



UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE TEMUCO

**TESIS DE GRADO**

**EVALUACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD DE DIETAS EN TRUCHA ARCO  
IRIS (*Oncorhynchus mykiss*): SUSTITUCIÓN PARCIAL DE HARINA  
DE PESCADO POR TRES NIVELES DE HARINA DE LUPINO BLANCO  
(*Lupinus albus*).**

Tesis de grado presentada como requisito  
Para optar al Grado de Licenciado en  
Ciencias de la Acuicultura.

**Carlos Alberto Hettich Medina**

**Prof. Guía: Sr. Aliro Bórquez Ramírez**

<b>INDICE</b>	<b>Página</b>
Resumen.....	3
Abstract.....	4
1. Introducción.....	5
2. Antecedentes Bibliográficos.....	10
2.1. La alimentación de los peces.....	10
2.2. Proteínas y Aminoácidos.....	12
2.3. Producción y Alimentación en Acuicultura.....	14
2.4. El Lupino ( <i>Lupinus sp.</i> ).....	19
2.5. Composición del Grano.....	22
2.6. Extrusión de Alimentos.....	25
2.7. Estudios Nutricionales.....	27
2.7.1. Resultados Productivos.....	27
2.7.2. Estudios de Digestibilidad.....	30
3. Objetivos.....	33
3.1. Objetivo General.....	33
3.2. Objetivo Específico.....	33
4. Hipótesis de Trabajo.....	33
5. Material y Métodos.....	34
5.1 Dietas.....	34
5.2 Condiciones Experimentales.....	37
5.3 Alimentación y Recolección de Heces.....	39
5.4 Evaluación de Digestibilidad Aparente.....	40
5.5 Métodos Analíticos.....	41
5.6 Tratamiento Estadístico de los Datos.....	44
6. Resultados.....	45
7. Discusión.....	49
8. Conclusiones.....	52
9. Referencias Bibliográficas.....	53
10. Anexos.....	58



## Resumen

La demanda por productos del mar ha aumentado rápidamente en los últimos años, mientras que las pesquerías de los mismos se encuentran estáticas o en declive, por lo tanto, el incremento en la demanda solo puede satisfacerse a través de la Acuicultura. La estrategia de alimentación generalizada es el uso de alimentos completos basados en harina de pescado; producto del cual Chile es uno de los mayores productores y exportadores a nivel mundial. Los fabricantes de alimentos balanceados han reaccionado en post de reducir la dependencia de la harina de pescado buscando nuevas fuentes proteicas tanto de origen vegetal como animal. En este trabajo se realizaron ensayos que se enmarcan en la búsqueda de nuevas fuentes proteicas alternativas para la harina de pescado posible de ser incluidas en dietas para peces. En el presente estudio se evaluó la digestibilidad en dietas para trucha con tres niveles de inclusión de harina de lupino blanco (*Lupinus albus*) variedad Hamburgo, 10% (L-10), 15% (L-15) y 20% (L-20), más una dieta Control 0% de lupino, la formulación se realizó en software FORMAT, la digestibilidad aparente (CDA) se midió de acuerdo a la metodología de Guelp, con oxido de cromo como marcador inerte ( $Cr_2O_3$ ). Se utilizaron doce estanques, de  $0.49\text{ m}^3$  cada uno. En cada estanque se colocaron 65 peces, con un peso y talla promedio de  $30.08\pm 9.95\text{ g}$  y  $11.08\pm 1.19\text{ cm}$  respectivamente. Cada tratamiento fue evaluado en triplicado. La alimentación fue *ad libitum* y las heces fueron recolectadas una vez por día hasta completar la cantidad necesaria para el análisis. Tanto en las dietas como para las heces se determinó la composición proximal y el nivel de oxido de cromo. Cuando se compararon los resultados a través de ANOVA ( $p<0.05$ ) y el test de comparación medias de de Tukey, no se encontraron diferencias significativas entre los coeficientes de digestibilidad de las dietas con lupino y la dieta control lo cual indica la potencialidad del lupino para ser incluido en dietas para peces.

Palabras claves: nutrición de peces, alimentación, harina de lupino, coeficiente de digestibilidad.



## Abstract

The demand for products of the sea has increased quickly in the last years, while the fisheries of the same ones are static or in decline, therefore, the increment in the alone demand can be satisfied through the Aquaculture. The strategy of widespread feeding is the use of complete foods based on fish meal; product of which Chile is one of the biggest producers and exporters at world level. The makers of balanced foods have reacted in post of reducing the dependence of the fish flour looking for new sources so much proteins of vegetable origin as animal. In this work they were carried out rehearsals that are framed in the search of new sources alternative proteins for the fish meal possible of being included in diets for fish. Presently study you evaluates the digestibility in diets for trout with three levels of inclusion of flour of white lupin (*Lupinus albus*) variety Hamburgo, 10% (L-10), 15% (L-15) and 20% (L-20), more a diet Control 0% lupin, the formulation was carried out in software FORMAT, the apparent digestibility (CDA) it was measured according to the methodology of Güelp, with oxidize of chromium as inert marker ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ). twelve ponds, of  $0.49 \text{ m}^3$  were used each one. In each pond 65 fish were placed, with a weight and size average of  $30.08 \pm 9.95 \text{ g}$  and  $11.08 \pm 1.19 \text{ cm}$  respectively. Each treatment was evaluated in having triplicate. The feeding was *ad libitum* and the grounds were gathered once per day until completing the necessary quantity for the analysis. As much in the diets as for the grounds it was determined the composition proximal and the level of I oxidize of chromium. When it was compared the results through ANOVA ( $p < 0.05$ ) and the test of stocking of comparison of Tukey didn't meet significant differences among the coefficients of digestibility of the diets with lupin and the diet control that which indicates the potentiality of the lupin to be included in diets for fish.

Key words: nutrition of fish, feeding, lupin meal, digestibility coefficient.



## 1. Introducción

Profundamente ligada a la salmonicultura ha sido la evolución de la industria del alimento para peces, la que se ha ajustado a sus grandes modificaciones y requerimientos respondiendo a las mayores exigencias de los mercados, a la drástica baja de los precios experimentados por el salmón en el mundo y a los fuertes aumentos de los volúmenes que ha demandado la industria. El ajuste de precios y este aumento de demanda han llevado a una adaptación de la industria, de este modo, fusiones y compras por parte de empresas extranjeras caracterizaron la década de los noventa. La tecnología de producción no ha estado exenta de estos cambios, vemos aquí una gran evolución, desde la utilización de alimento húmedo en los inicios de la actividad, pasando por alimento peletizado hasta encontrarnos hoy en día con una producción mayoritaria de alimento extruído.

Aún cuando el crecimiento de la industria de alimentos se encuentra en uno de sus mejores momentos, el fantasma del abastecimiento de materias primas se está dejando sentir. Concientes de esta situación los fabricantes han desarrollado estrategias para optimizar el uso de los recursos y buscar otras alternativas más estables en el tiempo (Aquanoticias, 2001).



La sustitución de materias primas es una tendencia de larga data en países como Noruega, Escocia y Canadá. Para ellos el valor del insumo principal, la harina de pescado, no resulta atractivo, ya que además de las fluctuaciones en los precios, deben pagar los costos ligados a la importación. De esta forma, el uso de fuentes alternativas de proteínas dejó hace tiempo de ser un tema de discusión y la mayor parte de las investigaciones que hoy se realizan en estos países apunta a la búsqueda de composiciones adecuadas que disminuyan la inclusión de harinas de pescado en la dieta. Es así como se pueden encontrar dietas que contienen hasta treinta insumos distintos, los que mezclados en diferentes proporciones aseguran un buen porcentaje de proteína, un adecuado perfil de aminoácidos, buena digestibilidad, sabor y una cantidad de grasas ideal para que el pez crezca en buen estado.

En este contexto alimentar peces supone suministrarles todos los nutrientes que precisen en cada momento y en la cantidad que sea necesaria. Nutriente es toda sustancia que sirve como fuente de energía metabolizable, es un material necesario para el crecimiento, la reparación de los tejidos y para el mantenimiento general de las funciones corporales.

En la alimentación de los peces se han de considerar dos aspectos distintos; Primero: Los requerimientos nutricionales y energéticos específicos, es decir, las cantidades de aquellos materiales que precisa para el mantenimiento y la producción y Segundo: Las características generales de la alimentación de los peces, puesto que la dieta natural de



peces carnívoros y herbívoros es muy diferente pero en condiciones de cultivo ambas clases de peces pueden utilizar los mismos ingredientes en las dietas artificiales bien formuladas y que les permite crecer correctamente.

Uno de los puntos claves en la acuicultura es determinar cual es la mínima cantidad de comida requerida, y al precio más bajo para producir la mayor cantidad de peces con tamaño comercial y en el menor tiempo posible. Para conseguirlo se deben realizar estudios detallados de los procesos fisiológicos de los organismos vivos para transformar el alimento, proporcionando con ello, los materiales y la energía necesarios para mantener la actividad, crecer y reproducirse.

En nuestro país la acuicultura comercial se ha desarrollado particularmente bajo un sistema intensivo y en el caso específico del cultivo de peces la estrategia de alimentación generalizada es el uso de alimentos completos basados en la harina de pescado.

Si se separan los ingredientes de una dieta extruída estándar, se tiene que los principales son aquellos que suministran proteína, como la harina de pescado, cuyo porcentaje de inclusión varia entre el 40% y 45%, dependiendo de la empresa; le siguen los lípidos con un 20% y 33%, los hidratos de carbono (harinas de trigo y otros cereales que se utilizan sobre todo como aglutinantes), entre 10% y 15% y finalmente los micro ingredientes (pigmentos, vitaminas, minerales, inmuno estimulantes y aditivos en general) cuya inclusión bordea el 5%. En Chile, la harina de pescado ocupa el lugar numero uno



como fuente proteica para los peces de cultivo, no obstante, puede ser sustituida en parte por proteínas de origen animal o vegetal. (Aquanoticias, 1998).

La harina de pescado, es una materia prima de origen animal de elevada concentración proteica y de excelente equilibrio en la composición de aminoácidos, con un valor nutritivo relativamente superior a las otras harinas, tanto de origen animal como vegetal. Además, el contenido vitamínico del grupo B, las elevadas concentraciones de ácido fosfórico e incluso la posible existencia de un “factor de crecimiento no identificado” hace de la harina de pescado un importante ingrediente de la alimentación animal (Robaina, 1997).

Nuestro país es uno de los grandes productores de harina y aceite de pescado de la región, lo cual, se traduce en una ventaja para al industria acuícola, puesto que durante mucho tiempo no tuvo la necesidad de incorporar otros insumos en las formulaciones de alimentos. Las dietas contenían a los más, diez ingredientes, lo que representa apenas un tercio de sus similares europeas. Sin embargo, esto no significa que las dietas nacionales hayan sido de menor calidad. De hecho, ambos ingredientes, poseen por si solos, las cualidades que mejor se adaptan a los requerimientos nutricionales de los peces y son los más parecidos a la dieta natural de los salmónidos (Halver, 1988).



Como se mencionó anteriormente, para la producción de alimentos de peces, la industria utiliza fuentes proteicas del medio marino, como es el caso de la harina de pescado. La obtención de esas fuentes proteicas proviene principalmente de individuos que componen el segundo y tercer orden dentro de la escala trófica, donde existe una mayor disponibilidad de recursos, como por ejemplo, el jurel.

Frente a este escenario, que no solo se plantea en Chile, sino a nivel mundial; tanto el mundo científico como empresarial están centrando sus fuerzas para buscar soluciones alternativas. Dentro de las opciones están el uso de proteínas de origen animal y vegetal. Para las harinas de origen animal existe cierta reticencia, en especial con las harinas provenientes de vacunos, debido principalmente a la posibilidad de traspaso de enfermedades al hombre, como por ejemplo, el síndrome de “Kreutzber Jacobs” o Encefalopatía Espongiforme Bovina (mal de las vacas locas).

La búsqueda de nuevas materias primas es un desafío que apunta a minimizar el impacto que generan las fluctuaciones en la disponibilidad de recursos marinos. Se espera que a futuro sea cada vez más común que las dietas contengan proteínas y aceites provenientes de vegetales.



Si Chile quiere mantener su expectante segundo lugar a nivel mundial como productor de salmón y trucha de cultivo, debe seguir el ejemplo de investigación de sus competidores directos, como Noruega y Escocia, los que desde larga data trabajan en la sustitución de materias primas proteicas y lipídicas que permitan disminuir las tasas de conversión a menos de uno y promuevan un mayor crecimiento de los peces.

Los bioensayos presentados en este estudio, se enmarcan en la búsqueda de fuentes proteicas alternativas a la harina de pescado, posibles de ser incluidas en alimentos para peces. Se evaluó la digestibilidad de dietas donde se incorporó Lupino Blanco (*Lupinus albus*), leguminosa de importante concentración proteica e inmejorables posibilidades de desarrollo de su cultivo en Chile.

## **2. Antecedentes Bibliográficos**

### **2.1. La alimentación de peces**

La importancia de la alimentación de peces proviene de la necesidad de aprovechar de una forma óptima por parte del hombre los recursos piscícolas y desde un punto de vista ecológico nos interesa como mecanismo indicador de las interacciones de las comunidades ictiológicas en el medio acuático.



Las especies piscícolas están adaptadas a todos los recursos alimenticios presentes en el medio que habitan. Los salmónidos son peces carnívoros poco especializados que en un medio natural se alimentan de una gran variedad de invertebrados acuáticos. Son especies oportunistas, no sólo por la variedad de su dieta, sino por la facilidad de adaptación a los cambios ambientales y a la disponibilidad de alimento (García de Jalón, et al., 1993).

La investigación en el campo de la nutrición de peces se ha desarrollado muchísimo en las últimas décadas, y sé esta perfeccionando constantemente. A pesar de ello, aún supone el capítulo de mayores costos en todo el proceso de cultivo de peces, y en algunos casos es el actual cuello de botella de la acuicultura, considerando que, el rendimiento final del cultivo (o sea, Kg. de peces producidos por Kg. de alimento entregado) depende, de la cantidad y calidad del alimento, además, las condiciones de cultivo afectan a la fisiología y nutrición de los animales en desarrollo y a la vez, las propiedades del alimento afectan a cambios de las condiciones del medio (por acumulación de detritus, productos de excreción etc.). Por todo ello, mediante la nutrición se puede influir en el comportamiento, en la integridad estructural, en el estado sanitario general, en varias funciones fisiológicas en el crecimiento y la reproducción (Fernández J, 1995).

Love (1980), (citado en López J, 1997), indica las dietas de unas 600 especies de peces y concluye que un 85% de ellas son carnívoras, un 6% herbívoras, un 4% omnívoras, un 3% detritívoras y un 2% parásitas.



Los requerimientos nutricionales de los peces para crecimiento, reproducción, renovación de tejidos, hormonas, enzimas y otras funciones fisiológicas son similares al de los animales terrestres, debido a que necesitan proteína, minerales, vitaminas, factores de crecimiento y fuentes energéticas.

Existen notables diferencias nutricionales entre peces y animales de granja, que pueden resumirse de la siguiente manera, el fraccionamiento de la energía química del alimento es más eficiente en animales poiquilotermos que en animales homeotermos, lo que se traduce en dietas con mayores porcentajes de proteína y energía para explotaciones acuícolas (López J, op. cit., 1997).

## **2.2. Proteínas y Aminoácidos**

Las proteínas constituyen el mayor componente de los tejidos orgánicos, llegando a representar hasta el 75% con base en materia seca. Por tanto los animales deben consumir proteína, con el fin de llenar los requerimientos de aminoácidos. Una vez que la proteína es ingerida, esta debe ser digerida o hidrolizada, hasta liberar los aminoácidos, los cuales, son absorbidos a nivel de la porción anterior del intestino delgado y distribuidos por la sangre a los diferentes órganos y tejidos, donde son posteriormente utilizados para sintetizar nuevas proteínas (Wedemeyer, 2001).



Según Harris (1980), (citado en López J, op. cit. 1997), las dietas para peces, bien sean artificiales o naturales, deben ser ricas en proteínas. La cantidad requerida de este nutriente en dietas artificiales, depende de la composición de los aminoácidos de la dieta. Los peces como otros animales, no presentan necesidades absolutas de proteínas, pero demandan una mezcla bien balanceada de aminoácidos indispensables y dispensables.

De acuerdo con Hardy (1980), existen tres maneras de formular dietas con el fin de corregir cantidades inadecuadas o deficientes de aminoácidos. El método más comúnmente usado, es seleccionar la cantidad apropiada de fuentes proteicas y así reunir la composición recomendada de aminoácidos. Un segundo método, es suplementar la dieta con el aminoácido sintético y el tercero es suministrar cantidades excesivas de proteínas y así compensar la deficiencia. Por tanto un profesional en recursos hidrobiológicos deberá determinar el procedimiento adecuado teniendo en cuenta el óptimo económico.



## 2.3. Producción y Alimentación en Acuicultura

### Situación y Perspectivas

Ha sido relevante el crecimiento que desde sus inicios en los años `70, ha experimentado la salmonicultura mundial. En 1992, la industria cosechó aproximadamente 380 mil toneladas de salmón entero y transcurridos diez años, se cosecharon alrededor de 1.4 millones de toneladas de salmón entero. En la década transcurrida entre 1992 y 2002 el crecimiento promedio anual bordeó el 14%. Sin embargo, entre 2001 y 2002 el crecimiento fue solo de 2%. En Chile, para el año 2003, las exportaciones de salmónidos alcanzaron las 285.847 T.M (Aquanoticias 2004).

La demanda de alimento puede llegar a 1.560 T.M. anuales, de acuerdo a una tasa de conversión promedio que varía entre 1,2 y 1,35, y considerando que una producción media por cada centro de cultivo en Chile es de 1200 T.M/ año (Aquanoticias, 2002).

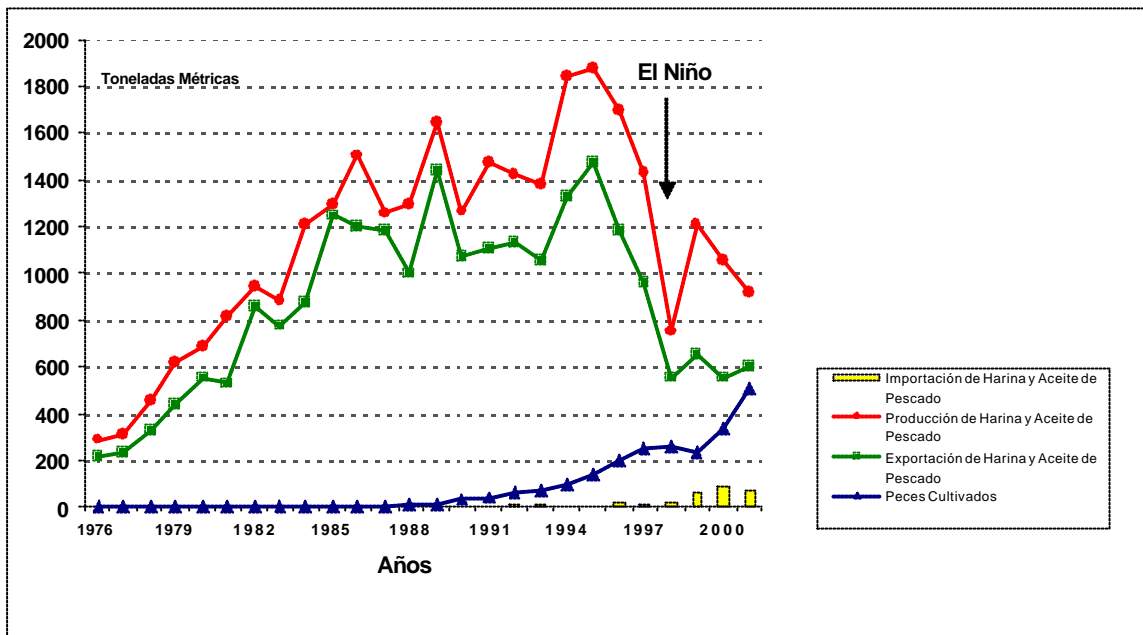
Actualmente, cerca del 70% o más de la producción de alimento seco es de la variedad extruído, porcentaje que se estima seguirá aumentando dada las ventajas que presenta, tales como, su adecuada porosidad que permite absorber una mayor cantidad de aceite, proporcionando mayor energía disponible para el accionar de los organismos en cultivo y permitiendo que las fuentes proteicas sean utilizadas exclusivamente para crecimiento (Bórquez, 2002).



El alimento para peces es normalmente producido como una mezcla de harina de pescado. En cuanto a los insumos vegetales, los porcentajes aproximados de incorporación, en la industria, pueden ir de 5% a 10% para el gluten de maiz, 12% a 16% para el trigo y 5% a 10% para la harina de soya. El remanente de alimento seco es harina de pescado y variados concentrados que permiten una composición complementaria de aminoácidos, vitaminas, minerales y pigmento. El aceite de pescado es entonces agregado a la mezcla alimenticia en un porcentaje que va entre el 20% y 30%. Esta fórmula puede llegar a contener entonces aproximadamente un 25% de sus proteínas de origen vegetal (Silva, 2001). La harina de pescado utilizada es producida íntegramente en el país y la mayoría de los fabricantes utilizan harina tipo Prime, de bajo score bio-toxicológico y fabricada con pescado fresco (Bórquez et al. 1996).

Diversos factores han determinado el escenario general de la producción de alimento para peces. En 1998, el fenómeno de “El Niño” provocó una drástica disminución de los recursos pelágicos destinados a la extracción y a la industria reductora, esta actual situación de disponibilidad de materias primas, en Chile, está generando preocupación en la industria (Aquanoticias, 2001). Según Tacon (2003), esta disminución de la producción de harina y aceite de pescado, ha derivado en que la industria haya tenido que comenzar a importar dichos insumos, con objeto de satisfacer la demanda de alimentos de cultivo (figura 1).





Fuente: Albert Tacon, Simposio Aquacuba 2003.

Figura 1. Producción Total, Importaciones y Exportaciones de Harina de Pescado y Aceite de pescado en Chile, incluida la producción de peces de cultivo.

La harina de pescado era un subproducto de la producción de aceite de pescado y una forma de aprovechar los excedentes y el pescado pequeño, que no podía venderse para consumo humano. A medida que empezó a reconocerse el valor nutricional, se fueron creando industrias pesqueras cuyo objetivo principal era la producción de harina de pescado. La industria de harina de pescado exige una mano de obra sumamente especializada e instalaciones costosas. Se suministra como parte de las raciones de alimento a rumiantes, cerdos, aves de corral y en la acuicultura, además en la elaboración de pellet para alimentación de animales domésticos. La harina de pescado se ha transformado en el ingrediente corriente para compensar la deficiencia de aminoácidos esenciales, necesarios



para una eficiente producción animal. En la actualidad cerca de un tercio de la captura mundial de pescado se dedica a los distintos usos del consumo humano, principalmente para la nutrición animal, en harina y aceite de pescado (FAO, 2003).

En Chile, la harina de pescado ocupa el lugar número uno como fuente proteica para peces en cultivo, no obstante, puede ser sustituida por proteínas de origen animal o vegetal. Entre las alternativas, los más utilizados son los subproductos de la soya (harina o afrecho). Especie vegetal parecida al poroto, alcanza digestibilidades cercanas al 90%, cuando está procesada adecuadamente. Si bien, los niveles de proteína no son altos, pues se mueven en rangos inferiores al 50%, su precio es muy competitivo.

La producción de soya se concentra mayoritariamente en el continente americano, donde se siembran 50 millones de hectáreas de las más de 76 millones existentes a nivel mundial. Estados Unidos concentra un 40% de la superficie mundial (47% de la producción) y los países sudamericanos alcanzan un 31% de la superficie y un 34% de la producción, siendo Argentina el principal entre ellos y, en segundo término, Brasil. Las exportaciones mundiales de grano de soya son dominadas en un 54% por Estados Unidos, siguiéndole Argentina, con un 38%.

En Chile se importa mayoritariamente el afrecho o torta de soya siendo el líder en Sudamérica de este subproducto Argentina con un 58% de exportación. Actualmente la industria avícola y porcina son fuertes demandantes y sobre un 50% de su consumo



(sumado al de la industria acuícola) es abastecido por soya importada, lo que ha generado un debate sobre los riesgos políticos y económicos que representa dicha dependencia.

En suma, la existencia de una clara concentración de la oferta de soya en básicamente 3 países (Estados Unidos, Argentina y Brasil), unida a una fuerte y creciente demanda internacional, mucho menos concentrada que la oferta, genera un panorama de alta probabilidad de aumento en los precios internacionales de estos productos y/o el surgimiento de fuentes alternativas que apunten a prevenir dicha situación (D.I.G, 2001).

Una segunda opción es el gluten de maíz, importado desde Estados Unidos, este producto contiene más cantidad de proteína que la soya (alrededor de 60%), y una digestibilidad igualmente alta. No contiene factores antinutricionales, salvo quizás, la presencia de fibra que el salmón no es capaz de digerir.

Tanto la soya como el Gluten se utilizan en las dietas para salmónidos en porcentajes que van desde el 10% al 20% para el primero y del orden del 5% para el segundo (Aquanoticias, 1998).

En Chile existe el Lupino, una leguminosa parecida a la soya que también contiene propiedades nutricionales muy buenas, pero no se produce a nivel industrial, pues su precio no es competitivo en relación a la soya.



## 2.4. El Lupino (*Lupinus sp.*)

El lupino, conocido también como altramuç, tremoco o termis, es una leguminosa que ha constituido la base proteica principal en la alimentación de la población sudamericana desde tiempos antiguos, alcanzando importancia desde la época incaica. Las culturas americanas tenían en el lupino una de las principales fuentes de proteínas, sin embargo con la conquista española se introdujo un cambio radical en los hábitos alimenticios autóctonos, siendo el lupino desplazado y olvidado en el tiempo

El uso de lupino por el hombre, también es conocido en las regiones Europeas cercanas al Mediterráneo y Egipto. En sus formas amargas, esta leguminosa estuvo dirigida por bastante tiempo a su empleo como abono verde, forraje y en forma más limitada como alimento humano previo proceso de lixiviación de los alcaloides (Bórquez, 2002).

Desde el punto de vista taxonómico, la clasificación del Lupino es la siguiente:

Reino: Vegetal

Clase: Magnoliopsida (Dicotiledoneae)

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae (Leguminoseae)

Género: *Lupinus*

Al género *Lupinus* pertenecen cientos de especies; las más conocidas son: *Lupinus albus*, *Lupinus luteus*, *Lupinus angustifolius*.



Von Sengbush en 1928, obtuvo las primeras variedades dulces con bajo contenido de alcaloides. En 1949, estas especies fueron introducidas al país y cultivadas en la IX región. Chile, con su invierno húmedo y verano seco, presenta grandes ventajas comparativas para este cultivo, principalmente en sus tierras de secano comprendidas entre la VIII, IX y X regiones. Desde el punto de vista agronómico, se ha considerado al lupino, no competitivo con otra leguminosa en el sur de Chile. Esta leguminosa puede emplearse sin problemas en la rotación cultural donde debe ir después de dos años de cereales, no es exigente para su cultivo y se adapta muy bien a los climas fríos del sur del país (De Witt A., 1991).

El contenido de proteína del Lupino y la composición de aminoácidos de ésta son perfectamente comparables a los del afrecho de soja, salvo por su menor contenido de lisina y metionina, aspecto que se compensa por una mejor composición de ácidos grasos en los aceites y por la inexistencia de elementos inhibidores del crecimiento.

Su empleo en dietas de cerdos, pollos broilers y otros monogástricos ha dado buenos resultados, en términos técnicos y económicos, lo que también ocurre en rumiantes; en éstos, sólo las vacas lecheras de alta producción justifican su empleo, pero la cáscara es un buen suplemento para novillos y otros animales.



La utilización generalizada en Australia del grano entero en vacunos, ovinos y cerdos, entre otros, así como los resultados en broilers con lupino descascarado, permiten asumir que la proteína de lupino debiera cotizarse a valores equivalentes a los de la proteína de soya, supuesto básico para el potencial de sustitución de la soya por lupino.

Por otro lado, más allá de las industrias que hoy consumen la mayor parte del lupino en Chile, existe un gran potencial en la industria salmonera, la cual demandó el año 2000 casi 600 mil toneladas de alimento, si se considera que un 10% del cual podría corresponder a lupino, ello implicaría sembrar aproximadamente 30 mil hectáreas de lupino. Actualmente existen sembradas 19.160 has. de lupino, con un rendimiento de 27.7 quintales métricos por hectárea, lo cual representa un total de 43.520 toneladas de lupino para la cosecha 2004 (ODEPA, 2003).

Este potencial se origina en las proyecciones de mayor escasez de la proteína animal en el mercado mundial (harina de pescado, entre ellas), que hace ya tiempo ha desplazado parte creciente de la demanda hacia fuentes vegetales de proteína, donde el afrecho de soya es el principal componente, además de otros eventuales como la harina de maní. Pero las perspectivas de alza de precio de la soya hacia el futuro, además de las resistencias que están generándose en el mercado internacional por contemplar líneas transgénicas, hacen necesario también caminar hacia su reemplazo. De hecho, existe una opinión unánime de la necesidad de sustituir la proteína animal en la industria de alimentos para peces, así como



de ir caminando hacia la sustitución de la soya y sus derivados, siendo en general el lupino una de las opciones que ven como primera opción.

Aún cuando la industria elaboradora de alimentos para peces no lo reconoce, actualmente un porcentaje importante de la producción de lupino es consumido por la industria salmonera.

En suma, pareciera que las condiciones están dadas para poder concretar el fuerte desarrollo del sector lupino en torno a la industria acuícola, pues aparentemente sería viable en términos técnicos y económicos. Claro que existe una limitante práctica que tiene que ver con la falta de semilla suficiente para lograr un crecimiento más rápido, dado que existe un solo proveedor de lupino en Chile (Semillas Baer) y éste no cuenta con el material fácilmente expandible, dado que sólo se emplearía línea de alto contenido proteico (D.I.G, 2001).

## 2.5. Composición del Grano

Como se mencionó anteriormente, la semilla de lupino es principalmente una fuente de proteínas y lípidos. Existen distintas variedades de lupino con niveles de proteína cruda variable (ver tabla 1), *Lupinus albus*, 33% a 38%; *Lupinus angustifolius*, 27% a 34%; *Lupinus luteus*, 39% a 41% y *Lupinus mutabilis*, 40% a 46%. El grano de lupino blanco no exhibe una gran variación proteica, manteniéndose en un 37% de proteína cruda y 3.3



Mcal/kg de energía metabolizable. La composición de aminoácidos esenciales es similar al de otras leguminosas en las cuales existe una deficiencia relativa en los aminoácidos azufrados. La deficiencia en metionina es aún más severa en el lupino si se le compara con otras leguminosas como la soya (Bórquez, 2002).

**Tabla 1. Composición Proximal de distintos ingredientes de origen vegetal (% en base seca)**

	Materia Seca	Proteína Cruda	Lípidos	Cenizas	Carbohidratos	Energía (MJ/kg MS)
<i>Lupinus angustifolius</i>	89,2	36,5	4,8	3,2	55,4	20,1
<i>Lupinus luteus</i>	93,7	49,6	5,5	3,8	41,0	21,0
<i>Lupinus albus</i>	92,2	45,5	13,7	3,6	40,5	23,1
Harina de Soya	89,0	50,3	1,2	8,8	39,7	19,2
Harina de Canola	88,9	43,2	3,0	7,4	46,4	19,7

Fuente: Glencross Brett, 2003.

La composición del aceite de lupino, es similar al de otras semillas vegetales (Tabla 2), y consta fundamentalmente por cadenas insaturadas de ácidos grasos, siendo los principales el ácido oleico y el ácido linolénico (López et al. 1997).



Tabla 2. Composición ácidos grasos de distintos ingredientes de origen vegetal.

Ácido Graso	Lupino Semilla <i>Lupinus albus</i> var. Multolupa	Colza o Raps Semilla <i>Brassica</i>	Linaza Semilla <i>Linum</i>	Quinoa Semilla <i>Quenopodium</i>	Germen de Trigo <i>Triticum</i>	Soya Semilla <i>Glycine hispida</i>	Girasol Semilla <i>Heliantus</i> <i>annuus</i>	Maní Semilla <i>Arachis</i> <i>hipogea</i>	Germen de Maíz <i>Zea mais</i>
		<i>sp</i>	<i>usitatissimum</i>	<i>quinoa</i>	<i>aestivum L.</i>				
C14:0 Ac. Mirístico	0,2	0,1	...	2,4	...	trazas	...	...	trazas
C16:0 Ac. Palmítico	8,0	2,8	9,8	11,1	16,0	10,7	6,8	12,0	10,7
C18:0 Ac. Estearico	1,7	1,1	8,7	1,1	0,9	3,6	4,2	4,5	2,8
C20:0 Ac. Eicosanoico	trazas	1,2	...	...	...	0,3	trazas	2,8	...
C22:0 Ac. Docosanoico	2,7	...	...	0,3	...	0,1	...	3,2	0,1
<b>Total Saturados</b>	<b>12,6</b>	<b>5,2</b>	<b>18,5</b>	<b>14,9</b>	<b>16,9</b>	<b>14,7</b>	<b>11,0</b>	<b>22,5</b>	<b>24,5</b>
C14:1 Ac. Miristoleico	...	...	...	1,0	...	...	...	...	...
C16:1 Ac. Palmitoleico	0,9	0,2	4,5	1,2	...	0,2	...	trazas	trazas
C18:1 Ac. Oleico	50,4	10,9	55,8	22,8	23,2	22,0	19,7	41,0	26,1
C20:1 Ac. Eicosaenoico	4,5	9,5	...	...	1,3	0,1	...	1,4	...
C22:1 Ac. Erúcido	1,3	51,6	...	...	...	...	...	...	...
<b>Total Monoinsaturados</b>	<b>57,1</b>	<b>72,2</b>	<b>60,3</b>	<b>25,0</b>	<b>24,5</b>	<b>22,3</b>	<b>19,7</b>	<b>42,4</b>	<b>26,1</b>
C18:2 n-6 Ac. Linoleico	21,2	11,6	18,2	50,5	53,0	56,0	69,3	35,0	57,7
C18:2 n-3 Ac. Linolénico	9,1	9,9	0,5	7,8	5,6	7,0	...	...	2,2
<b>Total Poliinsaturados</b>	<b>30,3</b>	<b>21,5</b>	<b>18,7</b>	<b>58,3</b>	<b>58,6</b>	<b>63,0</b>	<b>69,3</b>	<b>35,0</b>	<b>59,9</b>
Relación Saturados : Monoinsaturados : Poliinsaturados	1:4,5:2,4	1:13,9:4,1	1:2,7:0,9	1:1,5:3,9	1:1,4:3,5	1:1,5:4,3	1:1,8:6,3	1:1,9:1,6	1:1,9:4,4
<b>Índice de Poliinsaturación</b>	<b>2,4</b>	<b>4,1</b>	<b>0,9</b>	<b>3,9</b>	<b>3,5</b>	<b>4,3</b>	<b>6,3</b>	<b>1,6</b>	<b>4,4</b>

Fuente: Modificado de "Materias Grasas de Consumo Habitual y Potencial en Chile", Prof. Lilia Masson Salaúé, 1985.

En cuanto al contenido de vitaminas, las variedades de lupino dulce contienen un alto porcentaje de carotenos (pro vitamina A), que otorgan un característico color amarillo a la harina, también contiene vitaminas B1 y B2 y además aporta fósforo y calcio (De Witt, 1991).

El contenido de alcaloides, entre los cuales han sido identificados, en la semilla de lupino nacional, la lupanina, anaginia, citosina y esparteina, depende fundamentalmente de la variedad y del medio ambiente donde se ha desarrollado la planta.



Otras sustancias tóxicas que se encuentran en las leguminosas son los inhibidores de tripsina, hemaglutininas y glucósidos cianogénicos. Diversos estudios realizados con *Lupinus albus* y *Lupinus mutabilis* muestran que prácticamente no existen los inhibidores de tripsina o existen niveles mucho menores que en otras leguminosas, las semillas de lupino muestran niveles casi treinta veces menores que los encontrados en el poroto de soya (Tabla 3) (De Witt, 1991) (op cit).

**Tabla 3. Factores antinutricionales en algunos ingredientes de origen vegetal**

	Lupino ( <i>L.angustifolius</i> )	Soya	Canola	Arveja
Alcaloides (mg/kg MS)	200	10	n.d	n.d
Oligosacáridos (g/kg MS)	50	60	30	35
Fitasas (g/kg MS)	5	15	40	5
Inhibidores Proteásicos (g/kg MS)	0,2	3,1	n.d	2,9
Taninos Totales (g/kg MS)	n.d	n.d	1,8	3,7

Fuente: Glencross Brett, 2003

n.d : no determinado

## 2.6. Extrusión de Alimentos

La extrusión se aplicó por primera vez, hace 50 años en la industria de fideos en un proceso continuo. Posteriormente su uso se fue ampliando a la elaboración de mezclas de cereales expandidos y mezclas de cereales con oleaginosas, a fin de hacer mas palatables y digeribles los alimentos de uso animal.



La cocción - extrusión en la industria de alimentos puede definirse como un proceso en el cual un material alimenticio rico en proteína y/o almidón es forzado a fluir bajo diversas condiciones de humedad, temperatura, presión y fuerza mecánica a través de un molde o matriz que le da forma al producto extruído (De Witt, 1991).

De acuerdo a De Witt (1991), en el proceso de extrusión ocurren una serie de fenómenos casi todos ellos ventajosos, estos son:

- ✍ Gelatinización de los almidones con mayor captación de agua, mejorando la digestibilidad y disponibilidad calórica.
- ✍ Coagulación parcial de las proteínas mejorando su digestibilidad. Estas junto con el almidón, se unen formando una mezcla homogénea y cohesionada.
- ✍ Inactivación por medio de tratamiento térmico, de las enzimas deteriorantes de las materias grasas de las harinas, como las lipasas y lipoxigenasas, las cuales catalizan reacciones químicas que llevan a la formación de compuestos de fácil rancidez.
- ✍ Inactivación de factores inhibidores del crecimiento. La alta temperatura necesaria para eliminar dichos factores, no atenta contra la calidad nutritiva de la mezcla, ya que se aplica por breve tiempo.



La extrusión de lupino no presenta ninguna complicación de tipo técnica, se han desarrollado pruebas con altos porcentajes de inclusión de harina de lupino en alimento para salmónidos, y los resultados han sido satisfactorios tanto en calidad del producto terminado, como en el comportamiento de los equipos utilizados (Carrasco J., 2003, comunicación personal).

## **2.7. Estudios Nutricionales**

### **2.7.1. Resultados Productivos**

Diversos trabajos han demostrado el valor del lupino como ingrediente en dietas para peces (De la Higuera, 1988; Kaushik, 1989; Robaina, 1995; Carter, 1999; Sudaryono, 1999; Fernández, 1999; Burel, 2000; Boujard, 2000; Fontainas- Allan, 2000; Burel, 2000; Carter, 2000; Glencross, 2002; Bórquez, 2002; Glencross, 2003).

La sustitución parcial o incluso el total reemplazo de la harina de pescado por proteínas de origen vegetal tales como soya, harina de gluten de maíz y trigo, lupino, harina de semilla de raps, canola, arvejas, etc, han sido probadas en su mayoría en trucha arco iris (Bangoula et al. 1993; Gouveia et al., 1993; Burel et al., 1998; Riche y Brown, 1999; Bórquez, 2002).



Los máximos valores de incorporación varían entre el 30% y el 70%, dependiendo de la variedad de lupino y el proceso de fabricación involucrado (crudo o extruído). El lupino, para su inclusión en dietas para peces no requiere de tratamientos de calor, esto probablemente a causa que no contiene hemoglutininas o inhibidores de tripsina (Kaushik, 1989).

Deyab, (2002), estudió el total reemplazo de harina de pescado en dietas para Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), suplementando la deficiencia de L-Lisina en la dieta. Los resultados obtenidos para la digestibilidad de las dietas es similar a la dieta control, a su vez, indica que el crecimiento de Tilapia no se ve afectado por la alta inclusión de harinas vegetales, suplementadas con L-lisina y la ausencia de harina de pescado.

En trucha arco iris se ha encontrado que el óptimo de sustitución de la proteína de harina de pescado por harina de lupino es del 30 por ciento, con lo cual no se afecta al crecimiento, aceptación y conversión respecto a aquellos peces alimentados con una dieta basada en harina de pescado como única fuente proteica.

Carter, (2000), en experimentos realizados con Salmón del atlántico encontró que a un nivel de sustitución de la proteína de harina de pescado por un concentrado de proteína de lupino del 33%, afectaba los rendimientos productivos de los peces, no así al sustituir un 25% de la harina de pescado por lupino. El mismo, sugiere que alimentos extruídos para salmones que contienen sobre un 27 % de concentrado de proteína de Arveja (*Pisium*



*sativum*) o un 22% de concentrado de proteína de lupino (*L. angustifolius*), no afectan significativamente el crecimiento.

Burel, (2000), en estudios con Turbot (*Psetta maxima*), y niveles de incorporación sobre un 50% de harina de lupino en la dietas, no encontró efectos adversos en el crecimiento ni malformaciones en los peces. Estos porcentajes de incorporación de lupino permiten reducir cerca de un 25% la incorporación de harina de pescado. Debido también a que el lupino presenta bajos niveles de fósforo, es beneficioso en términos de reducción de contaminación por el mismo, en los efluentes de los centros de cultivo.

Robaina, (1995), en experimentos con *Sparus aurata*, y dietas donde se incluyen harina de soya y harina de lupino en porcentajes que van desde el 10% al 30%, determinó, que no se producen efectos con relación a la aceptación del alimento por parte de los individuos, tanto en las dietas con menor porcentaje de inclusión de harinas vegetales, como en las que contenían mayor cantidad.

Glencross, (2002), en una evaluación de lupino amarillo (*L. luteus*) como alternativa de proteína en dietas para trucha Arco iris (*O. mykiss*), con inclusión de esta harina vegetal, en un porcentaje de 50%, concluye que el crecimiento experimentado por los peces es satisfactorio, afirmando nuevamente la potencialidad que presenta el lupino como reemplazante proteico en dietas para peces.



## 2.7.2. Estudios de Digestibilidad

Vanderberg y De la Noüe, (2001), postulan que se hace necesaria información relativa a disponibilidad de nutrientes específicos para llevar a cabo estudios de requerimiento y evaluación de insumos como posibles candidatos de inclusión en dietas que tengan como característica su bajo costo de fabricación y generen un mínimo impacto al medio ambiente. La necesidad de herramientas confiables para estudiar la utilización de ingredientes lleva al desarrollo de varios métodos para entender el grado en que los nutrientes son absorbidos, incluidas las mediciones de digestibilidad aparente de los nutrientes.

La utilización de componentes indigestibles en la dieta o la adición de marcadores indigestibles externos, eliminan la necesidad de una recolección cuantitativa de heces pero requiere de una cantidad representativa de estas mismas (Vanderberg, 2001).

Existe la opción de determinar digestibilidad sin la necesidad de utilizar marcadores externos, esto se lleva a cabo utilizando las cenizas insolubles en ácido presentes en el alimento. Este método presenta algunas objeciones, según Bowen, 1981, (citado en Vanderberg, 2001), indica que un porcentaje significativo de cenizas es absorbido por el animal, alterando de esta forma los resultados finales de digestibilidad. Por otro lado, la inclusión de elementos insolubles introducidos vía sedimentos del agua utilizada en los



estudios, podría producir también un sesgo en los resultados obtenidos (Bórquez, 2003, comunicación personal)

Un marcador inerte debe cumplir con los requisitos básicos que son: 1) Debe tener la capacidad de ser incluido en un alimento de forma homogénea y debe ser fácil de determinar en laboratorio cuando está presente en bajas concentraciones. 2) Debe ser indigestible y no afectar el metabolismo del animal. 3) Debe ser higiénico y amigable con el medio ambiente (Austreng et. al. 2000).

El marcador inerte más usado en estudios de digestibilidad en peces es el Oxido de Cromo ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ), (De la Higuera, 1988; Kaushik, 1989; Brauge, 1994; Toshio, 1994; Brauge, 1994; Sanz, 1994; Ariel, 1995; Herold, 1995; Robaina, 1995; Perla, 1998; Hillestad, 1999; Carter, 1999; Ronney, 1999; Agung, 1999; Regost, 1999; Fontainas-Fernández, 1999; Allan, 2000; Stone, 2000; Burel, 2000; Vanderberg, 2001; Bórquez, 2002; Glencross, 2003).

El Oxido de Itrio ( $\text{Y}_2\text{O}_3$ ), también es usado en estudios de digestibilidad para peces (Hilestad, 1999; Storebakken, 2000; Refstie, 2000). Su uso es menos masivo debido a que su metodología de determinación es menos conocida en comparación al Oxido de Cromo.



Austreng, (2000), concluye que los valores de digestibilidad obtenidos usando  $Y_2O_3$  (Oxido de Itrio),  $La_2O_3$  (Oxido de Lantano) y  $Yb_2O_3$  (Oxido de Iterbio), como marcadores inertes son similares a los obtenidos con Oxido de Cromo.

De acuerdo a Hillestad, (1999), trabajando con marcadores como  $La_2O_3$ ,  $Y_2O_3$ , y  $Cr_2O_3$ , concluye que no existen diferencias significativas entre las digestibilidades expresadas con cada uno de ellos. Agrega también, que para un estudio de digestibilidad el tamaño de los peces no es un factor importante, encontrando, por tanto, iguales digestibilidades entre peces de una misma especie pero distinto tamaño.

Los estudios de digestibilidad muestran los siguientes resultados.

Burel, 2000, trabajando con Truchas y Turbot registró aceptables niveles de digestibilidad total para dietas donde utilizó lupino en alimento extruído (70% en Trucha, 81% en Turbot, para digestibilidad total y 96% 98% para proteína respectivamente). En Truchas Arco iris, los valores de digestibilidad de proteína de ingredientes vegetales es comparable con los de harina de pescado y es significativamente alta en el caso de lupino extruído.

Fontainas–Fernandez, 1999, en experimentos realizados con Tilapia (*Oreochomis niloticus*), estima que los valores relativamente altos en los coeficientes de digestibilidad aparente de dieta con ingredientes vegetales confirma el efecto del tratamiento de extrusión, eliminando así, factores anti-nutricionales y aumentando la digestibilidad.



### 3. Objetivos

#### 3.1. Objetivo General

- Evaluar la digestibilidad de dietas en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) donde se sustituye parcialmente la harina de pescado

#### 3.2. Objetivos Específico

- Evaluar la digestibilidad de tres dietas con sustitución de 10%, 15% y 20% de harina de lupino.
- Comparar la digestibilidad de una dieta control sin lupino con las tres dietas con sustitución.

### 4. Hipótesis de Trabajo

$H_0$ = Los índices de digestibilidad de las dietas con harina de lupino es igual a los índices de digestibilidad de la dieta control.

$H_A$ = Los índices de digestibilidad de las dietas con harina de lupino es distinta que los índices de digestibilidad de la dieta control.



## 5. Material y Métodos

El presente estudio se desarrolló en conjunto con la empresa productora de alimentos BIOMAR Chile S.A., la cual aportó los insumos y la fabricación de las dietas en su planta industrial ubicada Rancagua VI región, Chile, bajo normas de calidad ISO 9000 (2001).

### 5.1. Dietas

Se sometieron a evaluación cuatro dietas, tres con inclusión de lupino de un 10% (L-10), 15% (L-15) y 20% (L-20), y una dieta control sin incorporación de lupino.

Las formulaciones se hicieron con Software FORMAT, que opera con programación lineal y minimización de costos. Como restricciones nutricionales se considera que las dietas fueran iso-proteicas, iso-calóricas y con un balance aminoacídico según los requerimientos de la trucha arco iris. Como restricciones de proceso se consideró mínimo porcentaje de almidón extruible y mínimo porcentaje de humedad



Para la elaboración de las dietas se utilizaron los siguientes insumos, que de acuerdo a la formulación realizada se obtuvieron las proporciones de cada ingrediente para las cuatro dietas a experimentar (ver tabla 4).

**Tabla 4. Porcentaje de inclusión de los distintos insumos utilizados en las dietas. Formulación realizada por FORMAT.**

<i>Ingredientes</i>	<i>Control</i>	<i>L-10</i>	<i>L-15</i>	<i>L-20</i>
Harina de Pescado	46,7	42,6	40,6	38,0
Aceite de Pescado	14,2	14,2	14,1	13,2
Lupino	0,0	10,0	15,0	20,0
Trigo	22,6	16,2	13,3	12,0
Gluten de Maíz	8,0	8,0	8,0	8,0
Harina de Pluma	7,0	7,0	7,0	7,0
Premix Biomar	0,7	0,7	0,7	0,7
Agua	0,8	1,3	1,3	1,1



De acuerdo a la formulación anterior la composición proximal teórica entregada por FORMAT es la siguiente (ver tabla 5)

**Tabla 5. Porcentaje de Principales componentes de las Dietas, Aminoácidos más importantes y Energía Bruta. Composición proximal teórica entregada por FORMAT**

	<i>Control</i>	<i>L-10</i>	<i>L-15</i>	<i>L-20</i>
% Proteína Bruta	45,00	45,00	45,00	45,00
% Mat. Grasa	20,00	20,00	20,00	20,00
% Humedad	9,10	9,10	8,90	7,00
% Lisina	2,72	2,64	2,60	2,55
% Metionina	1,04	0,99	0,96	0,92
% Met + Cistina	1,79	1,73	1,69	1,67
Energía Bruta (Kj/Kg)	21,70	21,70	21,70	22,00

Para efectos de medir la digestibilidad de los alimentos, se adicionó un 1% Oxido de Cromo III ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ). La incorporación del  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  se hizo en conjunto con la adición de lípidos en el alimento ya extruido aplicando una presión de 25 bar.



## 5.2 Condiciones experimentales

La experimentación se desarrolló en las instalaciones del Hatchery de la Escuela de Acuicultura de la Universidad Católica de Temuco, ubicado en el Campus Norte de esta casa de estudios.

Se utilizaron ejemplares de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de un peso promedio inicial de  $30.0 \pm 9.95$  g y con una longitud o largo estándar de  $11.8 \pm 1.19$  cm.

En el bioensayo se utilizaron doce estanques de digestibilidad tronco-cónicos (Figura 2) de  $0,49 \text{ m}^3$  de volumen útil, con un sistema externo de decantación de heces.

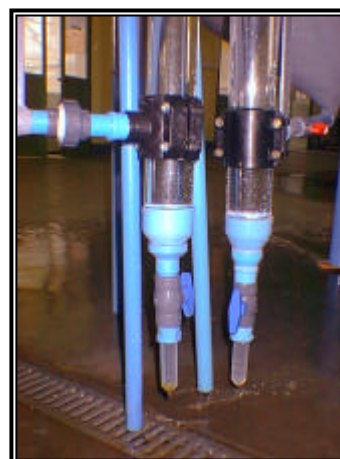
Se utilizó agua filtrada (filtros de arena de cuarzo), a una tasa de cambio de entre 0,5 veces/h– 0,7 veces/h, (245 – 367 l/h, aproximadamente), y aireación constante mediante difusores de piedra de sílice.

La densidad de confinamiento fue de  $4 \text{ Kg/m}^3$ , es decir, se utilizaron 65 peces por estanque.





A. Vista General Estanque



B. Detalle columna decantadora.

Figura 2. Estanque tronco cónico utilizado para estudios De digestibilidad.

Los tratamientos se ensayaron en triplicado, distribuidos al azar, con un doble enmascaramiento, es decir, se distribuyeron al azar tanto la disposición de los estanques como las dietas entregadas a cada uno de ellos, el enmascaramiento se logra además al rotular los contenedores de los alimentos sin las especificaciones exactas de la dieta que se trata, esto reduce la posibilidad de sesgos al minuto de alimentar los peces (el alimentador desconoce la calidad del alimento que esta suministrando).



### 5.3. Alimentación y Recolección de heces

Antes de comenzar con cada uno de los ensayos de digestibilidad los peces fueron dejados en ayuno durante cinco días, con objeto de vaciar completamente el sistema digestivo del pez. La alimentación fue “ad libitum”, manualmente, una vez al día (8:30 AM), cuidando que todo el alimento entregado fuera consumido por los peces con objeto de evitar una posible contaminación de las heces con alimento no consumido. Se registró en planillas la cantidad de alimento entregado durante los 14 días que duró la experimentación.

La recolección de heces se realizó diariamente, antes de la alimentación diaria (protocolo recolección de heces, Anexo Temático N°1). Una vez colectadas fueron centrifugadas durante 20 min. a 5.000 rpm (Eppendorf Refrigerada, mod.5403), luego se elimina el sobrenadante para guardarlas congeladas hasta recolectar las cantidades suficientes para realizar el análisis proximal y de  $Cr_2O_3$ .



## 5.4 Evaluación de la digestibilidad Aparente

Para medir los índices de digestibilidad aparente se utilizaron las siguientes ecuaciones.

Para calcular los CDA se utilizan las siguientes formulas:

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

$$\text{Digestibilidad Aparente de Nutrientes (\%)} = 100 - \left\{ \frac{100 \times \text{Nutriente en heces (\%)}}{\text{Nutriente en dieta (\%)}} * \frac{\text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en dieta (\%)}}{\text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en heces (\%)}} \right\}$$

## Determinación de Energía Digestible

En el cálculo de la energía digestible del alimento se utilizaron los valores de digestibilidad del alimento, la composición proximal del alimento y los valores calóricos estándar de cada macro nutriente. De acuerdo a la siguiente expresión:

$$\text{Energía Digestible} = (\text{g proteína cruda} * \% \text{ digestibilidad} * 23.6 \text{ kJ/g}) + (\text{g lípidos} \% \text{ digestibilidad} * 39.5 \text{ kJ/g}) + (\text{g carbohidratos} * \% \text{ digestibilidad} * 17.2 \text{ kJ/g}).$$



## 5.5 Métodos analíticos

### Análisis Proximal

Los análisis fueron realizados en duplicado para cada una de las muestras, según métodos oficiales de análisis de la asociación de químicos analíticos (AOAC 1985).

#### Humedad

La humedad de las muestras se determina por desecación en estufa a 105°C hasta peso constante.

$$\% \text{ Materia seca} = \frac{\text{Masa muestra seca } 105^{\circ}\text{C}}{\text{Masa inicial muestra}} \times 100$$

$$\% \text{ Humedad} = 100 - \% \text{ Materia seca}$$

#### Cenizas

El contenido de ceniza se determina mediante calcinación de la muestra en horno mufla a 550°C por tres horas, hasta obtener masa constante.

$$\% \text{ Cenizas totales} = \frac{\text{Masa final}}{\text{Masa inicial}} \times 100$$



## Proteínas

El contenido de proteínas (%N x 6.25) se determina a partir de la composición del nitrógeno total de las muestras, mediante la técnica Kjeldhal. El método consiste en la digestión de las muestras con ácido sulfúrico concentrado a 400°C a la que se adiciona un catalizador. Seguido de una destilación con NaOH al 40% en presencia de una solución indicadora con ácido bórico al 4%. Por último se realiza una titulación con HCl 0.1 N.

$$\text{Proteína (\%)} = \frac{(\text{Valor ml} - \text{Valor medida patrón ml}) \times 0.1 \times 14.004 \times 6.25 \times 100}{\text{Peso de la muestra (g)}}$$

## Extracto etéreo

El contenido de lípidos totales de la muestra se determina mediante el método de extracción en caliente de grasa, con equipo Soxhlet usando éter de petróleo (40° – 60°).

$$\% \text{ Extracto etéreo} = \frac{\text{Masa muestra final}}{\text{Masa muestra inicial}} \times 100$$



## Fibra

El contenido de fibra se determina mediante una digestión ácida de las muestras desgrasadas con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, seguida de una digestión básica con NaOH, a continuación se seca el residuo obtenido en una estufa a 105°C hasta peso constante, se pesa y calcina a 550°C durante 30 minutos en mufla para pesar al final el residuo restante.

$$\% \text{ Fibra} = \frac{\text{Peso de la muestra seca a } 105^{\circ}\text{C} - \text{Peso de la muestra calcinada a } 550^{\circ}\text{C}}{\text{Peso de la muestra desgrasada}} \times 100$$

## Determinación de oxido de cromo

El contenido de este en la muestras de dietas y heces fue determinado mediante digestión con ácido nítrico y perclórico concentrados, midiendo en espectrofotómetro a 550 nm la coloración amarillenta obtenida como resultado de la solubilización del Cromo.



## 5.7 Tratamiento estadístico de los datos

Estadísticamente se trabajó con un Ensayo de Superioridad en donde, las **Hipótesis de Trabajo**, en función de la variable respuesta determinada (Digestibilidad Aparente de las dietas), se expresan de la siguiente forma:

**H<sub>0</sub>**: La dieta Control es igual a la Dieta Experimental

$$? \quad | \text{Dieta Control} - \text{Dieta Experimental} | = 0$$

**H<sub>a</sub>**: La dieta Control es distinta a la Dieta Experimental

$$? \quad | \text{Dieta Control} - \text{Dieta Experimental} | = d$$

Donde  $d$  es la diferencia mínima que indica que las Dietas estudiadas presentan diferencias.

Para determinar si los datos obtenidos ( $d$ ), son significativamente diferentes, se usó el software computacional STATMOST 3.0, los datos fueron sometidos a análisis de varianza de una vía (ANOVA,  $p < 0.05$ ) y las diferencias entre medias, se compararon por el test de Tukey con un intervalo de confianza del 95%. Los datos expresados en porcentajes se normalizaron con la función  $\arcsen \sqrt{x}$ , para lograr homocedasticidad según Sokal y Rohlf (1980).



Para el caso del análisis de varianza se generaron **hipótesis estadísticas** de la siguiente forma:

H<sub>1</sub>: No existe efecto producido por la i-esima dieta con que se alimentó a las truchas.

H<sub>2</sub>: Existe efecto producido por la i-esima dieta con que se alimentó a las truchas.

Regla de decisión:

Se rechazan las hipótesis nulas (H<sub>1</sub>) si el valor p obtenido es menor que el nivel de significancia (al 5%), 95 % de confiabilidad ( $p < 0.05$ ).

## 11. Resultados

El sistema de decantación de heces utilizado para el bioensayo resultó ser eficiente, puesto que, con un tasa de cambio mínima de 0.5 y aireación constante, permitió recuperar todas las heces en el estanque.

La metodología de alimentación permitió la entrega según los propios requerimientos del pez, logrando una buena disponibilidad de alimento, evitando así la competencia y un gasto excesivo de energía por parte de los animales, como también evitando la pérdida de alimento no consumido. No se produjeron mortalidades durante el periodo de experimentación.



El hecho que no se produjeran mortalidades durante el periodo de experimentación puede ser un indicador de la buena calidad del alimento suministrado a los peces, debido a que se observó en estos, la conservación de sus características de buena salud, durante el periodo de experimentación, como posterior a este.

Los resultados del análisis proximal de las heces se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Análisis proximal realizado a las heces colectadas.

	<b>Control</b>	<b>L-10</b>	<b>L-15</b>	<b>L-20</b>
Proteína	21,50±0,30	22,68±0,28	20,10±0,02	18,26±0,03
Extracto Etéreo	1,78±0,32	7,99±0,03	5,34±0,06	2,76±0,23
Extracto no Nitrogenado	32,74±0,29	31,21±0,15	32,83±0,33	35,37±0,34
Fibra Bruta	4,085±0,02	7,25±0,06	10,74±0,14	18,26±0,03
Cenizas Totales	39,82±0,34	35,65±0,3	31,93±0,46	32,955±0,29
Cromo	7,59±0,19	6,83±0,03	8,43±0,91	6,71±0,13

% Promedio ± Desv. Estándar (n = 3 replicas)

Analizado de acuerdo a método AOAC

En la Tabla 6, se muestra el resumen de los resultados de digestibilidad, realizado a las dietas estudiadas. Al realizar un análisis comparativo mediante ANOVA ( $p < 0.05$ ), se determinó que no existen diferencias significativas entre las medias de los coeficientes de digestibilidad total para las dietas utilizadas (ver tablas ANOVA, Anexo Temático N°2).



Tabla 6. Resumen Análisis de Coeficiente de Digestibilidad Aparente y Energía Digestible.

	Control	L-10	L-15	L-20
<b>CDA Total</b>	84,80±1,83	83,90±0,96	86,88±1,77	86,46±1,38 / ns
<b>CDA Proteína</b>	92,77±0,65	92,23±0,36	94,32±0,74	94,35±0,71 / ns
<b>CDA Lípido</b>	98,93±0,33	95,28±0,33	97,29±0,38	98,36±0,32 / ns
<b>CDA Carbohidratos</b>	75,70±3,07	70,06±0,02	76,91±2,50	78,83±0,37 / ns
<b>Energía Digestible</b>	22,66±0,24	22,51±0,08	22,74±0,02	22,12±0,12 / ns

% Promedio ± Desv. Estándar (n= 3 réplicas)

ns: no significativo

Los valores obtenidos para los CDA totales oscilaron entre 83.90% y 86.46%, (L-10, L-20), pese a ser estos los valores más dispares, no presentan diferencias significativas entre ellos.

En el caso de los carbohidratos no se encontraron diferencias significativas, ANOVA ( $p < 0.05$ ). La digestibilidad más baja se registró en la dieta L-10, 70.06%, seguida de la dieta control, 75.7%, mientras que la más alta la registro la dieta L-20, con un 78.83%, que no presenta diferencias significativas con L-15 (ver tabla ANOVA Anexo Temático N° 2).

Al observar el gráfico comparativo de los coeficientes de digestibilidad, queda de manifiesto lo anteriormente expuesto. Se aprecia además que las más altas digestibilidades son las de los Lípidos, seguidas muy de cerca por las digestibilidades de la Proteína, mientras que las más bajas fueron las obtenidas para los hidratos de carbono (Figura 4).



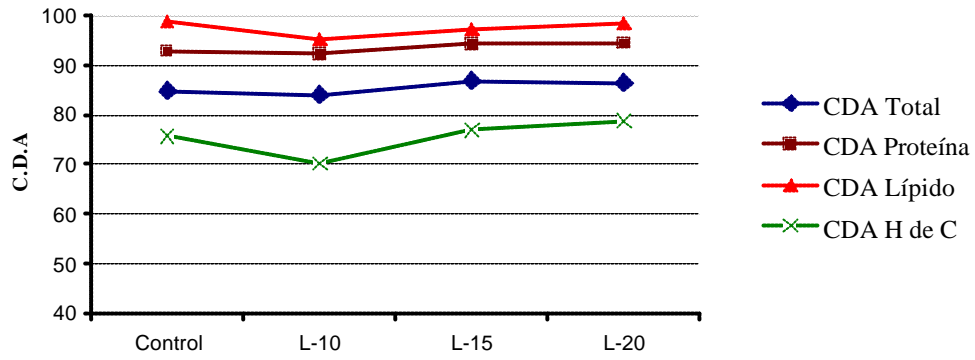


Figura 4 Comparación Coeficientes de Digestibilidad Aparente



## 12. Discusión

Al utilizar una tasa de cambio mínima de 0,5 con aireación constante, fue posible recuperar la totalidad de las heces excretadas por los peces, esto sumado al hecho de utilizar un tubo colector que luego va directamente a la centrífuga, evita que se produzca una excesiva manipulación de las heces a la hora de la recolección, lo que según Hillestad, (1999), es uno de los factores que influyen en la lixiviación de nutrientes a la hora de determinar coeficientes de digestibilidad aparente en peces.

Los valores de digestibilidad total encontrados en este trabajo, son similares a otros obtenidos por otros autores. Carter, (2000), usando dietas donde incluye 25% y 33% de lupino para *Salmo salar*, obtuvo digestibilidades totales de 84.36% 85.5%, respectivamente. Higuera, (1988), al evaluar lupino en dietas de *O. mykiss*, también encontró valores similares de digestibilidad con porcentajes de inclusión que van desde 10% hasta 40%. Burel, (2000), determinó digestibilidades totales de sobre un 80% en turbot, con dietas extruidas donde se incluye harina de lupino.

Los valores para CDA de proteína obtenidos con las dietas donde se incluye harina de lupino, no se diferencian significativamente de la dieta control, estos resultados coinciden con los obtenidos por Fontañas-Fernandez (1999) en experimentos con Tilapia del Nilo, Sudaryono (1999) en *Penaeus monodon*, Carter (2000) trabajando con *Salmo salar*, Glencross (2003)<sup>a</sup> usando trucha arco iris. Estos valores de digestibilidad se pueden



justificar por la baja acción que presentan los factores anti-nutricionales en el grano de lupino, como lo son los inhibidores de la tripsina (Kaushik, 1989).

Los CDA de lípidos no presentaron diferencias significativas entre las dietas estudiadas, pese a las diferencias de composición que presentan estos mismos en cuanto a su composición, que según Steffens (1987), en la harina de pescado son en un 51.4% ácidos grasos saturados, en tanto en la harina de lupino solo se encuentran en un 15%. Los ácidos grasos saturados presentarían un mayor punto de fusión, por lo que serían menos digestibles para los peces que los ácidos grasos poliinsaturados. Los valores obtenidos para CDA de lípidos en el presente estudio concuerdan con los obtenidos por Gouveia (1993), en dietas donde se utiliza lupino.

Los valores de digestibilidad para carbohidratos encontrados en este estudio parecen ser relativamente altos en comparación a los encontrados por otros autores que utilizaron harina de lupino como insumo en sus dietas, sin embargo, si se considera que el proceso de extrusión de almidones mejora significativamente la utilización de estos, se podría suponer que existe realmente una buena digestibilidad de los mismos (Burel, 2000).



El método de formulación utilizado permite mantener balanceados los niveles proteicos y energéticos de las dietas, se logra además la incorporación de harina de lupino en porcentajes crecientes hasta un 20% máximo, manteniendo los niveles de aminoácidos requeridos por la especie para lograr un buen desarrollo y considerando los requerimientos de proceso como son, mínimos porcentajes de almidón extruible y mínimo porcentaje de agua.



### 13. Conclusiones

1.- La digestibilidad de las dietas donde se incluye harina de lupino (*Lupinus albus*) como sustituto de la harina de pescado no presentan diferencias estadísticamente significativas con la dieta control, por lo cual, sitúa a este insumo como una potencial fuente proteica para la alimentación de Trucha.

2.- La formulación de dietas con harina de lupino permite una relación creciente de sustitución de harina de pescado desde un 10% hasta un 20%, si se mantienen los niveles de aminoácidos requeridos por la especie.

3.- La inclusión de un 20% de harina de lupino en la dieta sustituye en un 8,65% a la harina de pescado, lo cual, podría significar un ahorro de aproximadamente 51.900 TM/año de esta misma, en la producción de alimentos para peces.

4.- La buena digestibilidad obtenida para los carbohidratos, indica la positiva influencia que aporta el proceso de extrusión en estos elementos.



## 14. Referencias bibliográficas

- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemist. 16<sup>th</sup> Edition. AOAC: Whashington, DC. 1018pp.
- Austreng G.W, Storebakken T, Thomassen S, Refstie S, Thomassen Y. 2000. Evaluation of selected trivalent metal oxides as inert markers used to estimate apparent digestibility in salmonids. *Aquaculture* 188: 65-78.
- Allan, G. L. 1997. Potencial for pulses in aquaculture systems. NSW fisheries. Australia. 7 pp.
- Aquanoticias. 1998. En busca del equilibrio perfecto, nuevas formulaciones en dietas para salmón. 10 (43): 6-14.
- Aquanoticias. 2001. Mercado nacional de alimento para peces: Un gigante con pies firmes. 13 (62):6-15.
- Aquanoticias. 2002. Sistemas automatizados de alimentación: Beneficio ambiental y económico para la salmonicultura. 14 (67): 6-13.
- Aquanoticias. 2003. Libro “La acuicultura en Chile”, testimonio de una industria que trasciende. 15 (76): 6- 15.
- Aquanoticias. 2004. Exportaciones de Salmónidos. Enero – Diciembre 2002–2003 16 (85): 130-131.
- Bonavia Figueroa M. 1991. Diseño de un Sistema de Recolección de Fecas para Medir Digestibilidad de Nutrientes y Alimentos en Trucha Arco iris. Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía. Tesis de Grado. 55pp.
- Bórquez A, Valdevenito I, Dantagnan H.P, Bariles J. 1996. Producción y Alimentación de Salmónidos Cultivados en América Latina y el Caribe. FAO, Circular de Pesca N° 918, Roma. 88pp.
- Bórquez A, Valdevenito I, Dantagnan H.P y Bariles J. 2002. Rendimientos productivos de dietas extruidas y pelletizadas en cultivo intensivo de trucha Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). *Revista de Investigación y Ciencias Tecnológicas*, 4:50-55.



- Bórquez A, Alarcón P. 2002. Reemplazo parcial de harina de pescado por harina de lupino en dietas para salmón del atlántico. Escuela de Acuicultura, Universidad Católica de Temuco. *Salmonicultura*. 4, N°28.
- Burel C, Boujard T, Kaushik S, Boeu G, Van der Gesten S, Mol K, Kühn E, Quinsac A, Krouti M, Ribailier D. 2000. Potencial of Plant Protein Sources as Fish Meal Substitutes in Diets for Turbot (*Psetta maxima*): growth, nutrient utilization and thyroid status. *Aquaculture* 188: 363-382.
- Burel C, Boujard T, Tulli F, Kaushik S. 2000. Digestibility of extruded peas, Extruded Lupin and Rapessed meal in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 188: 285-295.
- Carter C.G., Hauler R.C. 2000. Fish Meal Replacement by Plant Meals in Extruded Feeds for Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Aquaculture* 185: 299-311.
- Deyab M. S. D., El- Saïdy. 2002. Complete Replacement of Fish Meal whit Dietary L – Lisien Supplementation for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fingerlings. *Journal of the World Aquaculture Society*. 33: 297-306.
- De Witt Hepp A. 1994. Elaboración de Extruidos a base de mezclas de Lupino-cereales. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales., Escuela de Agronomía. Tesis de Grado. 70pp.
- D.I.G. 2001. Diagnostico Sector Leguminosas de Grano – Lupino y Taller Estratégico del sector.
- Fernández Borrás J, Blasco Minués J. 1995. Fisiología de la Nutrición. Universidad de Barcelona. 179pp.
- García de Jalón D, Mayo Rutadazo M, Hervella R, Barceló C, Fernández C. 1993. Principios y Técnicas de Gestión en la Pesca de aguas Continentales. Ediciones Mundi Prensa, Madrid. 247 pp.
- Gouveia A, Teles O, Gomez E, Rema P. 1993. Effects of cooking expansion of three legume seeds on growth and food utilization by Rainbow trout. *Fish nutrition in practice*. Ed Inra, Paris. 933-938 pp.



- Glencross B, Curnow J. 2002. Evaluation of Yellow Lupin (*Lupinus luteus*) Meal as an Alternative Protein Resource in Diets for Sea Cage Reared Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of the World Aquaculture Society. 33: 134-145.
- Glencross B, Curnow W, Hawkins G, Kissil WM and Peterson D. 2003. Evaluation of the feed value of transgenic strain of the narrow leaf lupin (*Lupinus angustifolius*) in the diet of the marine fish, *Pagrus auratus*. Aquaculture Nutrition, 9: 1-10.
- <sup>a</sup>Glencross B, Curnow J, Hawkins W. 2003. Evaluation of the variability in chemical composition and digestibility of different lupin (*L. angustifolius*) kernel meals when fed to rainbow trout (*O. mykiss*). Animal Science and Technology. 107: 17-128.
- Halver E, John. Fish Nutrition. 1988. Segundo Edition, Academic Press. 751pp.
- Higuera M, García Gallego M, Sanz A, Cardenete G, Suárez MD and Moyano F. 1988. Evaluation of Lupin Seed Meal as an alternative Protein source in Feeding of Rainbow trout (*S. gairdneri*). Aquaculture, 71: 37-50.
- Hillestad M, Torbjorn A, Masrit Berge G. 1999. Determination of Digestibility of Comercial Salmon Feeds. Aquaculture 179: 81-94.
- Kaushik S.J, Medale F, Fauconneau B, Blanc D. 1989. Effect of Digestible Carbohydrates on Protein/ Energy Utilization and Glucose Metabolism in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri* R). Aquaculture. 79: 63-74.
- López Macías José. Nutrición Acuicola. 1997. Universidad de Mariño, Facultad de Ciencias Pecuarias. Colombia. Editorial Universitaria. 211 pp.
- Robaina L, Izquierdo M, Moyano F, Socorro J, Vergara D, Montero D, Fernandez Palacios H. 1995. Soybean and Lupin Seed Meals as Protein sources in Diets for Gilthead Seabream (*Sparus aurata*): Nutritional and Histological Implications. Aquaculture 130: 219-233.
- Salmonicultura. 2002., La oferta de dietas para salmones. 28: 62-72.
- Silva Ruiz Myriam. 2001. Descubren Nuevo Sustituto de Harina y Aceite de Pescado. Salmo Noticias . 11 pp.
- Soto F. Montserrat. 2002. Utilización del Lupino como fuente Proteica Alternativa en la Alimentación de Reproductores de Trucha Arco iris y su efecto sobre los Índices



- Reproductivos. Escuela de Ciencias del Mar, Universidad Católica de Valparaíso.  
Taller de Estadística. 80 pp.
- Sokal, R & Rohlf J. 1980. Introducción a la Bioestadística. REVERTÉ. New Cork. USA.  
362 pp.
- Sudaryono A, Tsvetnenko E, Hutabarat J, Supriharyono, Evans L. 1999. Lupin ingredients in sprimp (*P. monodon*) diets: influence of lupin species and types of meals. *Aquaculture* 171: 121-133.
- Steffens W. 1987. Principios fundamentales de la alimentación de los peces. Ed. Acribia S.A. Zaragoza. 275 pp.
- Tacon Albert, Simposium Aquacuba 2003, Acuicultura Sustentable
- Vanderberg G.W, De la Noüe J. 2001. Apparent Digestibility comparizon in Rainbow trout (*Onchorinchus mykiss*) Assessed Using Three Methods of Feaces Collection and three Digestibility Markers. *Aquaculture Nutrition*, 7: 237-245.
- Wedemeyer, Gary A. 2001. Fish Hatchery Management. Second Edition. American Fisheries Society, Whashington. 733 pp.

### **Comunicaciones Personales**

- Bórquez Ramírez Aliro. 2003. Ingeniero en Acuicultura, Ms. Cs. Acuicultura, PhD ©  
Nutrición en Acuicultura, Docente Universidad Católica de Temuco.
- Carrasco Jaime. 2003. Ingeniero Químico, experto en Nutrición y Formulación. BIOMAR Chile S.A



### **Páginas Web consultadas**

- ? [www.fao.org](http://www.fao.org)
- ? [www.sernapesca.cl](http://www.sernapesca.cl)
- ? [www.aqua.cl](http://www.aqua.cl)
- ? [www.puc.cl/sw\\_educ/cultivos/legumino/lupino.htm](http://www.puc.cl/sw_educ/cultivos/legumino/lupino.htm)
- ? [www.sitec.cl/boletines/leguminosas/diagnostico\\_lupino.pdf](http://www.sitec.cl/boletines/leguminosas/diagnostico_lupino.pdf)
- ? [www.fis.com](http://www.fis.com)
- ? [www.salmonchile.cl](http://www.salmonchile.cl)
- ? [www.was.org](http://www.was.org)
- ? [www.biomar-fishfeed.cl](http://www.biomar-fishfeed.cl)
- ? [www.ine.cl](http://www.ine.cl)
- ? [www.odepa.gob.cl](http://www.odepa.gob.cl)
- ? [www.intrafish.com](http://www.intrafish.com)
- ? [www.aquafeed.org](http://www.aquafeed.org)
- ? [www.diariollanquihue.cl/site/apg/salmonicultura/port/salmonicultura.htm](http://www.diariollanquihue.cl/site/apg/salmonicultura/port/salmonicultura.htm)
- ? [www.todochile.cl/araucania/semillas.htm](http://www.todochile.cl/araucania/semillas.htm)



## **Anexos Temáticos**

### ? Anexo N°1, Metodología experimental y protocolo recolección de heces

#### Metodología Experimental Dietas Digestibilidad.

Numero de Dietas: **04** (Control (L-00), L-10, L-15, L-20)

Estanques de Digestibilidad: **12**

N° de Replicas por Dieta: **03**

#### **Características Generales**

- Para cada Dieta experimental se asigna mediante sorteo (al azar), un número de estanque al cual corresponderá alimentar.
- Se utilizan Truchas Arco iris de 30 g. de peso, a una densidad de 4 Kg por estanque.
- Tasa de cambio 0.5-0.7
- Volumen útil de los estanques: 0.49m<sup>3</sup>
- Se utiliza red de agua filtrada (filtros de arena), con aireación constante por medio de difusores de piedra de Sílice.
- Los filtros son retrolavados cada tres días.

#### **Alimentación y Recolección de Heces**

- Los peces permanecen en ayuno durante cuatro días antes de comenzar a ser alimentados con la dieta experimental con objeto de vaciar por completo el sistema digestivo de los individuos.
- Se recolectan aproximadamente 100g de Heces húmedas por replica para realizar los análisis proximales.



## PROTOCOLO

1. Se retiran los tubos de centrifuga se limpian de las heces del día anterior y se vuelven a colocar.
2. Se alimenta *ad-libitum* cuidando que todo el alimento sea consumido.
3. Una vez terminada la alimentación, se sacan los tubos de centrifuga y se abre la llave completamente con objeto de eliminar algún pellet que no haya sido consumido, se colocan los tubos nuevamente y se abre la llave.
4. Se recolectan heces cada una hora contando desde que se terminó de alimentar.
5. Las heces recolectadas se centrifugan a 5000 rpm por 15 min. y se almacenan en freezer en bolsas plásticas rotuladas según su replica.
6. Se registra en una planilla los siguientes datos:
  - ? Cantidad de alimento consumido por replica.
  - ? Cantidad de heces húmedas recolectadas por replica.
  - ? Peso de las heces recolectadas por replica en cada una de las horas de recolección.



## ANEXO N° 2, Tablas ANOVA

Variación	Gr.				
	Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	P
Entre Grupos	3	11,7702	3,9234	0,8443	0,5369
Por Grupo	4	18,588	4,647		
Total	7	30,358			

Intervalo de Confianza = 95.00% (p<0,05)

Valor Crítico F(0,05,3,4) = 6,5914

### ANOVA Coeficientes de Digestibilidad Total (Control, L-10, L-15, L-20).

Variación	Gr.				
	Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	P
Entre Grupos	3	7,7119	2,5706	3,233	0,1433
Por Grupo	4	3,1805	0,7951		
Total	7	10,892			

Intervalo de Confianza = 95.00% (p<0,05)

Valor Crítico F(0,05,3,4) = 6,5914

### ANOVA Coeficientes de Digestibilidad para Proteínas (Control, L-10, L-15, L-20).

Variación	Gr.				
	Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	P
Entre Grupos	3	15,5042	5,1681	22,2474	0,0059
Por Grupo	4	0,9292	0,2323		
Total	7	16,433			

Intervalo de Confianza = 95.00% (p<0,05)

Valor Crítico F(0,05,3,4) = 6,5914

### ANOVA Coeficientes de Digestibilidad para Lípidos (Control, L-10, L-15, L-20).



Variación	Gr. Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	P
Entre Grupos	3	85,2206	28,4069	3,5874	0,1245
Por Grupo	4	31,6741	7,9185		
Total	7	116,895			

Intervalo de Confianza = 95.00% ( $p < 0,05$ )

Valor Crítico  $F(0,05,3,4) = 6,5914$

**ANOVA Coeficientes de Digestibilidad para Hidratos de Carbono (Control, L-10, L-15, L-20).**

Variación	Gr. Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	P
Entre Grupos	3	0,4599	0,1533	4,0626	0,1046
Por Grupo	4	0,151	0,0377		
Total	7	0,611			

Intervalo de Confianza = 95.00% ( $p < 0,05$ )

Valor Crítico  $F(0,05,3,4) = 6,5914$

**ANOVA Coeficientes de Digestibilidad para Energía Digestible (Control, L-10, L-15, L-20).**

