4	0,1624

Fuente: Laboratorio de Nutrición Animal, Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, 2011.

Tabla 11. Concentración real de Cr_2O_3 en las heces.

Heces	Media % $\text{Cr}_2\text{O}_3/\text{kg}$ heces
T1R1	0,1971
T1R2	0,1826
T2R1	0,2229
T2R2	0,2400
T3R1	0,2298
T3R2	0,2002
T4R1	0,2526
T4R2	0,2311

Fuente: Laboratorio de Nutrición Animal, Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, 2011.